

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***WILLIOPSIS SATURNUS* VAR. *SATURNUS* İÇEREN
YENİLEBİLİR KAPLAMANIN YER FISTIĞINDA
AFLATOKSİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuğçe ULUTAŞDEMİR

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Arzu ÇAĞRI MEHMETOĞLU

Ocak 2019

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**WILLIOPSIS SATURNUS VAR. SATURNUS İÇEREN
YENİLEBİLİR KAPLAMANIN YER FISTIĞINDA
AFLATOKSİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

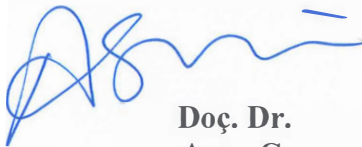
Tuğçe ULUTAŞDEMİR

Enstitü Anabilim Dalı

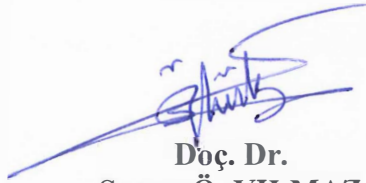
:

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 30.01.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.



**Doç. Dr.
Arzu Ç.
MEHMETOĞLU
Jüri Başkanı**



**Doç. Dr.
Suzan Ö. YILMAZ**

Üye



**Dr. Öğr. Üyesi
Mutlu ÇELİK**

Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Tuğçe ULUTAŞDEMİR

30.01.2019

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Doç. Dr. Arzu ÇAĞRI MEHMETOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar olanakları konusunda anlayış ve yardımlarını esirgemeyen Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. Zehra AYHAN'a, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Arş. Gör. Gülşah KARABULUT ile Arş. Gör. Hatice Sıçramaz'a, ayrıca değerli meslektaşım Gıda Mühendisi Kerim ÇONGARA'ya anlayış ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Son olarak çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili annem Tülin ULUTAŞDEMİR ve babam Yaver ULUTAŞDEMİR'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLOLAR LİSTESİ	vii
ÖZET	ix
SUMMARY	x
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Yer Fıstığı (<i>Arachishypogaea</i> L.)	4
2.2. Mikotoksinler	6
2.3. Aflatoksinler	7
2.3.1. Aflatoksinlerin sağlığa etkisi	9
2.3.2. Aflatoksin detoksifikasyon yöntemleri	10
2.4. Yenilebilir Filmler ve Kaplamalar	13
2.4.1. Yenilebilir filmlerin özellikleri	14
2.5. Protein Kaynaklı Yenilebilir Filmler	17
2.5.1. Peyniraltı suyu protein filmleri	17
2.6. Yenilebilir Filmlerin ve Kaplamaların Gıdalara Uygulanma Metotları	19
2.7. Yenilebilir Film Yapım Metotları	20
2.8. Antimikrobiyal Filmler ve Kullanım Alanları	20

2.9. Biyokontrol Uygulamaları	23
2.9.1. Antagonist mayalar	24
2.9.1.1. Williopsis saturnus var. saturnus antagonist mayası	26
2.9.2. Antagonist mayaların etkinlik mekanizması	27
2.9.2.1. Besin ve yer mücadelesi	28
2.9.2.2. Hiperparazitizm	28
2.9.2.3. Antibiyozis etki	28
2.9.3. Antagonist mayaların yenilebilir filmlerle birlikte kullanıldığı bazı çalışmalar	29

BÖLÜM 3.

MATERYAL ve METOT	31
3.1. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Üretiminde Kullanılan Materyaller .	31
3.2. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Üretimi	32
3.2.1. Antagonistik mayanın elde edilmesi	32
3.2.2. Maya içeren yenilebilir film üretimi	33
3.2.3. Yer fıstıklarının W. saturnus var. saturnus mayası ekli yenilebilir film ile kaplanması	33
3.3. Laboratuvar Analizleri	35
3.3.1. Mikrobiyolojik analizler için örneklerin hazırlanması	35
3.3.2. <i>Aspergillus flavus</i> sayımı	35
3.3.3. Antagonistik maya sayımı	35
3.3.4. Aflatoksin toplam ve B ₁ analizi	35
3.3.5. TBA analizi	36
3.3.6. Su aktivitesi tayini	36
3.3.7. Nem tayini	37
3.3.8. Protein tayini	37
3.3.9. Ağırlık ölçümü	38
3.3.10. Renk tayini	38
3.3.11. Duyusal analiz	38
3.3.12. Taramalı elektron mikroskobu ile yer fıstıklarının yüzeylerinin incelenmesi	40

3.3.13. İstatistiksel analizler	40
BÖLÜM 4.	
SONUÇLAR ve TARTIŞMA	41
4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	41
4.2. Aflatoksin Analizi	44
4.3. TBA Analizi	45
4.4. Su Aktivitesi	46
4.5. Nem Analizi	47
4.6. Protein Tayini	47
4.7. Ağırlık Ölçümü	48
4.8. Renk Tayini	49
4.9. Duyusal Analiz	51
4.10. Yer Fıstıklarının Yüzeylerinin Taramalı Elektron Mikroskopunda İncelenmesi	52
BÖLÜM 5.	
GENEL SONUÇLAR ve ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	65

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

a/h	: Ağırlık / hacim
dak	: Dakika
sn	: Saniye
h/h	: Hacim/hacim
kob	: Koloni oluşturan birim
l	: Litre
log	: Logaritmik birim
mg	: Miligram
MRS	: Man Rogosa Sharp
OGYE	: Oxytetracycline Glucose
PAS	: Peynir altı suyu
PASP	: Peynir altı suyu proteini
ppb	: Milyarda bir birim
°C	: Santigrat Derece
cm ²	: Santimetrekare
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TSA	: Trytic soy agar
TSB	: Trytic soy broth
YE	: Yeast ekstrakt (Maya ekstraktı)

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , M ₁ ve M ₂ 'nin kimyasal yapıları	8
Şekil 2.2.	Yenilebilir filmler ve kaplamaların bileşenlerine göre sınıflandırılması	15
Şekil 2.3.	Konakçı, patojen ve antagonist arasındaki etkileşim	27
Şekil 3.1.	<i>W. saturnus</i> var. <i>saturnus</i> mayası ekli PASP filminin üretimi ve yer fıstıklarının kaplanma aşamaları	34
Şekil 3.2.	Duyusal analizlerde kullanılan değerlendirme formu	39
Şekil 4.1.	<i>W. saturnus</i> içeren PASP bazlı kaplamanın yer fıstığı örneklerinde 25°C'de, 84 günlük depolama süresi boyunca <i>Williopsis saturnus</i> var. <i>saturnus</i> üremesine etkisi	41
Şekil 4.2.	<i>W. saturnus</i> içeren PASP bazlı kaplamanın yer fıstığı örneklerinde 25°C'de, 84 günlük depolama süresi boyunca <i>A. flavus</i> üremesi üzerine etkisi	43
Şekil 4.3.	Kaplanmış fıstık örneklerinin elektron mikroskobu görüntüleri	53

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Yer fıstığı ve besin öğeleri miktarı	4
Tablo 2.2. 2012-2016 yılları arasında dünya yer fıstığı üretimi	5
Tablo 2.3. 2013-2017 yılları arasında Türkiye yer fıstığı üretimi	5
Tablo 2.4. Mikotoksin üreten bazı cinsler ve mikotoksinleri	7
Tablo 2.5. Antimikrobiyal yenilebilir film ve kaplamaların gıda uygulamaları	21
Tablo 2.6. Yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılan antimikrobiyal madde çeşitleri	22
Tablo 2.7. Biyokontrol uygulamalarının avantaj ve dezavantajları	24
Tablo 2.8. Ticari olarak kullanılan biyofungusitler	25
Tablo 4.1. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca aflatoksin toplam değerlerinin zamanla değişimi	44
Tablo 4.2. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca aflatoksin B ₁ değerlerinin zamanla değişimi	44
Tablo 4.3. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca TBA değerlerinin zamanla değişimi	45
Tablo 4.4. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca su aktivitesi değerlerinin zamanla değişimi	46
Tablo 4.5. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca nem değerlerinin zamanla değişimi	47
Tablo 4.6. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca % azot değerlerinin zamanla değişimi	48
Tablo 4.7. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca ağırlık ölçümü değerlerinin zamanla değişimi .	48
Tablo 4.8. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca % ağırlık kaybı değerlerinin zamanla değişimi	49

Tablo 4.9. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca L^* değerlerinin zamanla değişimi	50
Tablo 4.10. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca a^* değerlerinin zamanla değişimi	50
Tablo 4.11. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca b^* değerlerinin zamanla değişimi	51
Tablo 4.12. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde duyuşal özelliklerin değerlendirilmesi	52



ÖZET

Anahtar kelimeler: Yer fıstığı, yenilebilir film, aflatoksin, antagonistik maya

Yer fıstığı (*Ayrachishypogaea* L.), Fabaceae familyasına ait tek yıllık bir bitki olup tohumunda yüksek oranda yağ içermektedir. Yer fıstığı insan gıdası, hayvan yemi ve endüstrinin çeşitli alanlarında kullanılmaktadır. Yer fıstığında fungus gelişimi hasat sonrası ve sonrasında, işleme esnasında, kurutma, ayıklama ve depolama aşamasında gerçekleşmektedir. Küflerin üretmiş oldukları ikincil metabolitlere mikotoksin adı verilmektedir. *Aspergillus* cinsinin üretmiş olduğu mikotoksin olan aflatoksinler kanserojenik, tetrajenik ve hepatoksik etkiye sahiptir. Yapılan araştırmalarda *W. saturnus* mayası katil toksin üreterek küfler üzerinde antagonistik maya özelliği göstermektedir. Bu çalışmada *W. saturnus* var. *saturnus* katil mayası yer fıstıkları yüzeyine direkt olarak ve peyniraltı suyu proteini bazlı yenilebilir film ile birlikte *A. flavus* gelişimi ve aflatoksin üretimine etkisini görmek amacıyla uygulanmıştır.

Çalışmamızda 10^7 kob/ml konsantrasyonunda *W. saturnus* mayası peyniraltı suyu proteini bazlı yenilebilir filme ve saf suya ilave edilerek yer fıstıkları kaplanmıştır. Yer fıstıkları kontrol grubu olarak maya içermeyen film ve saf su ile kaplanmıştır. Kaplanan yer fıstıkları kurutulduktan sonra 10^3 kob/ml konsantrasyonunda *A. flavus* küfü ile kontamine edilip 40 °C de etüvde kurutulmuştur. Kurutulmuş örnekler pakatlendikten sonra 84 gün boyunca 25 °C'de depolanmıştır. Yer fıstığı örneklerinde *W. saturnus* ve *A. flavus* sayıları, aflatoksin seviyesi, su aktivitesi, TBA sayısı, ağırlık kaybı, renk, protein ve nem analizleri yapılmıştır.

Sonuçlar *W. saturnus* var. *saturnus* antagonist maya sayısının örneklerde 84 gün boyunca (10^7 kob/ml) stabil kaldığını *A.flavus* sayısı ve aflatoksine önemli düşüşler olduğunu göstermiştir. Ayrıca oksidasyon derecesi yenilebilir filmle kaplı örneklerle kontrol grubu kıyaslandığında azalma görülmüştür ($p<0,05$). Kaplamalara *W. saturnus* antagonist mayasının eklenmesi su aktivitesi seviyesinde ve ağırlık kaybında ise önemli bir değişikliğe neden olmamıştır ($p<0,05$). Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinin duyusal özellikleri istatistiksel açıdan aynı olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Sonuç olarak yer fıstıklarının *W. saturnus* var. *saturnus* maya içerikli kaplanması aflatoksin gelişimini önleme amaçlı kullanımda yüksek potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir.

EFFECT OF EDIBLE COATING CONTAINING *WILLIOPSIS SATURNUS* VAR. *SATURNUS* ON AFLATOXIN PRODUCTION IN PEANUTS

SUMMARY

Keywords: Edible film, killer yeast, peanut, aflatoxin

Peanut (*Ayrachishypogaea* L.) in the *Fabaceae* family is composed of a high amount of oil. Peanuts are consumed as human food and animal feed. Mold growth on peanuts usually occurs before and after harvesting, during drying, sorting and storage due to unsuitable conditions. Mycotoxins were produced by mold as secondary metabolite. *Aspergillus flavus* is the most common mold on peanuts producing a mycotoxin called aflatoxin which is cancerogenic, tetragenic and hepatotoxic. *Williopsis saturnus* var. *saturnus* killer yeast has been informed to have an antagonistic effect on mold growth in several studies. In this study, the effect of *W. saturnus* var. *saturnus* yeast alone or with whey protein concentrate (WPC) coating on the growth of *A. flavus* and aflatoxin production on peanuts was investigated.

In this purpose, peanut samples were coated with WPS edible films with or without *W. saturnus* or yeast without coating at a concentration of 10^7 kob/ml. Following drying, the peanuts were contaminated with *A. flavus* (10^3 kob/ml) and dried at 40 °C. After drying, they were packed and stored at 25°C for 84 days. The number of *W. saturnus* and *A. flavus* were determined throughout the storage period. Amount of aflatoxin, weight loss, water activity, TBA number, colour, protein, moisture of the peanut samples were also analyzed.

The results showed that during 84 days of the storage period; number of *W. saturnus* var. *saturnus* didn't change significantly. Application of coating with *W. saturnus* and only yeast solution significantly reduced growth of *A. flavus* and aflatoxin production in the peanuts samples ($p < 0,05$). The chemical properties and color of all peanut samples did not change with coating and yeast application ($p < 0,05$). Application of edible films based on whey protein slightly decreased the oxidation of peanut samples ($p < 0,05$). Treatment of coating containing *W. saturnus* antagonistic yeast did not cause a significant change on water activity value ($p < 0,05$). The sensory characteristic of peanuts samples coated with different coating solutions didn't show a significant difference ($p < 0,05$). As a conclusion, application of whey protein coating containing *W. saturnus* var. *saturnus* on the peanut samples have a significant potential to inhibit aflatoxin production.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

İçerdikleri yağ, protein, karbonhidrat, mineral maddeler ve vitaminler nedeniyle insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan yer fıstığı gibi yağlı tohumlar, aynı zamanda sanayi sektörü için de önemli bir hammadde kaynağını oluşturmaktadırlar (Arioğlu ve ark., 2010). Yer fıstığı ülkemizde yeterli miktarda yetişmediğinden dolayı çerez olarak tüketilmektedir (İşler ve ark., 1996).

Yer fıstığında fungal gelişme dolayısıyla aflatoksin oluşumu, Türkiye başta olmak üzere diğer ülkeler için de önem arzettiği için çok sayıda araştırmaya konu olmuştur.

Yer fıstığı hasat, soldurma, kurutma ve depolama sırasında fungus gelişimi ve diğer fiziksel koşulların optimum olmasıyla oluşan aflatoksinler önemli sorunlara yol açmaktadır (Lavkor ve ark., 2015). Hasat öncesi ve hasat sonrası ekonomik kayıpları azaltmak ve engellemek için fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Örneğin, fungal gelişimi engellemek amacıyla ürünlerde hasat öncesi ve hasat sonrası bazı kimyasal fungisitler kullanılmaktadır. Sentetik yapıdaki fungisitlerin kanserojen, tetrajenik ve yüksek kalıntı toksitite etkileri bulunmaktadır. Ayrıca pahalı ve çevre kirliliğine neden olmasının yanı sıra yanlış dozda kullanımı dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (İmamoğlu, 2011).

Yer fıstığında aflatoksin gelişiminin azaltılması hasat ve işleme koşullarının iyileştirilmesi ile de mümkün olmaktadır (Lavkor ve ark., 2015). Ayrıca hasat sırasında bozuk tanelerin ayıklanması da aflatoksin bulunma riskini 2-4 kat azaltmıştır (Schatszki ve ark., 1995). Fakat ürün küf bozulması içermeden de mikotoksin içerdiği durumlarda bu tip yöntemler yetersiz kalmaktadır.

Fungisit kullanımının sınırlandırılması ve kullanılan kimyasalların etki süresinin uzun olması nedeniyle araştırmacıların daha güvenli olan koruma yöntemlerine eğilimi artmıştır (Mari ve ark., 2007).

Örneğin, dezenfekte ve oksitleyici ajan olarak bilinen ozon gazı direkt veya çözelti halinde uygulandığında aflatoksinleri yıkıma uğratmaktadır. Yapılan çalışmalarda tahıl depolanan silolara ozon gazı uygulamanın her zaman etkili olmadığı, bazı durumlarda iyi sonuç elde etmek için yüksek oranda ozon gazının kullanılması gerektiği rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2010). Bu nedenle bu yöntem de yüksek ekonomik maliyete sebep olmaktadır.

Bir diğer yöntem ise gıdalara uygulanan ışınlama yöntemidir. Birçok gıda türüne uygulanabilen bu yöntem yağlı tohumlara da uygulanabilmektedir. Bu yöntemin bir çok olumlu yönü olmasına karşın uygun doz ve süre kullanılmadığı takdirde aflatoksin artışı, besin öğelerinde kayıplar ve aroma bozuklukları gibi önemli sorunlar ortaya çıkmaktadır. Düşük dozda uygulanan ışın yağlı tohumlar üzerinde bulunan mantarların aflatoksin artışına sebep olurken yüksek dozda uygulanan ışınlama ise istenmeyen tat oluşumuna neden olmaktadır (Yılmaz ve ark., 2016).

Gıdalardaki mikrobiyal gelişmeyi engellemek veya azaltmak, raf ömrü süresini uzatmak amacıyla antimikrobiyal ambalajlama yöntemi kullanılmaktadır. Çevresel problem yaratmayan biyolojik olarak bozunabilen ve gıdayla birlikte tüketilebilen doğal polimerlerden yapılmış ambalaj materyalleri kullanılmaktadır. Gıdanın yüzeyiyle temas halinde bulunan antimikrobiyal ambalaj gıdada gelişen mikroorganizmaların üreme hızını düşürebilmekte ve gıdanın raf ömrünü uzatıp, kalitesini artırmaktadır. Antimikrobiyal ambalajlar kullanımı sınırlı kimyasal antimikrobiyal maddeler veya doğal antimikrobiyal maddeler içermektedir. Ancak yüksek oranda antimikrobiyal madde içeren ambalajlar gıdalarda tüketici tarafından istenmeyen tat oluşumuna neden olabilir (Ayana ve ark., 2010).

Son dönemlerde gıdalarda ve yemlerde, mikotoksin gelişiminin inhibisyonu ve mikotoksinlerin ürün üzerinden uzaklaştırılması için bazı mikroorganizma türleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Antagonist özellikteki mayalar, ortamdaki küf ve mayalara hatta bakterilere karşı katil toksin üretmektedir. Antagonist mayaların bu özellikleri biyokontrol yöntemlerinde kullanılmaktadır (Magliani ve ark., 1997; Fleet, 2003; Spadaro ve ark., 2004).

Williopsis katil toksin üreten maya türlerinden biridir. Özellikle *Williopsis saturnus* var. *saturnus*, *Williopsis saturnus* var. *mraki* bu özellikleriyle üzerinde çalışılmış suşlardır. *Williopsis* mayaları iyi bir biyokontrol ajanı potansiyeline sahip olmasına rağmen kullanım alanı çok genişleyememiştir (Nomoto ve ark., 1984; Michalcakova ve ark., 1993; Liu ve ark., 2009). Yenilebilir filmlerle antagonist mayaların birlikte kombine edildiği çalışmalarda çok az sayıdadır. Bu çalışmalarda *Candida guilliermondii*, *Debaryomyces sp*, *Candida oleophila*, *W. saturnus* var. *saturnus* gibi antagonist mayalar çeşitli yenilebilir filmlere eklenerek küflenme riski fazla olan çilek, üzüm, elma, portakal gibi meyvelerde ve kaşar peynirinde küf gelişimini engelleyerek bu gıdaların raf ömrünü uzamışlardır (Aloui ve ark., 2015; Moreira ve ark., 2015; Marin ve ark., 2016; Zamudio ve ark., 2017; Kharchoufi ve ark., 2018; Civelek ve Çağrı-Mehmetoğlu, 2018). Bir başka çalışmada ise peyniraltı suyu tozu bazlı yenilebilir filme *W. saturnus* var. *saturnus* mayası eklenerek geliştirilen biyoaktif ambalaj materyalinde *W. saturnus* var. *saturnus*'un 28 gün boyunca canlılığını koruyarak *Penicillium expansum* ve *Aspergillus niger* küf türlerine karşı antagonist özellik gösterdiği rapor edilmiştir (Karabulut ve Çağrı-Mehmetoğlu, 2018).

Yer fıstığı ve buna benzer yağlı tohumlar üzerinde literatürde henüz bu tarz bir çalışma bulunmadığından çalışmamızda *Williopsis saturnus* var. *saturnus* antagonist mayası, peyniraltı suyu tozu bazlı yenilebilir filme ilave edilerek yer fıstığında aflatoksin ve küf gelişiminin 84 gün boyunca gözlenmesi amaçlanmaktadır. Böylelikle literatürdeki bu açığın giderilmesi hedeflenmektedir.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Yer Fıstığı (*Arachishypogaea* L.)

İçerdiği besin maddeleri nedeniyle insan beslenmesinde önemli rol oynayan yer fıstığı (*Arachishypogaea* L.) tek yıllık bitki olup tohumu bünyesinde yüksek oranda yağ bulundurmaktadır (Arioğlu, 2007). Yer fıstığının 100 g'daki enerji ve besin öğeleri miktarları Tablo 2.1.'de verilmiştir (TURKOMP).

Tablo 2.1. Yer fıstığı ve besin öğeleri miktarı (TURKOMP)

Besin öğeleri	Miktar
Protein	23,51 g
Toplam yağ	45,42 g
Karbonhidrat	10,49 g
Diyet lif	12,54 g
Enerji	570 kcal

Dünya genelinde yer fıstığı bir yağ kaynağı olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de ise yer fıstığı çerezlik olarak tüketilmektedir. Fiyatlarının ülkemizde yüksek olması nedeniyle yer fıstığı, yağ sanayinde kullanılmayıp çoğunlukla çerez olarak tüketilmektedir (Kadiroğlu, 2008).

Yer fıstığının Türkiye'de ilk ıslah denemeleri Antalya Sıcak İklim Nebatları Islah İstasyonu'nda yapılmıştır. Günümüzde yer fıstığının çok büyük bir kısmı Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilmekte olup 80 yıldan fazla tarihinde ciddi gelişmeler kaydedilmiştir (Şahin, 2014).

Yer fıstıkları Virginia, Spanish ve Valencia olarak üç kategoriye ayrılmaktadır. Ülkemizde Virginia türü yer fıstıkları daha fazla yetiştirilmektedir (Akova, 2000).

Dünya yer fıstığı üretiminin ortalama % 37-40'ını karşılayan Çin'i sırasıyla Hindistan, Nijerya, ABD ve Sudan takip etmektedir. Yıllara göre yer fıstığı üretim miktarları Tablo 2.2.'de verilmiştir (FAO, 2018).

Tablo 2.2. 2012-2016 yılları arasında dünya yer fıstığı üretimi (FAO, 2018)

Ülkeler	Dünyadaki yer fıstığı üretim miktarı (ton)				
	2012	2013	2014	2015	2016
Çin	16,856,845	17,018,965	16,550,213	16,499,508	16,685,915
Hindistan	4,695,000	9,472,000	7,402,000	6,771,000	6,857,000
Nijerya	3,313,500	2,474,530	3,399,158	3,467,446	3,028,571
ABD	3,063,510	1,892,920	2,353,540	2,817,080	2,578,500
Sudan	1,032,000	1,767,000	1,871,000	1,042,000	1,826,000
Türkiye	122,780	128,265	123,600	147,537	164,186
Dünya	42,020,180	46,418,008	45,470,373	45,077,086	43,982,066

Türkiye'de yer fıstığı tarımı Akdeniz ve Ege bölgesinde yapılmaktadır. Üretim miktarının önemli bir kısmını Adana ve Osmaniye illeri karşılamaktadır. Yıllara göre Türkiye'de yer fıstığı üretim miktarları Tablo 2.3.'de verilmiştir (TÜİK, 2018).

Tablo 2.3. 2013-2017 yılları arasında Türkiye yer fıstığı üretimi (TÜİK, 2018)

İller	Türkiye yer fıstığı üretim miktarı (ton)				
	2013	2014	2015	2016	2017
Adana	68,375	71,045	88,221	99,325	97,778
Osmaniye	42,113	35,164	43,434	48,573	50,157
Aydın	5,236	4,487	4,803	4,470	4,175
Antalya	3,346	3,496	3,469	3,608	3,703
Kahramanmaraş	3,327	3,485	2,952	2,831	2,853
Mersin	1,673	1,622	2,132	2,548	2,260
Türkiye	128,265	123,600	147,537	164,186	165,330

Yer fıstığı toprak yüzeyinin altında üretimi yapılan bitkiler arasındadır. Bitkinin toprak ile doğrudan temas halinde yetişmesi, hasattan önce topraktaki funguslarla sık sık kontaminasyonuna sebep olmaktadır (Horn and Greene, 1995).

Yer fıstıklarının *Aspergillus* özellikle de *A. flavus* ve *A. niger* türlerinin kontaminasyonu hasat öncesi ve hasat sonrası meydana gelmektedir. Yer fıstığı tohumları genellikle *A. flavus* sporları tarafından istila edilmiş topraklarla temas halinde olmaktadır (Horn ve ark., 1995).

Yer fıstıkları hasat öncesi, *A. flavus* sporlarıyla kontamine olduğunda kurutma ve depolama sırasında bu sporlar uygun sıcaklık ve nem koşullarına eriştiğinde toksin üretebilmektedirler. Bu toksinlerin insan ve hayvan sağlığına zararlı etkileri olmakla birlikte bu toksinler ekonomik kayıplara da sebebiyet vermektedir (Craufurd ve ark, 2006).

2.2. Mikotoksinler

Mikotoksinler; sindirim, soluma veya cilt teması ile omurgalılara zararlı olabilecek funguslar tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Mikotoksizos olarak bilinen hastalığa neden olması için fungusa ihtiyaç duymazlar. Bu nedenle abiyotik tehlikedir fakat biyotik kökenlidirler. Mikotoksizos bulaşıcı değildir. İlaç veya antibiyotik tedavileri çok az etkilidir veya hiç etkili değildir. Mikotoksinler bitkisel ve hayvansal gıdalarla birlikte vücuda alınmaktadır ve çeşitli organ ve dokularda birikmektedir (Marin ve ark., 2013).

Mikotoksinler gıdanın fiziksel değerleri (pH, nem, su aktivitesi gibi) değişse bile küflerden daha dayanıklıdır. Mikotoksijenik potansiyel küfün cinsine ve suşuna, gıda maddesinin kompozisyonuna ve çevresel faktörlere bağlıdır (Gürhayta ve Çağındı, 2015).

Mikotoksijenik potansiyelde yaklaşık 350 tane fungus vardır. Üzerinde çalışılan fungus türlerinden büyük çoğunluğu mikotoksijenik potansiyel göstermemiştir. En önemli mikotoksin üreticisi *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Alternaria* cinsleridir. Tablo 2.4.'de bu dört cinsin oluşturduğu mikotoksinler verilmiştir (Tunail, 2000).

Tablo 2.4. Mikotoksin üreten bazı cinsler ve mikotoksinleri (Tunail, 2000)

<i>Aspergillus</i> toksinleri	<i>Penicillium</i> toksinleri	<i>Fusarium</i> toksinleri	<i>Alternaria</i> toksinleri
Aflatoksinler	Sitrinin	Zearalenon (F-2 toksin)	Alternariol
	Okratoksin A	Trikotesenler	Alternariolmono-metil-eter
	Sitreoviridin		Altartoksin
- AFB ₁	Rubratoksin A	- Deoksinivalenol	Tenuazonikasit
- AFB ₂	Rubratoksin B	- Nivalenol	
- AFG ₁	Patulin	- Diasetoksisirpenol	
- AFG ₂	Penisilikasit	- T-2 toksin	
- AFM ₁	P-R (Pen. requeforti)-toksin	- HT-2 toksin	
- AFM ₂	Luteosikrin	Tremortin	
- AFB _{2a}	İzlanditoksin	Fusarin-C	
- AFG _{2a}	Ksantosilin-X	Fumonisin B ₁	
- AFB ₃	Siklopiazonikasit	Moniliformin	
- Aspertoksin	Sitromisetin		
Sitrinin	Rugulosin		
Sterigmatosistin	Ksantomegnin		
Okratoksin A	Rugulovasin A		
Patulin	Rugulovasin B		
Penisilikasit	Verrukulotoksin		
	Emodin		

2.3. Aflatoksinler

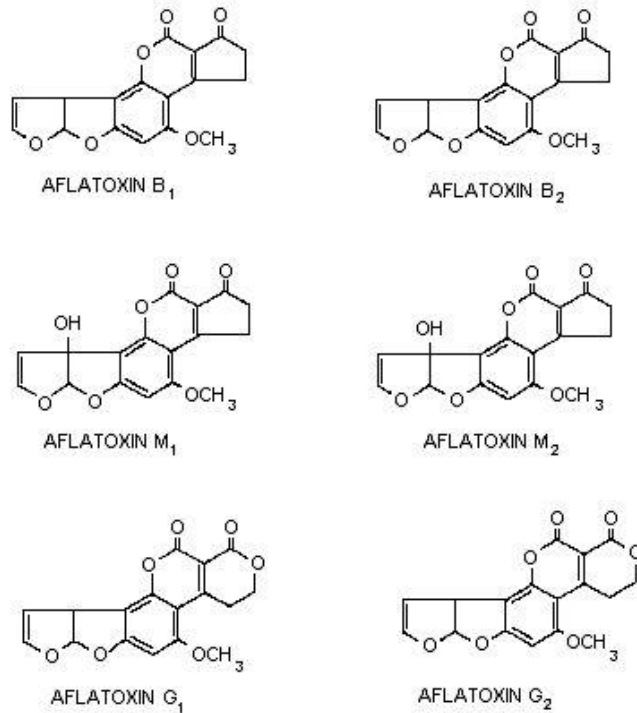
Tarımsal ürünlerin aflatoksinlerle kontaminasyonu üreticilerin karşılatığı en büyük sorunlardan biridir. Aflatoksinler *Aspergillus* cinsinin türleri, özellikle *A. parasiticus* ve *A. flavus* cinslerinin ürettiği ikincil metabolitlerdir. Bunlar en toksik mikotoksinler

arasındadır ve düşük dozlarda bile kontaminasyon kanserojenik riske sahiptir (Cheraghali ve ark., 2010).

Aspergillus türü içinde Aflatoksin ilk defa *A. flavus*'ta saptandığından bu mantarın adının ilk harfleri kullanılmış ve bu mikotoksine Aflatoksin adı verilmiştir.

Aflatoksinler İngiltere'de kanatlı hayvan ölümü ile sonuçlanan "Turkey X" hastalığı sonrası keşfedilmişlerdir. Hindi hastalığı salgını nedeniyle kanatlı hayvanın telef olması sonrası aflatoksinler, heterosiklik bileşikler ile bağlantılı bir grup olarak 1960 yılında bulunmuştur (Yentür, 2012).

Tanımlanan on sekiz aflatoksin tipi olup B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ sıklıkla görülen tiplerdir. En yüksek toksisite AFB₁ ve AFB₃'e aittir. AFG₂ ve AFM₂ ise en düşük toksisiteyi gösterir. Gıdalarda ve yemlerde sıklıkla görülen aflatoksinlerin toksiklik sırası: AFB₁ > AFM₁ = AFG₁ > AFB₂ > AFG₂ > AFM₂ şeklindedir (Tunail, 2000). Şekil 2.1.'de aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂'nin kimyasal yapıları görülmektedir (Deshpande, 2002).



Şekil 2.1. B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂'nin kimyasal yapıları (Deshpande, 2002)

Aspergillusların optimum gelişme sıcaklığı 35-38 °C'dir. Maksimum toksin oluşturma ise 25-30 °C'lerde gerçekleşir. Aflatoksik özellikteki fungusların maksimum seviyede aflatoksin oluşturmaları ise pH 5,0-6,0'da meydana gelir (Tunail, 2000).

2.3.1. Aflatoksinlerin sağlığa etkisi

Aflatoksinlerin insan ve hayvan sağlığı üzerinde kanserojen, tetrajenik ve mutajenik etkileri bulunmaktadır. Özellikle AFB₁ memeliler üzerinde bilinen en güçlü hepatokarsinojendir. IARC (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı) Aflatoksin B₁'i Grup 1 kanserojen olarak sınıflandırmıştır (Zinedine, 2008).

AFB₁, en yüksek kanserojen özellikte olup AFB₁ içeren gıdaları veya yemleri memeliler tükettiğinde sindirim sistemi aracılığıyla kana ve süte geçmektedirler. Böylelikle de süt ve süt ürünlerinde AFB₁'in hidrokillenmiş metaboliti olan AFM₁'e dönüşmektedir (Jebali, 2015).

Literatürde aflatoksinin toksik etkileriyle alakalı bir çok vaka bulunmaktadır. Bunlardan birisi Tayvan'da aynı aileden olup farklı hanelerde yaşayan 26 bireyden 3 hafta boyunca küflü pirinç tüketenlerde zehirlenme yaşanmıştır. Küflü pirinç tüketmeyenlerde zehirlenme yaşanmamıştır. 4,5 ve 6 yaşında olan üç çocuk zehirlenme sonucu hayatını kaybetmiştir. Küflü pirinçlerde 200 ppb AFB₁ tespit edilmiştir. Uganda da ise Tayvan'daki vakaya benzer bir vaka yaşanmış 15 yaşındaki çocuk 1,7 ppb düzeyinde aflatoksin içeren cassava tüketerek hayatını kaybetmiştir. Aynı haneden 2 çocukta aynı şikayetlerle hastalanmıştır fakat az miktarda cassava tükettikleri için kurtulmuşlardır (Wilson, 1978). Yine benzer bir vakada Hindistan'da, 15 ppb düzeyinde aflatoksin içeren mısırı tüketen 320 kişiden 80'i hayatını kaybetmiştir (Pohland, 1993).

Aflatoksin riski taşıyan gıdalar: Yer fıstığı, antep fıstığı, fındık, incir, kırmızı pul biber, buğday ve mısırdır. Bunların dışında, son zamanlarda süt ve süt ürünlerindeki AFM₁ varlığı da gündeme gelmiştir. Süt ve süt ürünlerinin AFM₁ ile kontamine olması önemli sağlık riski oluşturmaktadır (Kabak ve ark., 2006).

Tarım ürünlerinde mikotoksin kontaminasyonu gerçekleştiğinde toksin üretiminin önüne geçilemediğinden ürünlerin hasat, soldurma ve kurutma aşamalarında etkili önlemlerin alınması gerekmektedir (Lavkor ve ark., 2015).

Aflatoksinler insan sağlığını etkilemesi dışında tarımsal ürün üreticisine de ekonomik kayıplar yaşatmaktadır. Bir çok ihraç ürünümüz Avrupa Birliği tarafından belirlenen yasal limitlerin üzerinde olduğu için geri çevrilmiştir.

Yer fıstığında hasat, soldurma, kurutma ve depolama sırasında gelişen fungus ve diğer fiziksel koşulların optimum olmasıyla aflatoksinler oluşur. Yer fıstığında aflatoksin varlığı önemli sorunlara yol açmaktadır. Aflatoksinlerin ilk kontamine olduğu noktanın yer fıstıklarının yetiştirme evresi olduğu düşünülmektedir. Yetiştirme sırasında yanlış zirai yöntemler ürünün fungus ve diğer zararlıların istilasına uğramasına sebep olmaktadır. Depolama öncesi ve depolama sırasında uygun olmayan nem koşulları fungus ve toksin gelişimine uygun ortam hazırlamaktadır (Lavkor ve ark., 2015).

Yer fıstığı ürünlerindeki aflatoksin kontaminasyonu sağlık açısından ciddi sorunlara neden olmakta, hatta ölümle sonuçlanabilen hastalıklara yol açmaktadır (Rouphae ve Kyriacou, 2018).

2.3.2. Aflatoksin detoksifikasyon yöntemleri

Gıdalarda sıklıkla AFB₁ kontaminasyonu olması sebebiyle gıdanın güvenliği ve tüketilebilir hale gelmesi, kontaminasyonun azaltılması ve engellenmesi için birçok yöntem geliştirilmektedir. Bu yöntemler hasat öncesi ve hasat sonrası olarak ikiye ayrılmaktadır. Hasat öncesinde pestisit, fungusit kullanımı ve biyokontrol yöntemi

kullanılmaktadır. Hasat sonrası ise uygun koşullarda kurutma, depolama ve koruyucu madde kullanımı gibi yöntemler izlenmektedir (Rushing ve Selim, 2019).

- Fiziksel detoksifikasyon yöntemleri

AFB₁ ile kontamine olmuş gıdalardan AFB₁'i fiziksel olarak uzaklaştırma, ısıtma işlemi ve ışınlatma yöntemiyle yapılmaktadır. AFB₁'in yüksek sıcaklıklarda bile kararlı olan bileşik olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda 150-200 °C sıcaklıklara çıkıldığında AFB₁'de ortalama % 79 civarlarında azalma gerçekleşmektedir. Ancak ürünü işlerken kullanılan sıcaklık, üründen AFB₁'in kısmen uzaklaşmasını sağlamaktadır. Bu yöntemin avantajı ucuz olması ve kısa sürede uygulanabilir olmasıdır (Soliman, 2002; Yazdanpanah ve ark., 2005; Park ve ark., 2005; Hwang ve Lee, 2006; Park ve Kim, 2006; Raters ve Matissek, 2008; Arzandeh ve Jinap, 2011; Lee ve ark., 2015; Zheng ve ark., 2015).

Bir diğer detoksifikasyon yöntemi ise γ radyasyonu ile ısıtma yöntemidir. Yapılan çalışmalara göre yer fıstığı, pirinç, hububatlar ve hayvan yemlerinde bu yöntemin kullanıldığı rapor edilmiştir. 6-60 kGy arasında değişen radyasyon kullanıldığında % 65'e kadar AFB₁'in uzaklaştığı bildirilmiştir. Ancak doğru doz uygulanmadığında bu yöntem gıda maddelerine zarar vermektedir (Ghanem ve ark., 2008; Herzallah ve ark., 2008; Di Stefano ve ark., 2014; Mohamed ve ark., 2015).

Bir diğer yöntem ise solventlerle özütlenme işlemidir. Örneğin, Miller ve arkadaşları (1985) yapmış olduğu çalışmada yer fıstığı yağından aflatoksin detoksifikasyonu için yer fıstığı yağı % 3'lük koalin ile muamele edilmiştir ve 15 dakikada detoksifikasyon sağlanmıştır.

- Kimyasal detoksifikasyon yöntemleri

AFB₁ ile kontamine olmuş gıdaların üzerinde kimyasal katkı maddelerinin kullanımı endüstride oldukça yaygınlaşmıştır. Sitrik, laktik, tartarik ve hidroklorik asit kullanılır fakat asetik, formik ve asit kullanımı etkin bir başarı göstermiştir. Asidik

solüsyonla ıslanan kontamine gıdalar için kısa süreli etki göstermektedir (Lee ve ark., 2015; Rushing ve Selim, 2016).

Bisülfite uygulanan gıdalarda enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları gerçekleştirilerek mikroorganizma gelişimi engellenmektedir. Örneğin, *A. flavus* inoküle edilen yer fıstığı ezmesi % 1'lik sodyum bisülfite ile muamele edilmiş ve 25 °C'de fungus gelişimini ve aflatoksini tamamen inhibe edilmiştir (Ghosh ve ark., 1996).

Ozonlamada sıklıkla kullanılan bir başka kimyasal yöntemdir. Ozon 6-90 g/ml arası konsantrasyonlarda kısa sürede AFB₁ bozunması gerçekştirmektedir. El-Deousky ve arkadaşlarının (2012) yapmış olduğu çalışmada buğdaylardaki aflatoksin seviyesini % 86,75 oranında düşürdüklerini rapor etmişlerdir.

- Biyolojik detoksifikasyon yöntemleri

Biyolojik yöntemlerle AFB₁'i metabolizma yoluyla ya da doğrudan fiziksel olarak kendine bağlayan bakterilerin inokülasyonu ile gerçekleştirilmektedir. *Lactobacillus*, *Saccharomyces*, *Cellulosimicrobium* ve diğerleri gibi birkaç bakteri türü araştırılmıştır (Haskard ve ark., 2001; Oluwafemi ve ark., 2010; Farzaneh ve ark., 2012; Liu ve ark., 2017). Brana ve arkadaşları (2002) tarafından yapılan çalışmada fungal aşılama, aflatoksin detoksifikasyonu için potansiyel bir yöntem olarak bildirilmiştir. Dorner ve arkadaşları (1992) yer fıstıklarında aflatoksin inhibisyonu için biyokontrol ajanı olarak non-aflatoksik *A. parasiticus* suşlarını araştırmışlardır. Toprağa non-aflatoksik *A. parasiticus* suşlarının inokülasyonu sonrası yer fıstıklarında üç yıl boyunca 11 ppb, 1 ppb ve 40 ppb aflatoksin tespit edilirken kontrol arazisindeki yer fıstıklarında 531 ppb, 96 ppb ve 241 ppb aflatoksin tespit etmişlerdir.

Bir diğer yöntem ise bitki ekstraktlarının kullanılmasıdır. Bu yöntemin etki mekanizması ise bitki ekstraktlarının sulu çözeltilerinin AFB₁'i inhibe etmesidir. Yapılan çalışmalarda *Adhatoda vasica* Ness ve *Corymbia citriodora* ekstraktlarının

AFB₁'in % 95 oranında bozulmasını sağladığı bildirilmiştir (Velazhahan ve ark., 2010; Vijayanandraj ve ark., 2014; Iram ve ark., 2016).

- Diğer detoksifikasyon yöntemleri

Fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerin birbirleriyle kombin edilerek uygulandığında bu yöntemlerin tek başına uygulandığında elde edilen sonuçlardan daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Örneğin, Proctor ve arkadaşları (2004) yapmış olduğu çalışmada yer fıstıklarının 75 °C'de 10 dakika boyunca ozonlandığında yer fıstıklarındaki AFB₁ seviyesinin % 77 oranında azaldığını gözlemlemişlerdir. Asit ve ısı kombinasyonu yapıldığında ise AFB₁'i azaltma oranı yükselmektedir. HCl, sitrik asit ve laktik asit yüksek sıcaklıklarda uygulandığında AFB₁ bozunma oranının yükseldiği gözlenmiştir. (Aly ve Hathout, 2011; Aiko ve ark., 2016; Rastegar ve ark., 2017). Siciliano ve arkadaşlarının (2016) yapmış olduğu çalışmada ise soğuk basınçlı atmosferik plazma kullanarak fındıklarda aflatoksin detoksifikasyonu üzerine çalışma yapmışlardır. 1000 W 12 dakika olarak belirlenen koşullar altında fındıklardaki toplam aflatoksine azalma ve AFB₁ oranında % 70 azalma gözlenmiştir. Günkaya ve arkadaşlarının (2016) yapmış olduğu çalışmada kuru üzüm ve portakal kabuğu artıklarından üretilen biyokompozit film, aflatoksin inhibisyonu amacıyla Selüloz Asetat Fitalat (SAF) ile daldırma yöntemiyle kaplanmıştır. Araştırma sonucu SAF ile kaplamanın biyokompozit filmin aflatoksin ve fungus gelişimini engelleme potansiyelini arttırdığını, SAF katkılı biyokompozit filmin aflatoksin gelişimini engelleme açısından ticari ambalaj filmiyle kıyaslandığında daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

2.4. Yenilebilir Filmler ve Kaplamalar

Yenilebilir film ve ambalajlar, gıda üzerine direkt olarak ince bir tabaka halinde kaplanan ve tüketilebilen bileşiklerden oluşmaktadır. Gıdaların orijinal bileşimini değiştirmeden nem, oksijen ve çözünme gibi bozulma etkenlerine karşı bariyer görevi görmektedir (Debeaufort ve ark., 1998; Krochta, 2002). Bilinen ilk kaplama 12. yy'da Çin'de portakal ve limonlara yapılmıştır (Allen ve ark., 1963). 16. yy'da

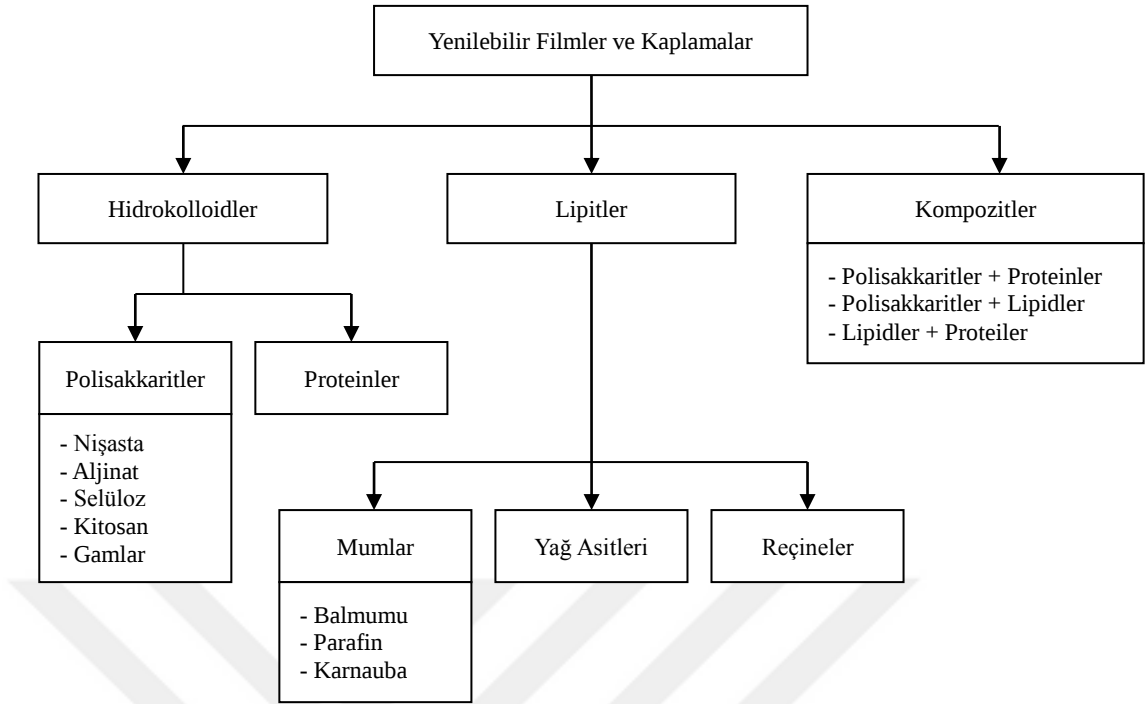
ise Amerika’da gıda ürünlerinin nem kaybını önlemek için lipid kaplamalar kullanılmıştır ve daha sonra taze meyve sebzeler için parafin mumu, wax, karnuaba mumu ve yağ-su emülsiyonları kullanılmıştır (Çağrı ve ark., 2004). 20. yy’da yenilebilir film ve kaplamalar meyve sebzelere parlaklık kazandırmak ve nem kaybını önlemek için kullanılmıştır (Baldwin, 1997).

Yenilebilir film ve kaplamalar gıdaları mekanik hasarlardan, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik aktivitelerden korumaktadır. O₂ ve CO₂ transferini kısıtlayarak gıda üzerinde modifiye atmosfer etkisi yaratmaktadır (Miller ve Krochta, 1997). Yenilebilir film ve kaplamalar ambalaj açıldıktan sonra bile gıdanın kalitesini muhafaza edebilme özelliğine sahiptir (Krochta, 1997).

Yenilebilir filmler ve kaplamalar gıdanın fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini korumanın yanısıra ambalaj görevi görerek aroma verici bileşiklerin kaybını engellemektedir. Yenilebilir filmlerin içerikleri zenginleştirilerek kaplanacağı gıdanın niteliklerini iyileştirebilir. Ayrıca doğada çözünebilir nitelikte olduğundan plastik ambalajlara iyi bir alternatifi olma özelliği göstermektedir.

2.4.1. Yenilebilir filmlerin özellikleri

Yenilebilir filmler genellikle hazırlandığı materyalin yapısına göre sınıflandırılmaktadır. Bunlar hidrokolloidler (proteinler, polisakkaritler ve aljinat gibi), lipitler (yağ asitleri, asilgliserol mumları gibi) ve kompozitlerdir (Donhowe ve Fennema, 1993). Yenilebilir filmler ve kaplamaların bileşenlerine göre sınıflandırılması Şekil 2.2.’de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Yenilebilir filmler ve kaplamaların bileşenlerine göre sınıflandırılması

Yenilebilir filmler ambalajlandığı gıdada organoleptik özellik göstermektedir. Tatlandırıcı, renklendirici, antioksidan ve antimikrobiyal bileşikler için taşıyıcı görev görmektedirler (Han ve Gennadios, 2005; Vasconez ve ark., 2008).

Her yenilebilir film farklı şekillerde hazırlanmaktadır. Polisakkarit ve protein bazlı filmler için plastikleştiriciler gerekli iken lipid bazlılarda emülgatörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Plastikleştiriciler, polimer zincirleri arasındaki moleküller arası kuvvetleri azaltmak için film solüsyonlarına dahil edilen düşük molekül ağırlıklı maddelerdir. Plastikleştiriciler yenilebilir filmlere esneklik, uzama gibi özellikler kazandırırken filmleri çatlamaya karşı da korur (Barreto ve ark., 2003). En yaygın kullanılan plastikleştiriciler; gliserol, sakaroz ve sorbitoldür. Emülgatörler, amfilik yapıya sahip yüzey aktif maddelerdir. Su-lipid veya su-hava arayüzlerinin yüzey gerilimini azaltır ve emülsiyon stabilitesini geliştirir (Han and Gennadios, 2005).

Polisakkarit esaslı yenilebilir film ve kaplamalarda selüloz, nişasta, pektin, deniz yosunu ekstraktları, mikrobiyal fermentasyon zamları ve kitosan bulunur (Krochta ve Mulder-Johnson, 1997). Polisakkarit bazlı kaplamalar renksizdir ve yağlı bir görünüme sahip değildir. Meyve ve sebze, kabuklu deniz ürünleri ve et

ürünlerinde yüzey koyulaşmasını, ransiditeyi azaltarak gıdaların raf ömrünü uzatmaktadır (Hassan ve ark., 2018).

Koruyucu kaplama olarak kullanılan lipitler asetilenmiş monogliseritler, doğal balmumu ve yüzey aktif maddelerden oluşur. En etkilileri ise balmumu ve parafin balmumudur. Lipit kaplamalar temel olarak düşük polariteleri nedeniyle nem transferini bloke etmektedir. Lipitlerin hidrofobik olmaları sebebiyle kalın ve kırılğan filmler oluşmaktadır. Bu nedenle selüloz, protein gibi film oluşturuu maddelerle kombine edilerek kullanılmalıdır (Debeaufort ve ark., 1993). Lipit bazlı yenilebilir filmlerde hidrofobik karakter arttığında su buharı geçirgenliği azalır. Lipitler polimer yapılı bir matriksle desteklendiğinde yenilebilir filme dayanıklılık kazandırılmaktadır (Bourtoom, 2008).

Kompozit film ve kaplama üretiminin temel amacı, filmlerin geçirgenlik veya mekanik özelliklerini iyileştirmektir. Film üst üste katmanlar halinde (iki kat) süspansiyon, emülsiyon veya dispersiyon şeklinde hazırlanır. Bu filmlerin dezavantajı ise iki kez kaplama ve iki kez kurutma aşamasının olmasıdır. Su buharı geçirgenliği iyi olmasına rağmen hazırlanma aşamasındaki dezavatajından dolayı gıdalara uygulamada pek tercih edilmemektedir (Hassan ve ark., 2018).

Proteinler genellikle film oluşturuu materyaller olarak kullanılır. Bunlar spesifik aminoasit dizilimleri ve moleküler yapıları olan makromoleküllerdir. Diğer film materyallerinden proteinlerin en belirgin özelliği amfilik doğada olmasıdır. Yapılarındaki iyonik ve hidrojen bağlarından dolayı iyi oksijen bariyeri özelliği göstermesine rağmen neme karşı duyarlıdır. Proteinlerin sekonder, tersiyer ve quarterner yapıları ısı denatürasyonu, basınç, ışınlama, asit, alkali, tuz ilavesi gibi işlemlerle istenilen film özelliklerine modifiye edilebilmektedir. Protein film oluşturuu materyaller; hayvan dokuları, sütler, yumurtalar, tahıllar ve yağlı tohumlar dahil olmak üzere birçok farklı hayvan ve bitki kaynağından elde edilir (Krochta, 2002). Yenilebilir filmlerin avantajları şu şekilde özetlenebilir: (Gennadios ve Weller, 1990; Baldwin ve ark., 1997; Krochta, 1997; Garcia ve ark., 2002).

- Yenilebilir filmler tüketilmediği takdirde doğada kendiliğinden bozunduğu için biyobozunur özelliktedir.
- Tüm film bileşenleri insanların tüketileceği gıda maddelerinden (örneğin; biyopolimerler, plastikleştiriciler ve diğer katkı maddeleri) oluştuğundan insan sağlığı açısından güvenlidir.
- Yenilebilir film ve kaplamalar kaplandığı veya ambajlandığı gıda maddesini fiziksel darbe, basınç ve diğer mekanik etkilere karşı korur.
- Gıdaları tamamen kaplayarak nem, yağ, istenmeyen koku emiliminden kaynaklı gıda bozulmalarını engelleyerek gıdaların kalitesini korumasına yardımcı olmaktadır.
- Kaplandığı gıdaya pürüzsüzlük, renk, parlaklık vererek fiziksel ve kimyasal kalitelerini iyileştirebilmektedirler.
- Gıdalara nem ve oksijen bariyeri görevi gördüğünden özellikle yağlı tohumlarda lipid oksidasyonuna bağlı acılaşmayı engelleyerek gıdaların tat ve aromalarını korumasını sağlar.
- Yenilebilir filmlere eklenen antimikrobiyal maddeler sayesinde kaplandığı gıdanın mikrobiyal bozunmasını engelleyerek raf ömrünü uzatabilmektedir.
- Yüksek maliyetli proses gerektirmediğinden ve hammaddesinin kolay temin edilebilir olmasından dolayı üretimi diğer teknolojilere göre daha ekonomiktir.

2.5. Protein Kaynaklı Yenilebilir Filmler

2.5.1. Peyniraltı suyu protein filmleri

Peyniraltı suyu proteinleri (PASP), peynir üretimi sırasında pıhtılaşmayı takiben süt serumu içinde bulunan çözünebilir proteinlerdir. Peyniraltı suyu proteinleri toplam süt proteinlerinin yaklaşık % 20'sini temsil eder (Brunner, 1977). Peyniraltı suyu proteini filmleri, düşük bağıl nemde doğru mekanik engelleme ve çok iyi gaz bariyeri özelliklerine sahiptir. Ayrıca bu kaplamalar çok iyi aroma ve uçucu yağlara bariyer özelliği gösterir (Kurak ve ark., 2014). Peyniraltı suyu proteininden üretilmiş kaplamaların dondurulmuş balıklarda antioksidant özellik sağladığı, kavrulmuş fıstıklarda ransiditeyi önlediği, kahvaltılık gevreklerde nemlenmeyi engelleyerek

reolojik özelliklerini iyileştirdiği ve kuru üzümün yapışkanlığını azalttığı bilimsel çalışmalarca gösterilmiştir (Karakaya ve ark., 2001). Peyniraltı suyu proteini bazlı yenilebilir filmler üzerine literatürde bir çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda birçok gıda maddesi PASP filmi ile kaplanırken bunun yanı sıra antimikrobiyal maddelerle kombin edilmiş halde çalışmalar da mevcuttur. Örneğin; Çağrı ve arkadaşları (2002) *p*-aminobenzoik asit, sorbik asit ve *p*-aminobenzoik asit, sorbik asit içeren PASP bazlı yenilebilir filmlerle *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium* ile inoküle edilmiş dilimlenmiş yarı fermente sosis ve Bologna tipi sosislere kaplamış ve bu filmlerin antimikrobiyal aktivitesi olduğunu gözlemlemişlerdir. Bir başka çalışmada ise kekik ve sarımsak özütü içeren PASP bazlı antimikrobiyal özellikteki filmlerin *S. Enteritidis*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal özellik gösterilmiştir (Sarıküş, 2006).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Bahram ve arkadaşları (2014) antimikrobiyal özelliklere sahip PASP esaslı bir yenilebilir film geliştirmiştir. Bu çalışmada, filmin içine su buharı geçirgenliğini ve suyun suda çözünürlüğünü geliştiren tarçın esansı yağı katılmıştır. Filmler; *B. subtilis*, *L. lactis*, *L. monocytogenes*, *S. agalactiae*, *E. coli*, *P. putida* ve *C. albicans*'a karşı antibakteriyel ve antifungal özellikleri olduğu gözlenmiştir.

Kuruyemişlerde PASP bazlı kaplamaların oksidasyonu da engellediği bazı çalışmalar tarafınan gösterilmiştir (Javanmard, 2007; Min ve Krochta, 2002). Javanmard'ın yapmış olduğu çalışmada antep fıstıkları peyniraltı suyu proteini bazlı yenilebilir filmlerle kaplanmıştır. Kaplanan antep fıstıkları kontrol örnekleriyle kıyaslandığında kaplama oksidasyonu engelleyerek raf ömrünün uzamasını sağlamıştır (Javanmard, 2007a). Bir diğer çalışmada ise PASP filmine zeytinyağı ilave edilip yer fıstıkları kaplanmıştır, 4 hafta depolanmıştır. Kaplanan örneklerin peroksit sayısı ve nem tutma kapasiteleri değerlendirilmiştir. Kaplama yer fıstıkları örneklerinde ransiditeyi % 50'ye kadar engellediği ve ağırlık kaybını azalttığını rapor etmiştir (Javanmard, 2007b).

Han ve arkadaşlarının (2008) yapmış olduğu çalışmada ise askorbik palmitat ve a-tokoferol içeren PASP bazlı kaplamanın fiziksel özellikleri ve kavrulmuş yer fıstığı içindeki lipit oksidasyonuna karşı antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. PASP bazlı kaplamaların lipit oksidasyonunu antimikrobiyal madde varlığı gözetmeksizin engellediği rapor edilmiştir.

2.6. Yenilebilir Filmlerin ve Kaplamaların Gıdalara Uygulanma Metotları

Yenilebilir filmlerin ve kaplamaların gıdalara uygulanmasında daldırma, püskürtme, boyama, dökme ve ekstrüzyon yöntemleri kullanılmaktadır.

Daldırma yöntemi, gıdanın 5-30 saniye süresince direkt kaplama solüsyonuna daldırılmasıyla uygulanmaktadır. Bu yöntemle homojen yüzeye sahip olmayan gıdalar tamamen kaplanarak kurutulabilmekte ve fazlalıklar uzaklaştırılabilmektedir. Büyük yüzeyli gıdaların kaplanması için uygun bir yöntem değildir. Et ürünlerine asetil gliseritlerin, meyve ve sebzelere mumların uygulanması için önerilmektedir (Caner, 2004; Pavlath ve Orts, 2009; Dhanapal ve ark., 2012).

Püskürterek kaplama yöntemi, ince bir tabaka halinde kaplama yapılması ve gıdanın belirlenen yüzeyinin korunması amaçlandığında kullanılmaktadır. Bu yöntemin dezavantajı fazla miktarda kaplama kullanılmasıdır (Polat, 2007; Üstünol, 2009).

Dökme yöntemi ise hazırlanan filmin belirli bir yüzeye dökülerek kurutulmasıyla kullanılan yöntemdir. Bu yöntemle oluşturulan filmlerin gaz geçirgenliği az olmasından dolayı daldırma ve püskürtme yöntemine yardımcı yöntem olarak kullanılmaktadır (Üstünol, 2009).

Boyama yönteminde, püskürtme yönteminde olduğu gibi homojen bir tabaka elde edilir. Bu yöntem gıdanın belli yüzeyi kaplanacaksa kullanılır. Kaplama çözeltisi fırça ile yüzeye sürülerek gıdanın kaplanması sağlanır (Üstünol, 2009).

Ekstrüzyon yöntemi, nişasta esaslı yenilebilir filmlerin yapımında kullanılmaktadır. Bu yöntemde, polimerlere plastikleştiriciler eklenmektedir. Kurutmaya ve çözücüye ihtiyaç duyulmaması, dökme yöntemiyle kıyaslandığında endüstri için daha uygundur (Dhanapal ve ark., 2012).

2.7. Yenilebilir Film Yapım Metotları

Koaservasyon, ısıl jelleşme, çözücü uzaklaştırılarak ve eriyiğin katılaştırılması gibi birçok film yapım tekniği geliştirilmiştir.

Koaservasyon; zıt yüklü hidrokolloid çözeltileri karıştırılarak polimer kompleksi etkileşir ve çökelti oluşturur (Çağrı-Mehmetoğlu, 2010).

Isıl jelleşmede; protein bazlı yenilebilir filmlerin hazırlanması aşamasında denaturasyon, jel ve çökelti oluşumu sonrasında koagülasyon ve jelatinizasyonun gerçekleşmesi için ısıl işlem uygulanır ve ardından soğutmaya tabi tutulur (Çağrı-Mehmetoğlu, 2010).

Çözücünün uzaklaştırılması; hidrokolloid esaslı film yapımında kullanılan yöntemdir. Bu işlemde, sürekli bir yapı oluşturulur ve moleküller arası etkileşim kararlı hale getirilir. Film özelliklerini iyileştirmek amacıyla plastikleştirici veya katkı maddeleri eklenir. Film düz yüzeye ince tabaka halinde dökülerek kurutulduktan sonra yüzeyden soyulur (Çağrı-Mehmetoğlu, 2010).

Eriyiğin katılaştırılması; eriyiğin soğutmayla katılaştırılması, yaygın olarak lipit esaslı filmlere uygulanır (Çağrı-Mehmetoğlu, 2010).

2.8. Antimikrobiyal Filmler ve Kullanım Alanları

Antimikrobiyal yenilebilir filmler gıdalardaki mikrobiyal aktiviteyi yavaşlatmak veya tamamen yok etmek için yenilebilir filmlerin içerisine antimikrobiyal maddelerin (benzoik asit, propiyonik asit, sodyum benzoat, sorbik asit, potasyum

sorbat, fenolik bileşikler, bakteriosin, kitosan) ilavesiyle oluşturulan filmlerdir. Antimikrobiyal madde ilaveli yenilebilir filmlerin uygulandığı gıdalar Tablo 2.5.'de verilmiştir. Yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılan kimyasal ve doğal antimikrobiyal maddeler Tablo 2.6.'da verilmiştir (Gennadios ve ark., 1994).

Tablo 2.5. Antimikrobiyal yenilebilir film ve kaplamaların gıda uygulamaları (Gennadios ve ark., 1994)

Biyopolimer	Antimikrobiyal Madde	Gıda	Kaynak
Peyniraltı proteini	suyu ρ -Aminobenzoik asit, Sorbik asit	Bologna sosisi, Yarı fermente sosis	(Çağrı ve Üstünol, 2002)
Metilselüloz	Kitosan	Kavun	(Liu ve ark., 2008)
Gluten	Nisin	Hindili Bologna sosisi	(McCormik ve ark., 2006)
Soya proteini	Üzüm çekirdeği ekstraktı, Yeşil çay özütü	Frankfurter sosisi	(Theivendran ve ark., 2005)
Kitosan	Asetik asit, Propiyonik asit	Bologna sosisi, Jambon, Pastırma	(Quattara ve ark., 2000)
Selüloz	Natamisin, Nisin	Mozzarella peyniri	(Santos ve ark., 2008)
κ -Karrajenan	Ovotransferrin, Etilendiamin tetra asetik asit, Sorbik asit	Tavuk göğüs eti	(Seol ve ark., 2009)
Jelatin	Mercanköşkü ekstraktı, Biberiye ekstraktı	Sardalya	(Gomez-Estaca ve ark., 2007)
Metilselüloz	Zeytin yaprağı ekstraktı	Kaşar peyniri	(Ayana ve Turhan, 2009)
Aljinat	Tarçın, Karanfil, Limon otu yağı	Elma	(Beverly ve ark., 2008)

Tablo 2.6. Yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılan antimikrobiyal madde çeşitleri (Gennadios ve ark., 1994)

Biyopolimer	Doğal Antimikrobiyal Madde	Kaynak
Selüloz	Pediosin	(Santiago-Silva ve ark., 2009)
Aljinat	Malik asit Tarçın yağı Palmarosa yağı Limon otu yağı Laktoperoksidaz	(Raybaudi-Massilia ve ark., 2008; Yener ve ark., 2009)
Jelatin	Üzüm çekirdeği ekstraktı Yeşil çay ekstraktı	(Hong ve ark., 2009)
Pektin-Polilaktik asit	Nisin	(Jin ve ark., 2009)
Nişasta-Kitosan	Ferulik asit	(Mathew ve Abraham, 2008)
Metilselüloz	Kitosan	(Krasaekoopt ve Mabumrung, 2008)
Biyopolimer	Kimyasal Antimikrobiyal Madde	Kaynak
Sodyum kazeinat	Potasyum sorbat	(Kristo ve ark., 2008)
Soya proteini	Etilendiamin tetra asetik asit	(Sivarooban ve ark., 2008)
Peyniraltı suyu proteini	Aminobenzoik asit Sorbik asit Potasyum sorbat	(Çağrı ve ark., 2002; Özdemir ve Floros., 2008)
Selüloz	3-trimetoksil-propildimetiloktadesil Amonyumklorid	(Jausovec ve ark., 2008)
Konjak glukomannan	Etilendiamin tetra asetik asit	(Lu ve ark., 2008)
Zein	Kalsiyum propiyonat	(Janes ve ark., 2005)

Literatürde antimikrobiyal özellik kazandırılmış yenilebilir filmlerle ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

Yapılan bir çalışmada kitosan ve uçucu yağ içeren solüsyonlarla yenilebilir filmlerin *Listeria monocytogenes*'e karşı olan antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Kekik

ve karanfil uçucu yağları yenilebilir film solüsyonlarına ilave edilmiş ve kaşar peynirlerini *L. monocytogenes* kontamine etmişlerdir. Araştırmacılar, kekik uçucu yağı içeren filmlerin karanfil uçucu yağı içeren filmlere göre daha güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir (Torlak ve Nizamoğlu, 2009). Bir başka araştırmada ise laktoperoksidaz içeren peyniraltı suyu proteini esaslı filmlerin *S. Enterica* ve *E. coli* O157:H7 ye karşı antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Laktoperoksidaz güçlü antimikrobiyal etki göstermiştir. Laktoperoksidaz içerikli PASP filmleri *S. Enterica* ve *E. coli* O157:H7 mikroorganizmalarını tamamen inhibe etmiştir (Min ve ark., 2005).

Moreira ve arkadaşları (2009) ise dilimlenmiş balkabaklarını kitosan, karboksimetilselüloz ve sodyum kazeinat içeren kaplama çözeltileri ile kaplamışlardır. Balkabağı dilimlerinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Yapılan mikrobiyolojik analiz sonucunda, sodyum kazeinat ve karboksimetilselüloz ile kaplanmış örneklerin mezofilik aerobik bakteri sayısında kaplanmamış örneklere göre önemli bir değişiklik görülmemiştir. Kitosan ile kaplanmış balkabağı dilimlerinde ise mezofilik aerobik bakteri sayısı yaklaşık 1 logaritmik evre azalmıştır.

Sonuç olarak antimikrobiyal maddeler yenilebilir filmlerle birlikte kombine edildiğinde gıdaların mikrobiyolojik olarak kalitesini artırabilmektedir.

2.9. Biyokontrol Uygulamaları

Biyolojik koruma gıdalarda sıklıkla sorunlara neden olan mikotoksinojenik mantarları inhibe etmek ve gıdalarda ve tarım ürünlerinde mikotoksin oluşumunu önlemek için antagonistik veya biyo-rekabetçi mikroorganizmaların kullanımını ifade eder. Gıdalarda ilk biyokontrol çalışmaları Tronsmo ve Dennis (1977) tarafından çileklerde küflenmeye karşı *Trichoderma* antagonist mayasının kullanılmasıyla başlamaktadır.

Son yıllarda antagonistik mikroorganizmaların veya bunların antimikrobiyal metabolitlerinin gıdalardaki patojenik bakterilerin gelişimini kontrol etmek ve de mikotoksinojenik mantarları kontrol etmek için doğal koruyucular olarak bazı potansiyelleri olabileceği araştırmalarla desteklenmiştir. Biyokontrol uygulamalarının avantaj ve dezavantajları Tablo 2.7.'de verilmiştir (Droby, 2009; Sharma ve Tiwari, 2014).

Tablo 2.7. Biyokontrol uygulamalarının avantaj ve dezavantajları (Droby, 2009; Sharma ve Tiwari, 2014)

Avantajları	Dezavantajları
Ekosistem dengesini bozmazlar	Diğer uygulamalara göre patojen öldürme hızı yavaştır
Çevre dostu bir uygulamadır	Çevre koşullarına karşı hassastır
Zararlı türler karşısında kalıcı bir engel oluşturlar	Raf ömrü sınırlıdır
Ajanları çevre dostudur	Laboratuvar ve gıdada aynı etkiyi gösterememektedir
Hedef zararlıyı etkileyerek çok az toksik kalıntı bırakırlar ya da hiç toksik kalıntı bırakmazlar	
Maliyeti düşüktür	
Başarılı ve yenilikçi bir uygulamadır	

2.9.1. Antagonist mayalar

Mikrobiyal ajanlar kullanılarak yapılan biyokontrol, hasat sonrası bozulmaların kontrolü için sentetik kimyasal fungusitlere alternatif olarak birçok çalışmada rapor edilmiştir. Antagonistik maya kullanımı özellikle vurgulanmıştır. Çünkü inhibe edici aktivitelerinde toksik sekonder metabolitlerin üretimi genellikle yer almamaktadır (Wisniewski ve Wilson, 1992; Spadaro ve Gullino, 2004; Droby ve ark., 2009).

Antagonistik mayaların mantar patojenlerinin hifine bağlanma kabiliyeti ve litik enzimleri salgılaması, biyokontrol aktivitesinde önemli bir rol oynar. Bu özellikler ilk olarak antagonist maya *Pichia guilliermondii*'nin *B. cinerea*'nin hifine sıkıca

bağlanması ve patojenin hücre duvarlarını parçalayan β - (1-3) glukanaaz salgılaması ile keşfedilmiştir (Komiyama ve ark., 1998).

Hasat öncesi ve sonrası patojenlere karşı biyokontrol ajanı olarak kullanılan antagonistik mayalar sıcaklık, nem, düşük oksijen seviyesi, pH, UV radyasyonu gibi çevresel koşullara dayanıklıdır. Ayrıca maya üretimi ekonomik ve hızlıdır. Bunun dışında alerjenik sporlar veya mikotoksinler üretmezler ve basit beslenme gereksinimlerine sahiptirler (Spadaro ve ark., 2010). Maya üretiminin gerçekleştirilmesi için mayanın etkinliğini belirleyen faktörler önem kazanmaktadır. Bunlar: İnokülüm etkisi, kullanılan besiyeri, uygulandığı gıdanın kompozisyonunun etkisi, ortam pH'sı, sıcaklık ve depolama-koruma koşulları olarak belirlenmiştir (Rodgers, 2001; Droby ve ark., 2009; Schwenninger ve ark., 2011; Sharma ve Tiwari, 2014).

Son yıllarda biyokontrol ajanları zirai ürün üreten şirketlerin de ilgi odağı olmuştur. *Penicillium expansum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, *Fusarium sambucinum*, *Rhizopus stolonifer* ve *Botrytis cinerea* gibi patojenlere karşı hasat sonrası biyokontrol uygulaması için bir çok ürün geliştirilmiştir. Aspire™ (*Candida oleophila* suşları 1–182) ve YieldPlus™ (*Cryptococcus albidus*), Shemer™ (*Metschnikowia fructicola*), BoniProtect® (*Aureobasidium pullulans*), CandiFruit (*C. sake*) yaygın olarak dünya çapında kullanılan en etkili biyokontrol ajanlardır (Janisiewicz ve Korsten, 2002). Patentli çeşitli antagonist mayalar Tablo 2.8.'de gösterilmiştir (Spadaro ve Droby, 2016).

Tablo 2.8. Ticari olarak kullanılan biyofungusitler (Spadaro ve Droby, 2016)

Mikroorganizma	Ürün	Hedef patojen	Meyve
<i>Candida oleophila</i>	Aspire	<i>Botrytis</i> , <i>Penicillium</i>	Turunçgil ve yumuşak çekirdekli meyveler
<i>C. oleophila</i>	Nexy	<i>Penicillium</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Rhizopus</i>	Yumuşak çekirdekli meyveler
<i>C. sake</i>	Candifruit	<i>Penicillium</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Rhizopus</i>	

Tablo 2.8. (Devamı)

Mikroorganizma	Ürün	Hedef patojen	Meyve
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Boniprotect	<i>Penicillium, Botrytis, Monilinia</i>	Yumuşak çekirdekli meyveler
<i>Cryptococcus albidus</i>	Yield Plus	<i>Botrytis, Penicillium, Mucor</i>	
<i>Metschnikowia fructicola</i>	Shemer	<i>Botrytis, Penicillium, Rhizopus, Aspergillus</i>	Üzüm, çilek, tatlı patates

2.9.1.1. *Williopsis saturnus* var. *saturnus* antagonist mayası

Williopsis saturnus var. *saturnus* (eski adıyla *Hansenula saturnus*) killer toksin üreten mayalardandır. *Williopsis* spp. mayaların en önemli özelliklerinden birisi de laktoz ve galaktozu fermente edememesidir. Bu özelliklerinden dolayı gıdalarda aroma ve yapıya hiçbir etkide bulunamamaktadırlar. Patojen, lipolitik ve proteolitik özellik göstermemesi biyokontrol ajanı özelliği göstermesini sağlamaktadır (Liu ve Tsao, 2009).

W. saturnus var. *saturnus* mayası HSK-HYI (Gen kodu, IF0 0117YI) adlı toksin üreterek antagonist etki göstermektedir (Ohta ve ark., 1984; Komiyama ve ark., 1995). Bu toksin etkisini hedef mikroorganizmanın hücre duvarında β -1-3 glukan sentezini engelleyerek göstermektedir (Komiyama ve ark., 1998).

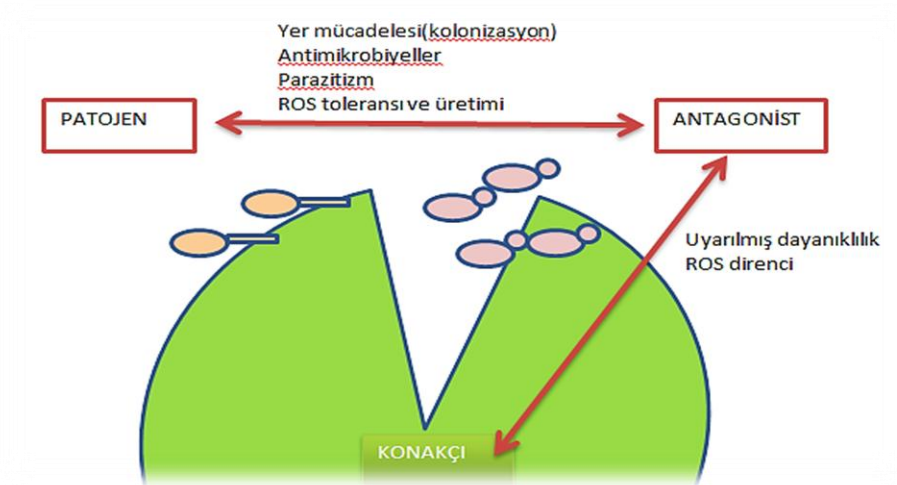
Liu ve Tsao (2009) *W. saturnus* var. *saturnus* mayasını kullanarak, peynir üretiminde galaktozu fermente ederek bozulmaya yol açan *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyveromyces marxianus* mayalarının gelişimini inhibe ederek peynir üretiminde biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Liu ve Tsao'nun (2010) yaptıkları bir diğer çalışmada ise *W. saturnus* var. *saturnus* yoğurtta bozulma etmeni olan *Byssoschlamys*, *Eurotium* ve *Penicillium* spp'e antifungal özellik göstererek yoğurdun raf ömrünü uzattığını bildirmişlerdir.

W. saturnus mayası; *Zygosaccharomyces bailii*, *S. cerevisiae*, *C. albicans*, *C. krusei*, *Kluyveromyces phaffii*, *K. marxianus*, *K. Fragilis*, *K. Lactis* ve *Hansenula* gibi birçok maya çeşidine antagonist etki göstermektedir (Vondrejs ve Palkova, 1997).

W. saturnus içeren PASP bazlı film ile kaplanan kaşar peynirlerinde *W. saturnus* mayası *Lactic streptococcus* ve *Laktobacillus* gelişimini baskılayarak antagonist özellik göstermiştir (Civelek ve Çağrı Mehmetoğlu, 2017). Diğer bir çalışmada ise farklı konsantrasyonlarda *W. saturnus* içeren PASP bazlı filmler üretilmiş ve *P. expansum* ve *A. niger*'e inhibisyonu incelendiğinde *W. saturnus* mayasının antifungal potansiyeli belirlenmiştir (Karabulut ve Çağrı-Mehmetoğlu, 2018).

2.9.2. Antagonist mayaların etkinlik mekanizması

Antagonist mayaların etki mekanizmalarını incelerken antagonist, patojen, konakçı ve yerleşik epifitik mikroflorası arasında meydana gelen etkileşimler dikkate alınmalıdır. Bu etkileşimlere göre biyokontrol mekanizmasının entegre edilmesi gerekmektedir (Massart ve ark., 2015). Patojen, konakçı ve antagonist arasındaki ilişki Şekil 2.3.'de özetle gösterilmiştir (Droby ve ark., 2009).



Şekil 2.3. Konakçı, patojen ve antagonist arasındaki etkileşim (Droby ve ark., 2009)

2.9.2.1. Besin ve yer mücadelesi

Antagonistik mayaların karbonhidratlar, azot, oksijen için rekabet etmesi hasat sonrası oluşan mantar patojenlerine karşı birincil etki şekli olarak kabul edilmektedir. Rekabet, antagonist doğru zamanda ve yerde yeterli miktarda olduğunda ve sınırlı besin kaynaklarını patojenden daha verimli kullanabildiği zaman etkili bir biyolojik kontrol mekanizması olabilmektedir (Droby ve ark., 2009).

Antagonistlerin besin rekabetinde demir önemli rol oynar. Mayalar topraktaki suda çözünmeyen Fe^{+3} formunu Fe^{+2} 'ye indirgerken siderofor adlı bir madde üretirler. Bu sideroforlar patojenlerin aktivitelerini inhibe etmektedir (Oberegger ve ark., 2001). Yer rekabetinde ise antagonist mayaların biyofilm oluşturma yeteneklerinin hayatta kalmalarını sağlayarak patojenlerin gelişme alanını daraltmaktadır (Droby ve ark., 2009; Lacroix, 2011).

2.9.2.2. Hiperparazitizm

Antagonist, konakçısını tanıdıktan sonra hifini direk olarak konakçısına yöneltir ve ürettiği enzimlerle patojeni eritir. Hücre duvarı proteinlerinin çoğu oksijen, azot, oligosakaritler ve modifiye edilmiş glikoproteinlerdir. Hücre duvarı proteinleri; hücre şeklinin korunmasında, hücre içi madde geçişine aracılık etmede, hücreyi yabancı maddelere karşı korumada, moleküllerin emilimine aracılık etmede, hücre duvarı bileşenlerini sentezlemede ve hücre duvarı bileşenlerini yeniden düzenlemede önemli rol oynamaktadır. Patojenin hücre duvarının parçalanmasına antagonist mayanın ürettiği proteaz, kitinaz ve glukanaz enzimi neden olmaktadır (Bora ve Özaktan, 1998; Droby ve ark., 2009).

2.9.2.3. Antibiyozis etki

Mayalar; öldürücü toksinler, peptitler ve antibiyotik metabolitler gibi antifungal bileşikler üretebilir. Bu maya türleri, aynı veya farklı bir türe ait mikrobiyal hücrelere karşı öldürücü toksinler veya öldürücü proteinler olarak belirtilen hücre dışı protein

toksinlerini üretir. Katil toksinlerin çoğu 3 ila 5.5 arasında değişen pH değerlerinde stabil ve aktif olmaları nedeniyle rakibine karşı ekolojik üstünlük kazanmaktadır. Örneğin antifungal olan 2-feniletanol, *K. apiculata*'dan izole edilmiştir ve *P. digitatum* ve *P. italicum*'un neden olduğu turuncgiller üzerinde yeşil ve mavi küflere karşı inhibe edici aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Liu ve ark., 2014).

2.9.3. Antagonist mayaların yenilebilir filmlerle birlikte kullanıldığı bazı çalışmalar

Antagonist mikroorganizmaların yenilebilir filmlerle kombin edilerek kullanılması biyokontrol ajanlarının stres koşullarına toleransını artırarak ekolojik yarışta avantaj sağlamaktadır. Ayrıca biyokontrol ajana tutunacak yüzey sağlayarak uzun süre etki göstermesini sağlamaktadır (Droby ve ark., 2009; Marín ve ark., 2016).

Antagonist mayaların yenilebilir filmlerle birlikte kullanıldığı çalışmalar meyve ve sebzeler üzerine uygulanmasıyla sınırlıdır ve geçmişi çok eskilere dayanmamaktadır. Bu uygulamalarla ilgili ilk çalışma McGuire ve Baldwin (1994) tarafından greyfurtların depolanmasını uzatmak için selüloz filmlerde *C. oleophila*'nın kullanılmasıdır.

Yinzhe ve Shaoying (2013), bira mayası içeren karboksimetilselüloz ve aljinat bazlı kaplamaların üzüm muhafazasına etkisini araştırmıştır. Oda sıcaklığında 13 gün saklandıktan sonra bira mayası ile kaplamaların 1.5×10^7 ila 1.5×10^9 CFU / mL konsantrasyonlarda kaplanmamış kontrolle karşılaştırıldığında üzümlerdeki çürüme miktarını azalttığını ve maya ile kaplamaların depolama süresi boyunca C vitamini kaybını yavaşlattığını rapor etmişlerdir.

Sharma ve ark. (2006) *Alternaria alternata* ve *Geotrichum candidum*'un neden olduğu domateslerde çürümenin kontrolü için *Candida utilis* biyokontrol mayası içeren kitosan filmleri kullandılar. Test edilen tüm örnekler, *A. alternata* ve *G. candidum* kaynaklı bozulmayı hem de domates yüzeyinde oluşan lezyonların çapını önemli ölçüde azaltmıştır. Ayrıca mayanın uzun süre hayatta kalabildiğini rapor

etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise *C. laurentii* (9 log kob/mL) biyokontrol mayası içeren filmle çilekler kaplanmıştır. Depolama süresi boyunca *C. laurentii* mayasının neredeyse yarısı hayatta kalabilmiştir. *C. laurentii*'nin meyvedeki küf gelişimini % 30 inhibe etmiştir. Ayrıca kaplanan çileklerde renk ve antosiyanin içeriği değişmezken su kaybını engellemiştir (Fan ve ark., 2009).



BÖLÜM 3. MATERYAL ve METOT

3.1. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Üretiminde Kullanılan Materyaller

- Yer fıstığı

Film ile kaplanacak yer fıstıkları, BB Tekstil Gıda San. ve Tic. A.Ş.den (Bağdatlılar Çerez, Düzce) temin edilmiştir.

- Peyniraltı suyu protein konsantresi

Film yapımında kullanılan peyniraltı suyu protein konsantresi (> % 80), Milkaş Gıda San. ve Dış Tic. Ltd. Şti.den (İstanbul) temin edilmiştir.

- Gliserol

Film üretiminde plastikleştirici olarak kullanılan gliserol Sigma-Aldrich'den (Stenheim, Almanya) temin edilmiştir.

- NaOH

Filmin pH'sını ayarlama da kullanılan NaOH, Merck'ten (Almanya) temin edilmiştir.

- Mikroorganizmalar

Williopsis saturnus var. *saturnus* mayası Çukurova Üniversitesi (Adana, Türkiye) Gıda Mühendisliği Bölümü'nde öğretim üyesi olan Prof. Dr. Hüseyin ERTEN'den temin edilmiştir. Mayanın çoğaltılması ve korunması amacıyla % 0,6 (a/h) maya

özütü (Merck, 103753) içeren Triptic Soy Agar (TSA) (Merck, 105458) besiyerinde geliştirilen koloniler öze yardımıyla alınarak % 0,6 maya özütü içeren Triptic Soy Broth (TSB) (Merck, 105459) tüplerine aktarılmıştır. Kültürler 30 °C’de 24 saat inkübasyon ile 2 kez aktifleştirildikten sonra geliştirildikleri sıvı besiyerine % 15 gliserol (h/h) ilave edilerek -18 °C’de depolanmıştır.

Aspergillus flavus küf suşu ise TÜBİTAK MAM’dan temin edilmiştir. Küf suşunun çoğaltılması ve korunması amacıyla TSA (Merck, 105458; Merck, 103753) besiyerinde 30 °C’de 5 gün inkübe edilen küf sporları drigalski spatülü yardımıyla % 0,6 maya ekstraktı içeren TSB içeren sıvı besiyeriyle yüzeyden sıyrılmıştır. Suşlar geliştirildikleri sıvı besiyerine % 15 (h/h) gliserol ilave edilerek -18 °C’de depolanmıştır

3.2. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Üretimi

3.2.1. Antagonistik mayanın elde edilmesi

Stok kültürden 10 ml TSB + % 0,6 maya ekstraktı besiyerine 1 öze inoküle edilerek 30 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Besiyerinde geliştirilen aktif kültürün spektrofotometrede (SHİMADZU UV-1240, Japonya) spectral taraması yapılarak tepe noktası belirlenmiştir (360 nm). Kültür besiyerinin spektrofotometrede 360 nm’de 2 saatte 1 olacak şekilde okuması yapılmıştır. Aynı zamanda aktif kültürün TSA + % 0,6 maya ekstraktı besiyerine yayma yöntemiyle ekimi yapılarak 24 saat boyunca mayanın gelişim kurvesi elde edilmiştir. Sonuçlar, aktifleştirilen *W. saturnus* var. *saturnus* mayasının 10 ml % 0,6 maya özütü içeren TSB besiyerine 1 öze inokülasyonu sonucu 30 °C’de 24 saat inkübasyonda 10^7 kob/ml kültür elde edileceğini göstermiştir. Filmlere ilave edilecek maya konsantrasyonları bu hesap göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Yer fıstığı yüzeyine kaplanacak film solüsyonları içerisinde istenilen maya miktarlarına ulaşabilmek için gerekli hesaplamalar kob/cm² film üzerinden yapılmıştır. Besiyerleri 30 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 9000 rpm 15 dakika 4 °C’de maya kültürleri santrifüjlenerek (Hettich, Universal-320R, Almanya) üstte kalan süpernatant

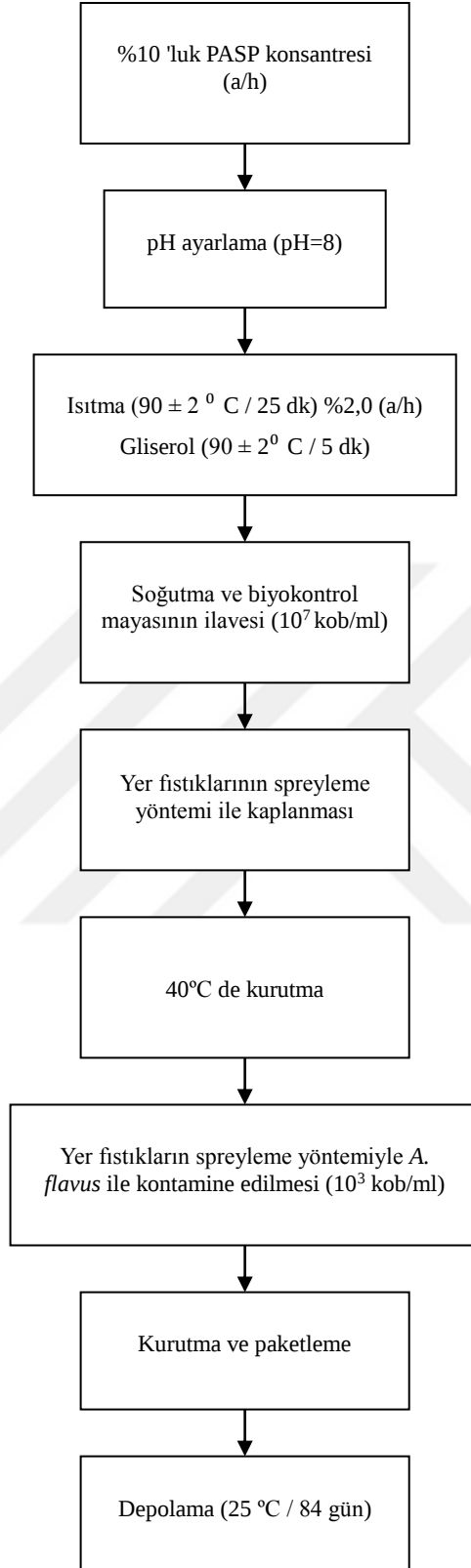
dökülmüştür. Dipte kalan pelet 2 kez 10 ml steril destile su ile besiyeri içeriğinin uzaklaştırılması amacıyla 6000 rpm 10 dk santrifüj edilerek yıkanmıştır. Bu işlemler sonucunda elde edilen pelet film çözeltisine ilave edilmeye hazır hale getirilmiştir.

3.2.2. Maya içeren yenilebilir film üretimi

Steril saf su ile % 10 (a/h)'luk peyniraltı suyu proteini (PASP) çözeltisi hazırlanmıştır. PASP solüsyonunun pH'sı 0,5 N NaOH kullanılarak pH metrede (Mettler Toledo Seven Compact, IonS220, İsviçre) 8,0'e ayarlanmıştır. Asitliği ayarlanan solüsyon 90 ± 2 °C'ye ayarlı çalkalayıcı su banyosunda 25 dakika (JSR, JSSB-30T, Kore) ısıtılmıştır. Çalkalamanın 25. dakikasında plastikleştirici olarak % 2,0 (a/h) gliserol eklenerek 5 dakika daha çalkalanmıştır. Film solüsyonu su banyosundan çıkarıldıktan sonra soğutulmuştur. Santrifüj işlemiyle elde edilen *W. saturnus* var. *saturnus* mayası film solüsyonlarına ayarlanan miktarlarda eklenerek vorteksle (IKA, MS3 basic, Amerika) iyice karıştırılmıştır (Karabulut ve Çağrı-Mehmetoğlu, 2018).

3.2.3. Yer fıstıklarının *W. saturnus* var. *saturnus* mayası ekli yenilebilir film ile kaplanması

Yer fıstığı örnekleri steril bir şekilde tepsilere dizilmiştir. Dış zarlarından ayrılan bütün haldeki yer fıstıkları steril saf su, *W. saturnus* içeren steril saf su, PASP film çözeltisi ve *W. saturnus* içeren PASP film çözeltisi ile spreyleme yöntemiyle kaplanmıştır. Aseptik şartlarda etüvde 40 dk kurutulmuştur. Kurutulan örnekler *Aspergillus flavus* küföyle spreyleme yöntemiyle kontamine edilmiştir. Daha sonra aseptik koşullarda 50'şer gram olarak yer fıstığı ambalajıyla paketlenmiştir. Depolamanın 0, 14, 28, 42, 56, 70 ve 84. günlerinde mikrobiyal analizler maya/küf, su aktivitesi, ağırlık kaybı, nem, tiyobarbitürik analizi (TBA), Aflatoksin toplam ve aflatoksin B₁ analizleri ve 0. günde duyusal analiz yapılmıştır. *W. saturnus* var. *saturnus* mayası ekli PASP filminin üretimi ve yer fıstıklarıyla kaplanma aşamaları Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *W. saturnus* var. *saturnus* mayası ekli PASP filminin üretimi ve yer fıstıklarıyla kaplanma aşamaları

3.3. Laboratuvar Analizleri

3.3.1. Mikrobiyolojik analizler için örneklerin hazırlanması

Her 50 g örnekten 25 g alındıktan sonra steril blendıra konulmuş ve 225 ml % 0.1 peptonlu su (Merck, Almanya) eklenerek parçalayıcıda (Interscience, Bagmixer 400, Fransa) 2 dakika homojenize edilmiştir. Uygun dilüsyonlar hazırlandıktan sonra katı besiyerlere ekim yapılmıştır.

3.3.2. *Aspergillus flavus* sayımı

Maya – küf sayımı için gerekli dilüsyonlar hazırlanmış ve Oxytetracycline Glucose Yeast Extract Agar'a (OGYE) yayma yöntemiyle ekim yapılarak küfler 5 gün 25 °C de inkübasyona bırakılmıştır.

3.3.3. Antagonistik maya sayımı

Antagonistik maya sayımı için gerekli dilüsyonlar hazırlanmış ve MRS Agar'a dökme yöntemiyle ekim yapılarak 30 °C de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır.

3.3.4. Aflatoksin toplam ve B₁ analizi

Aflatoksin analizi için Elisa yöntemi kullanılmıştır. Analizde Veratox for Aflatoksin HS (Neogen, ABD) test kiti kullanılmıştır.

Yer fıstığı örnekleri 25 gram alınarak 125 ml % 70'lik (Merck, Almanya) metanol ile blendırda 2 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler filtre kağıdından (Whatman, No:1) süzümüştür. 100 µl süzüntü karıştırma kuyucuklarına alınır ve üzerine 100 µl konjugat ilave edilerek karıştırma işlemi yapılır. Karıştırma işlemi yapıldıktan sonra karışımdan 100 µl alınarak antibody kuyucuklarına aktararak 10 dakika inkübasyona bırakılır. Daha sonra bu karışım dökülerek kuyucuklar saf suyla yıkanır ve iyice kurulanır. Kurulanan kuyucukların içerisine

100 µl substrat aktarılarak 10 dakika bekletilir. 10 dakika sonunda 100 µl red stop ilave edilerek reaksiyon durdurulur. Mikrookuyucuya (Statfax 4700) alınan kuyucuklar 650 nm’de absorbans değerleri okunur. Absorbans değerleri Veratox v3 yazılımına yüklenerek ppb ye çevrilir ve Aflatoksin toplam değeri hesaplanır. Aflatoksin B₁ değeri için ise aflatoksin toplam değeri 0,7 katsayısı ile çarpılarak hesaplanır.

3.3.5. TBA analizi

Yer fıstığı örnekleri 10 gram alınıp 50 ml saf su ilave edilerek blendırla homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnek 100 ml’ye tamamlanarak distilasyon balonuna alınarak üzerine 2,5 ml HCl asit (1:2, H₂O; HCl) (Merck, Almanya) eklenmiştir. Kaynamayı kolaylaştırmak amacıyla cam boncuk ilave edilip distilasyon süzeneğine bağlanmıştır. 50 ml distilat toplanana kadar distilasyon yapılmıştır. Tüplere alınan 5 ml distilat üzerine 5 ml TBA reaktifi eklenerek vortexten (IKA,MS3 basic, Amerika) geçirildikten sonra sıcak banyosunda (JSR, JSSB-30T, Kore) 100 °C’de 35 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 10 dakika boyunca soğutulup alınan örneklerin spektrofotometrede (Shimadzu UV-1240) 538 nm’de absorbans değerleri okunmuştur. TBA değerleri aşağıdaki eşitlik (Denklem 3.1) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{TBA Değeri (mg malonaldehit / kg örnek)} = 7,8 * A \quad (3.1)$$

A: Absorbans değeri

3.3.6. Su aktivitesi tayini

Yer fıstığı örnekleri blendırda ezilerek örnek kaplarına yerleştirilmiştir. Cihazın kalibrasyonu a_w (viz. LiCl=0.114, MgCl₂=0.329, K₂CO₃=0.443, Mg(NO₃)₂=0.536, NaBr=0.653 ve KCl=0.821) 6 tane doyurulmuş solüsyon ile yapılmıştır. Göstergede okunan değerler su aktivitesi değeri olarak kaydedilmiştir (Karabulut ve Çağrı-Mehmetoğlu, 2018).

3.3.7. Nem tayini

Analizlerin yapılacağı kurutma kabı 130°C’de etüvde sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Kurutma kapları içerisine öğütölmüş 3-5 g yer fıstığı örneği tartılıp konulmuştur. Örnek nem kabı yüzeyine yayılarak 105±3 °C’de 4 saat kurutulmuştur. Desikatöre alınarak soğutulan örneklerin tartımı yapılmıştır. Sabit tartıma gelen örnekler desikatörde soğuduktan sonra tartılmış ve % nem olarak hesaplanmıştır. Nem tayini aşağıdaki eşitlik (Denklem 3.2) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Nem} = \frac{M1-M2}{m} * 100 \quad (3.2)$$

M1: Alınan örnek ağırlığı+sabit tartıma getirilen kurutma kabının ağırlığı (g)

M2: Kurutulmuş örnek+ sabit tartıma getirilen kurutma kabının ağırlığı (g)

m: Alınan örneğin ağırlığı (g)

3.3.8. Protein tayini

Yer fıstıklarının protein tayini Kjeldahl yöntemi ile tespit edilmiştir. Örnekler öğütme işleminden geçtikten sonra 1 g tartılarak Kjeldahl balonlarına alınarak Kjeldahl tableti, 25 ml H₂SO₄ ve cam boncuk ilave edilerek yakma ünitesinde yaklaşık 3,5 saat yaş yakma işlemine alınmıştır. Yakma işlemi tamamlanan örnekler distilasyon ünitesinde NaOH ve % 4’ lük HBO₃ muamele edilerek distile edilmiştir. Distilat toplanan erlene indikatör olarak 1 ml metilen mavisi ve metilen yeşili ilave edilmiştir. Toplanan distilat 0,1 N HCl ile titre edilerek menekşe moru renk elde edilene kadar işleme devam edilmiştir. % azot cinsinden hesaplama aşağıdaki eşitlik (Denklem 3.3) kullanılarak yapılmıştır.

$$\% \text{ Azot} = \frac{0,014*(V_s-V_k)*N}{m} * 100 * 6,25 \quad (3.3)$$

V_s: Titrasyonda harcanan HCl asit çözeltisinin hacmi

V_k: Şahit deneyde harcanan HCl asit çözeltisinin hacmi

N: Ayarı yapılan HCl asit çözeltisinin derişimi / m: Örnek ağırlığı

3.3.9. Ağırlık ölçümü

Depolamanın 0, 14, 28, 42, 56, 70 ve 84. günlerinde örnekler hassas terazide tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Tartımlar arasındaki farklar % nem kaybı olarak hesaplanmıştır. Ağırlık ölçümü, aşağıdaki eşitlik (Denklem 3.4) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Nem Kaybı} = \frac{A_i - A_s}{A_i} * 100 \quad (3.4)$$

A_i : Başlangıç paket ağırlığı (g)

A_s : 0, 14, 28, 42, 56, 70 ve 84. gün sonundaki paket ağırlığı (g)

3.3.10. Renk tayini

Yer fıstıklarının renk analizi Lovibond RT 300 Series Reflectance Tintometer (İngiltere) marka kolorimetre cihazı ile L^* , a^* , b^* renk sistemi cinsinden belirlenmiştir. Ölçümler, örneğin dış yüzeyinde farklı bölgelerde gerçekleştirilmiş ve bunların aritmetik ortalaması alınmıştır. Hunter Lab sisteminde L^* değeri parlaklığı, a^* değeri pozitif değerdeyken kırmızı negatif değerde yeşili ve b^* değeri pozitif değerde sarıyı negatif değerdeyken mavi renk aralığını ifade etmektedir (Karabulut ve Çağrı-Mehmetoğlu, 2018).

3.3.11. Duyusal analiz

Duyusal değerlendirmede kullanılacak yer fıstıkları 4 farklı kaplama solüsyonuyla kaplanmıştır. Numaralandırılan örnekler panelistlere su ile birlikte sunulmuştur. Panelistlerden görünüm, doku, lezzet kriterlerini değerlendirmeleri istenmiştir. Duyusal analizler BB Tekstil Gıda San. ve Tic. A.Ş. (Bağdatlılar Çerez) personelinden ve Düzce Üniversitesi öğrencilerinden oluşan 100 panelist ile gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizlerde kullanılan değerlendirme formu Şekil 3.1.'de verilmiştir.

DUYUSAL ANALİZ TESTİ				
PANELİSTİN ADI SOYADI:	TARİH: .../.../2018			
ÜRÜN: Yer Fıstığı	SAAT:			
	ÖRNEK KODLARI			
	1	2	3	4
GÖRÜNÜM				
ÇOK İYİ Düzgün ve pürüzsüz görünümde; lekesiz, açık tonda kahverengi, homojen renk dağılımı	5	5	5	5
İYİ Düzgün ve pürüzsüz görünümde; lekesiz, orta tonda kahverengi, homojen renk dağılımı	4	4	4	4
AZ KUSURLU Düzgün görünümde olmayan, pürüzlü görünümde; az lekeli, renkte sapmalar	3	3	3	3
KUSURLU Düzgün görünümde olmayan, pürüzlü görünümde; çok lekeli, koyu kahverengi	2	2	2	2
ÇOK KUSURLU Düzgün görünümde olmayan, aşırı pürüzlü görünümde; çok lekeli, çok koyu kahverengi	1	1	1	1
DOKU				
ÇOK İYİ Yer fıstığına özgü sertlikte; çiğnenebilir, damağa yapışmayan ve damakta kuruluk hissi bırakmayan, çiğnendikten sonra kolay yutulabilir	5	5	5	5
İYİ Kabul edilebilir sertlikte; çiğnenebilir, damağa yapışmayan ve damakta az miktarda kuruluk hissi bırakan, çiğnendikten sonra kolay yutulabilir	4	4	4	4
AZ KUSURLU Hafif sert veya yumuşak; damağa hafif yapışan ve damakta kuruluk hissi bırakan, çiğnendikten sonra yutulması hafif güç	3	3	3	3
KUSURLU Sert; damağa yapışan ve damakta kuruluk hissi bırakan ve sakızimsı kıvamda, çiğnendikten sonra yutulması güç	2	2	2	2
ÇOK KUSURLU Aşırı sert veya aşırı yumuşak; damağa aşırı derecede yapışan ve damakta aşırı kuruluk hissi bırakan, yutulması çok güç	1	1	1	1
LEZZET				
ÇOK İYİ Kendine özgü tipik yer fıstığı lezzetinde ve tatlılıkta	5	5	5	5
İYİ Kendine özgü tipik yer fıstığı lezzetinde hafif tatlı	4	4	4	4
AZ KUSURLU Kavrık; hafif tatlı veya okside lezzet	3	3	3	3
KUSURLU Aşırı kavrık, acımsı, tatlı; belirgin okside lezzet; yabancı lezzet	2	2	2	2
ÇOK KUSURLU Aşırı kavrık ve aşırı derecede acı lezzet veya yabancı lezzet, kabul edilemez tatlılık	1	1	1	1

Şekil 3.2. Duyusal analizlerde kullanılan değerlendirme formu

3.3.12. Taramalı elektron mikroskobu ile yer fıstıklarının yüzeylerinin incelenmesi

Farklı solüsyonlarla kaplanmış yer fıstığı örneklerinin yüzeylerinin incelenmesi amacıyla Jeol JSM 6060 LV (Japonya) marka Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Yer fıstıklarına altın-paladyum kaplama yapıldıktan sonra analizler yüksek vakumda ve sıvı nitrojen varlığında gerçekleştirilmiştir.

3.3.13. İstatistiksel analizler

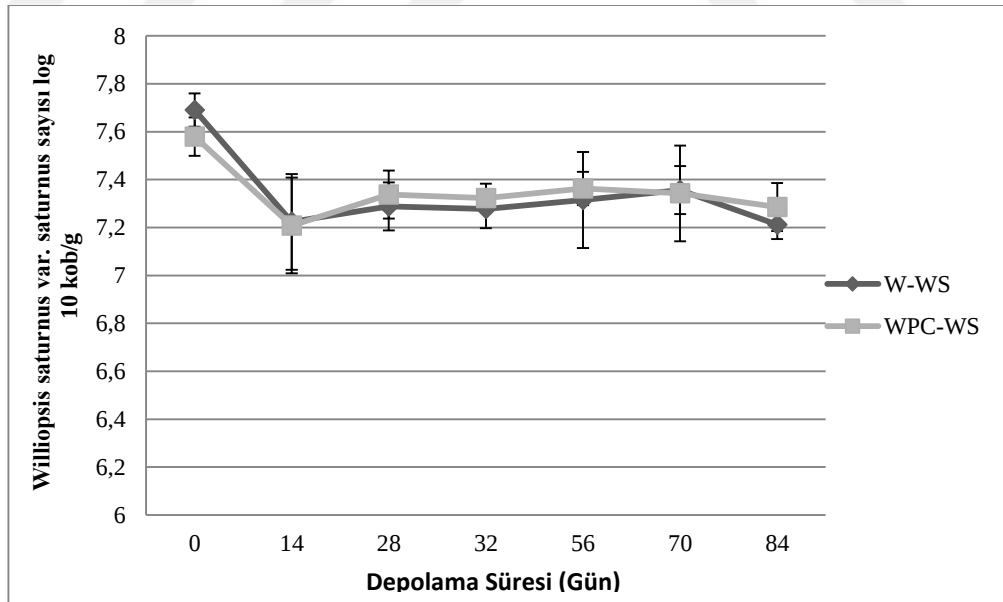
W. saturnus var. *saturnus* antagonist mayası ekli peyniraltı suyu proteini yenilebilir filmi ile kaplanan yer fıstığı örneklerinin mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal analizlerinden elde edilen veriler IBM SPSS Statistics 20.0 paket programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA), denemeler arasında önem farklılıklarının karşılaştırılmasında; Duncan çoklu karşılaştırma testi, gruplar arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında kullanılmıştır ($p < 0,05$).

BÖLÜM 4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Çalışmamızda 10^7 kob/g konsantrasyonunda *Williopsis saturnus* var. *saturnus* mayası peyniraltı suyu proteini konsantresi (PASP) bazlı yenilebilir filmlere eklenip spreyleme yöntemiyle kavrulmuş yer fıstıkları kaplanıp, kurutulduktan sonra paketlenip 25 °C de 84 gün depolanmıştır. *W. saturnus*, küf ve maya sayısı depolanma süresi boyunca gözlenmiştir. Yer fıstıkları örneklerinin su aktivitesi, aflatoksin toplam ve B₁, kimyasal analiz ve duyu analizi sonuçları incelenmiştir.

4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

- *Williopsis saturnus* var. *saturnus* maya sayısı



Şekil 4.1. *W. saturnus* içeren PASP bazlı kaplamanın yer fıstığı örneklerinde 25°C’de, 84 günlük depolama süresi boyunca *Williopsis saturnus* var. *saturnus* üremesine etkisi (log10 kob/g) (S-WS: *W. saturnus* içeren saf su, PASP-WS: *W. saturnus* içeren peyniraltı suyu proteini kaplaması)

n=12

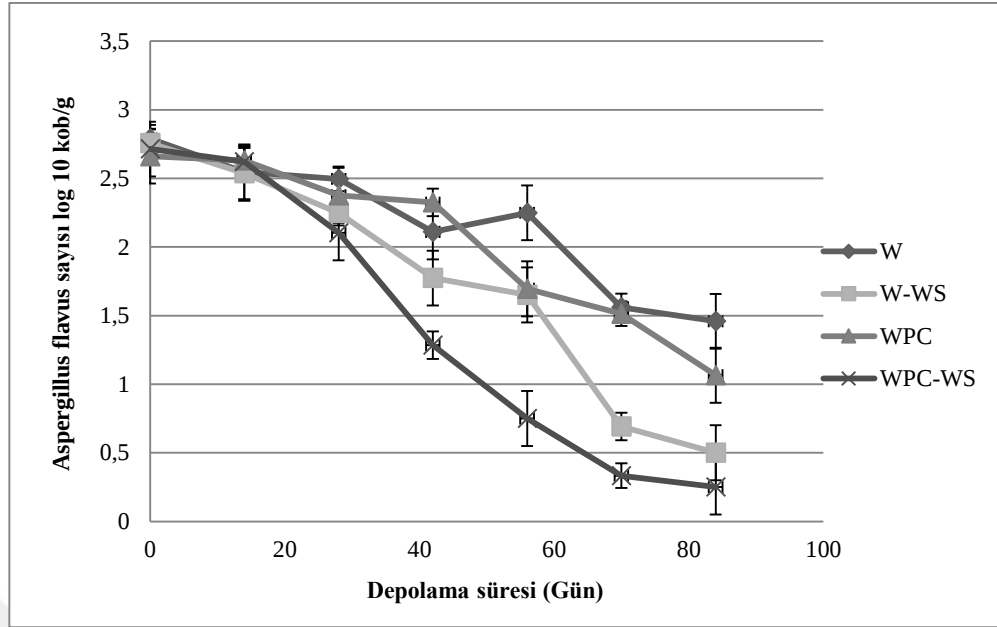
Yer fıstığı örneklerinde *W. saturnus* var. *saturnus* sayısı depolamanın ilk günün de ortalama 7,63 log₁₀ kob/g depolamanın son günü ise ortalama 7,25 log₁₀ kob/g olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.1). Depolama sonunda *W. saturnus* var. *saturnus* sayısı 0,28 ile 0,48 log₁₀ kob/g arasında bir azalma göstermiştir fakat bu istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır (p<0,05).

Yapılan benzer bir çalışmada *W. saturnus* antagonist mayasının (8,8 log kob/cm²) PASP filminde 28 gün canlılığını % 60 koruyabildiklerini göstermiştir (Karabulut ve Çağrı-Mehmetoğlu, 2018). Diğer araştırmacılara göre kaplama materyalindeki antagonist maya popülasyonları, başarılı biyolojik kontrol faaliyetleri için 4-6 log kob/cm²'den yüksek olmalıdır (McGuire ve Hagenmaier, 1994). Aloui ve arkadaşlarının (2015) yapmış olduğu çalışmada, sodyum aljinat ve keçiyoynuzu zamkı bazlı filmlerde, 25 °C'de 21 gün boyunca % 85'ten fazla *Wickerhamomyces anomalus* (6 log kob/cm²) korunum oranını bildirmiştir. Bizim çalışmamızda ise 84 günlük depolamada mayanın fıstık üzerinde PASP filmi ile canlı kalma yüzdesi nerdeyse % 95'e yakındır. Bunun nedeni mayanın düşük su aktivitesine rağmen fıstık yüzeyinde besin maddelerini kullanarak canlı kalmaları olarak tahmin edilmektedir.

- *Aspergillus flavus* sayısı

Yer fıstığı örneklerinde *A. flavus* sayısı en çok 2,79 log₁₀ kob/g olarak saptanmıştır. *A. flavus* sayısı 84 günlük depolama süresi boyunca sırasıyla saf su, *W. saturnus* içeren saf su ile kaplanmış, PASP filmi ile kaplanmış ve PASP ile kaplı yer fıstığı örneklerinde yaklaşık 2,79 log 10 kob/g'dan 1,46, 0,5, 1,07 ve 0,25 log 10 kob/g'a düşmüştür (p<0,05).

W. saturnus içeren her iki kaplama örneğinde *Aspergillus flavus* sayısının 2,26 ve 2,46 log₁₀ kob/g azalması mayanın küf gelişimini önemli ölçüde engellediğini göstermektedir.



Şekil 4.2. *W. saturnus* içeren PASP bazlı kaplamanın yer fıstığı örneklerinde 25°C’de, 84 günlük depolama süresi boyunca *A. flavus* üremesine etkisi (log10 kob/g) (W: Kontrol, S-WS: *W. saturnus* içeren saf su, WPC: PASP, PASP-WS: *W. saturnus* içeren peyniraltı suyu proteini kaplaması)
n=12

Williopsis cinsinin tür ve suşları, özellikle *W. saturnus* var. *saturnus*, *W. saturnus* var. *mraki*’nin iyi mikosin üreticisi oldukları bilinmektedir (Liu ve Tsao, 2009). Karabulut ve Çağrı-Mehmetoğlu’nun (2018) yapmış olduğu bir çalışmada da *W. saturnus* içeren PASP filmlerinin *Aspergillus niger* ve *Penicillium digitarum* üremesini besiyerinde durdurduğu gözlenmiştir.

W. saturnus katil mayası, hücre duvarında 1-3-β-glukan ve 1-6-β-glukanın sentezini bloke etmek için bir antikor toksini olan HYI (Gen kodu, IF0 0117YI) salgılayabilmektedir (Guyard ve ark., 2002). HYI’ye ek olarak, *W. saturnus* tarafından salgılanan uçucu izoamil asetat, filamentli mantarların spor gelişimini baskılayıp hücre zarına zarar verip ve protein yapısını değiştirebilmektedir (Ando, Kurata ve Kishimoto, 2005).

4.2. Aflatoksin Analizi

Tablo 4.1.'de farklı kaplamalar ile kaplanmış yer fıstıkları örneklerinin depolama süresi boyunca aflatoksin toplam (ppb), Tablo 4.2.'de ise aflatoksin B₁ değerleri (ppb) verilmiştir.

Tablo 4.1. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca aflatoksin toplam değerlerinin zamanla değişimi (ppb)

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	Aflatoksin toplam (ppb)			
	0. gün	28. gün	56. gün	84. gün
Saf su	2,87±0,31 ^{Da}	3,77±0,41 ^{Ab}	5,1±0,82 ^{Ba}	6,55±0,68 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	2,13±0,08 ^{Bb}	2,30±0,30 ^{ABb}	2,50±0,30 ^{ABc}	2,45±0,30 ^{ABc}
PASP	2,80±0,36 ^{Da}	3,31±0,30 ^{Cc}	4,06±0,23 ^{Bb}	5,20±0,25 ^{Ab}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	2,00±0,37 ^{Ab}	2,13±0,12 ^{Ac}	2,03±0,29 ^{Ac}	2,10±0,25 ^{Ac}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:6)

A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:6)

Tablo 4.2. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca aflatoksin B₁ değerlerinin zamanla değişimi (ppb)

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	Aflatoksin B ₁ (ppb)			
	0. gün	28. gün	56. gün	84. gün
Saf su	2,01±0,22 ^{Da}	2,64±0,29 ^{Ab}	3,57±0,60 ^{Ba}	4,6±0,48 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	1,49±0,06 ^{Bb}	1,61±0,21 ^{ABb}	1,75±0,21 ^{ABc}	1,72±0,21 ^{ABc}
PASP	1,98±0,25 ^{Da}	2,32±0,21 ^{Cc}	2,85±0,16 ^{Bb}	3,64±0,18 ^{Ab}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	1,40±0,26 ^{Ab}	1,49±0,14 ^{Ac}	1,42±0,20 ^{Ac}	1,47±0,18 ^{Ac}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:6)

A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:6)

Aflatoksin seviyesi depolama sonunda minimum 2,10 ppb maksimum 6,55 ppb tespit edilmiştir. *W. saturnus* içeren saf su ile kaplanmış yer fıstıklarında aflatoksin miktarı depolama süresi boyunca 0,32 ppb artmıştır. *W. saturnus* içeren PASP bazlı filmlerle kaplanan yer fıstıklarında ise 0,10 ppb artış olmuştur. Maya içermeyen kaplamalarla

kıyaslandığında *W. saturnus* içeren her iki kaplama yer fıstıkları örnekleri üzerinde aflatoksin gelişimini önemli ölçüde engellemiştir ($p<0,05$). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Tebliği'ne göre aflatoksin B₁ limiti yer fıstığı için maksimum 5 ppb olarak belirlenmiştir. Maya içeren örneklerin aflatoksin seviyesi bu limitin altındadır.

Çalışmamızda öngörüldüğü gibi *W. saturnus* mayası azalan küf sayısına bağlı olarak *A. flavus*'un ikincil metaboliti olan aflatoksin seviyesini de önemli miktarda azaltmıştır.

4.3. TBA Analizi

Tablo 4.3.'te farklı kaplamalar ile kaplanmış yer fıstıkları örneklerinin depolama süresi boyunca TBA sayıları ($\mu\text{gMA/g}$) verilmiştir.

Tablo 4.3. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca TBA değerlerinin zamanla değişimi ($\mu\text{gMA/g}$)

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	TBA ($\mu\text{gMA/g}$)			
	0. gün	28. gün	56. gün	84. gün
Saf su	0,205 $\pm$ 0,00 ^{Db}	0,320 $\pm$ 0,02 ^{Ca}	0,512 $\pm$ 0,02 ^{Ba}	0,737 $\pm$ 0,03 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	0,267 $\pm$ 0,03 ^{Da}	0,313 $\pm$ 0,30 ^{Ca}	0,507 $\pm$ 0,01 ^{Ba}	0,720 $\pm$ 0,05 ^{Aa}
PASP	0,161 $\pm$ 0,01 ^{Dc}	0,233 $\pm$ 0,01 ^{Cb}	0,283 $\pm$ 0,01 ^{Bb}	0,334 $\pm$ 0,02 ^{Ab}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	0,196 $\pm$ 0,01 ^{Db}	0,230 $\pm$ 0,02 ^{Cb}	0,273 $\pm$ 0,02 ^{Bb}	0,437 $\pm$ 0,03 ^{Ab}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

Kaplanan örneklerde en yüksek TBA değeri 0,720 $\mu\text{gMA/g}$, en düşük ise 0,161 $\mu\text{gMA/g}$ bulunmuştur.

PASP filmlerle kaplanan örneklerde depolama süresi boyunca TBA sayısı değişimi 0,173 ve 0,241 $\mu\text{gMA/g}$ olmuştur. Diğer örneklerle kıyaslandığında yer fıstıklarının PASP ile kaplanması TBA sayısının % 50 oranında azalmasını sağlamıştır ($p<0,05$).

Yer fıstıklarının PASP ile kaplanması oksidasyonu engellediğini destekleyen çalışmalar literatürde mevcuttur. Örneğin, Lee ve arkadaşlarının (2002) yapmış olduğu çalışmada yer fıstıkları E vitamini içeren PASP ile kaplanmışlardır ve kaplanan örnekler kontrol örneğiyle kıyaslandığında kaplamanın acılaşmayı önlediğini bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise PASP ile kaplanan yer fıstıklarının kontrolle kıyaslandığında % 50'ye kadar oksidasyonu engellediği bildirilmiştir (Janvanmard, 2007).

4.4. Su Aktivitesi

Tablo 4.4.'de farklı kaplamalar ile kaplanmış yer fıstıkları örneklerinin depolama süresi boyunca su aktivitesi değerleri verilmiştir.

Tablo 4.4. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca su aktivitesi değerlerinin zamanla değişimi

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	Su aktivitesi			
	0. gün	28. gün	56. gün	84. gün
Saf su	0,339±0,006 ^{Ba}	0,329±0,010 ^{Ba}	0,320±0,014 ^{Aa}	0,331±0,011 ^{Bab}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	0,342±0,007 ^{Bb}	0,337±0,005 ^{Aa}	0,316±0,006 ^{Ab}	0,316±0,007 ^{ABab}
PASP	0,316±0,007 ^{ABab}	0,340±0,008 ^{Cb}	0,336±0,014 ^{Bb}	0,337±0,007 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	0,337±0,005 ^{Ab}	0,335±0,012 ^{Bb}	0,344±0,006 ^{Ab}	0,328±0,019 ^{Ab}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

Depolamanın ilk gününde *W. saturnus* içeren PASP ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinin a_w değeri diğer örneklerle göre daha düşük olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). *W. saturnus* içeren PASP ile kaplanmış örneklerde depolamanın 56. gününde 0,009 birim artarken *W. saturnus* içeren saf su ile kaplanmış örneklerde a_w değeri depolama sonuna kadar sabit kalmıştır ($p<0,05$).

4.5. Nem Analizi

Tablo 4.5.'te farklı kaplamalar ile kaplanmış yer fıstıkları örneklerinin depolama süresi boyunca nem değişimi verilmiştir.

Tablo 4.5. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca nem değerlerinin zamanla değişimi (%)

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	Nem (%)			
	0. gün	28. gün	56. gün	84. gün
Saf su	3,95±0,22 ^{Aa}	4,07±0,33 ^{Aa}	4,21±0,08 ^{Aa}	4,23±0,12 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	4,09±0,18 ^{Aa}	4,13±0,23 ^{Aa}	4,30±0,12 ^{Aa}	4,34±0,14 ^{Aa}
PASP	4,11±0,18 ^{Aa}	4,27±0,09 ^{Aa}	4,29±0,07 ^{Aa}	4,27±0,23 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	4,16±0,21 ^{Aa}	4,31±0,06 ^{Aa}	4,29±0,20 ^{Aa}	4,35±0,08 ^{Aa}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

Maya içeren PASP ve PASP kaplamaların nem miktarı diğer örneklerle göre fazla tespit edilmiştir. Diğer örneklerin saf su bazlı kaplamalarla kaplanması nem miktarının PASP ile kaplı örneklerle göre düşük olmasına neden olmuştur.

Örnekler nem artışı bakımından kıyaslanacak olursa maya içeren PASP ve PASP ile kaplanan örneklerde % 0,19 ve % 0,16 nem artışı olmuştur. Diğer örneklerle göre nem artışının az olmasıyla maya içeren PASP ve PASP ile kaplanmış örneklerde kuru madde kaybının daha az olduğu söylenebilir ($p<0,05$).

4.6. Protein Tayini

Tablo 4.6.'da farklı kaplamalar ile kaplanmış yer fıstıkları örneklerinin depolama süresi boyunca protein değerleri % azot cinsinden verilmiştir.

Tablo 4.6. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca % azot değerlerinin zamanla değişimi

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	% azot değeri	
	0. gün	84. gün
Saf su	23,99±0,91 ^{Aa}	24,15±1,21 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	24,45±0,36 ^{Aa}	24,52±0,24 ^{Aa}
PASP	25,64±1,53 ^{Aa}	24,18±1,54 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	25,63±0,95 ^{Aa}	26,45±1,50 ^{Aa}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:3)
A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:3)

Farklı solüsyonlarla kaplanan yer fıstıkları örnekleri protein bakımından kıyaslandığında istatistiksel açıdan önemli bir değişiklik tespit edilmemiştir. Depolama süresince *W. saturnus* içeren kaplamalarda protein oranında değişiklik olmaması *W. saturnus*'un proteolitik özellikte olmadığını destekler niteliktedir.

4.7. Ağırlık Ölçümü

Tablo 4.7.'de farklı kaplamalar ile kaplanmış yer fıstıkları örneklerinin depolama süresi boyunca ağırlık ölçümleri, Tablo 4.8.'de ise % nem kaybı değerleri verilmiştir.

Tablo 4.7. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca ağırlık ölçümü değerinin zamanla değişimi (g)

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	Ağırlık (g)			
	0. gün	28. gün	56. gün	84. gün
Saf su	60,38±1,71 ^{Aa}	60,37±1,81 ^{Aa}	60,26±1,76 ^{Aa}	60,24±1,82 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	57,95±1,58 ^{Aa}	57,80±1,54 ^{Aa}	57,77±1,50 ^{Aa}	57,71±1,49 ^{Aa}
PASP	58,62±2,13 ^{Aa}	58,34±1,96 ^{Aa}	58,27±1,91 ^{Aa}	58,05±1,66 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	51,51±2,57 ^{Aa}	51,48±2,51 ^{Aa}	51,42±2,42 ^{Aa}	51,44±2,49 ^{Aa}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:3)
A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:3)

Yer fıstığı örneklerinde % ağırlık kaybı 0,02 ile 0,97 g arasında gözlenmiştir. Farklı kaplamalar ile kaplanmış örnekler arasındaki % ağırlık kaybı istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($p<0,05$). Benzer sonuçlar Civelek ve Çağrı-Mehmetoğlu'nun (2019) yapmış olduğu çalışmada da gözlenmiştir.

PASP bazlı kaplamaların hidrofilik özelliklerinden dolayı kaplandığı gıdalarda iyi nem bariyeri oluşturmamaktadırlar. PASP bazlı kaplamalar yağ bazlı içeriklerle desteklendiğinde ise kaplamanın özellikleri iyileşmektedir. Javanmard (2007) yapmış olduğu çalışmada zeytinyağı ilave edilmiş PASP ile kaplanan yer fıstıkları kontrol örneğiyle kıyaslandığında ağırlık kaybının daha az olduğunu rapor etmiştir.

Tablo 4.8. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca % ağırlık kaybı değerinin zamanla değişimi (g)

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	% Nem kaybı			
	0. gün	28. gün	56. gün	84. gün
Saf su	-	0,02±0,01 ^{Aa}	0,20±0,13 ^{Aa}	0,23±0,02 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	-	0,25±0,18 ^{Aa}	0,31±0,04 ^{Aa}	0,41±0,07 ^{Aa}
PASP	-	0,48±0,34 ^{Aa}	0,60±0,08 ^{Aa}	0,97±0,26 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	-	0,06±0,04 ^{Aa}	0,17±0,08 ^{Aa}	0,14±0,02 ^{Aa}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:3)

A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:3)

4.8. Renk Tayini

Tablolarda farklı kaplamalar ile kaplanmış yer fıstıkları örneklerinin depolama süresi boyunca renk değerleri verilmiştir. Yer fıstığı örneklerinde L^* , a^* ve b^* parametreleri analiz edilmiştir. L^* parlaklık (+) ve matlık (-) değerini; a^* değeri kırmızılık (+) ve yeşillik, b^* değeri ise sarılık (+) ve mavilik (-) değerini belirtmektedir.

PASP ile kaplanan örnekler saf suyla kaplanan örneklerle kıyaslandığında L^* değerleri daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Bunun sebebinin ise PASP filminin yer fıstıklarında parlaklığı artırdığı düşünülmektedir.

Tablo 4.9. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca L^* değerlerinin zamanla değişimi

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	L^* değeri			
	0. gün	28. gün	56. gün	84. gün
Saf su	74,38±2,20 ^{Aa}	68,56±2,30 ^{Bb}	64,95±1,04 ^{Cd}	59,40±1,40 ^{Db}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	73,91±1,53 ^{Aa}	66,91±2,32 ^{Bb}	66,68±1,01 ^{Bc}	59,70±3,48 ^{Cb}
PASP	75,61±3,36 ^{Aa}	78,22±2,73 ^{Aa}	76,30±1,10 ^{Ad}	74,91±1,96 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	76,47±2,46 ^{Aa}	75,37±1,98 ^{ABa}	73,99±1,17 ^{Bdc}	72,92±1,26 ^{Ca}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

Farklı kaplama solüsyonlarıyla kaplanmış olan yer fıstıkları örneklerinde L^* değeri 59,40 ile 78,22 değerleri arasında bulunmuştur. Saf su ve *W. saturnus* içeren saf suyla kaplanmış örneklerde depolama gününe bağlı olarak L^* değerlerinde önemli derecede düşüşler olmuştur ($p<0,05$).

Tablo 4.10. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca a^* değerlerinin zamanla değişimi

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	a^* değeri			
	0. gün	28. gün	56. gün	84. gün
Saf su	8,83±1,50 ^{Aa}	9,28±0,01 ^{Aa}	9,25±0,03 ^{Aa}	9,47±0,21 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	8,76±0,50 ^{Aa}	9,18±0,08 ^{Aa}	9,25±1,01 ^{Aa}	9,28±0,07 ^{Aa}
PASP	8,39±1,12 ^{Aa}	8,16±0,05 ^{Aa}	7,25±1,10 ^{Aa}	7,88±0,60 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	9,20±0,10 ^{Aa}	8,55±0,38 ^{Aa}	7,45±1,17 ^{Aa}	8,01±0,48 ^{Aa}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

Yer fıstıklarında seksen dört günlük depolama süresi boyunca a^* değerleri 7,25 ile 9,28 arasında değişmiştir. Yer fıstıklarının farklı solüsyonlarla kaplanması a^* değerinde önemli bir değişikliğe yol açmamıştır ($p>0,05$). Elde etmiş olduğumuz L^* ve a^* değerlerine benzer değerleri Brannan ve arkadaşları (1999) yağı uzaklaştırılmış

yer fıstıklarının 12 haftalık depolanma süresince fizkokimyasal ve duyusal özelliklerini incelemiş olduğu çalışmada da elde etmiştir.

Tablo 4.11. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde depolama süresi boyunca b^* değerlerinin zamanla değişimi

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	b^* değeri			
	0. gün	28. gün	56. gün	84. gün
Saf su	33,28±1,48 ^{Aa}	33,68±1,22 ^{Aa}	32,25±1,48 ^{Aa}	33,43±1,62 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	33,90±1,50 ^{Aa}	33,48±1,62 ^{Aa}	32,82±1,41 ^{Aa}	33,16±,38 ^{Aa}
PASP	32,05±1,18 ^{Aa}	32,26±1,24 ^{Aa}	33,00±1,10 ^{Aa}	32,87±1,36 ^{Aa}
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	32,89±1,27 ^{Aa}	33,18±1,38 ^{Aa}	33,45±1,10 ^{Aa}	32,26±2,48 ^{Aa}

a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)
A, B, C; Aynı satırda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$; n:9)

Yer fıstıklarının farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmasının ve antagonistik maya eklenmesi örneklerde tespit edilen b^* değerinde değişikliğe neden olmamıştır ($p>0,05$).

Singleton & Pattee (1991) yapmış oldukları çalışmaya göre yer fıstıklarının dondurucu soğukta muhafaza edilmesinin yer fıstıklarının kimyasal bileşimini değiştirdiği özellikle de b^* değerini olumsuz etkilediğini bilmiştir. Bizim çalışmamızda da renk tayini yapılacak örneklerin dondurucuda bekletilmiş olmasından kaynaklı bu değerlerin yüksek çıktığı düşünülmektedir.

4.9. Duyusal Analiz

Yer fıstığı görünüş bakımından açık kahverengi, lekesiz ve homojen renk dağılımına sahip, dokusu; çiğnenebilir, damağa yapışmayan ve damakta kuruluk hissi bırakmayan, çiğnendikten sonra kolay yutulabilir, lezzet; kendine özgü tipik lezzette olmalıdır.

Tablo 4.12.'de farklı kaplamalar ile kaplanmış yer fıstıkları örneklerinin panelistler tarafından değerlendirilme puan dağılımı verilmiştir.

Tablo 4.12. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yer fıstığı örneklerinde duyu özelliklerinin değerlendirilmesi

Fıstıkların kaplandığı kaplamalar	Görünüş	Doku	Lezzet
Saf su	4,50±1,33 ^a	3,96±1,04 ^a	4,28±1,28 ^a
<i>W. saturnus</i> içeren saf su	3,91±0,77 ^a	4,15±0,99 ^a	4,44±1,29 ^a
PASP	4,54±1,46 ^a	4,07±0,91 ^a	3,88±0,90 ^a
<i>W. saturnus</i> içeren PASP	4,57±1,46 ^a	4,10±0,89 ^a	3,75±0,93 ^a

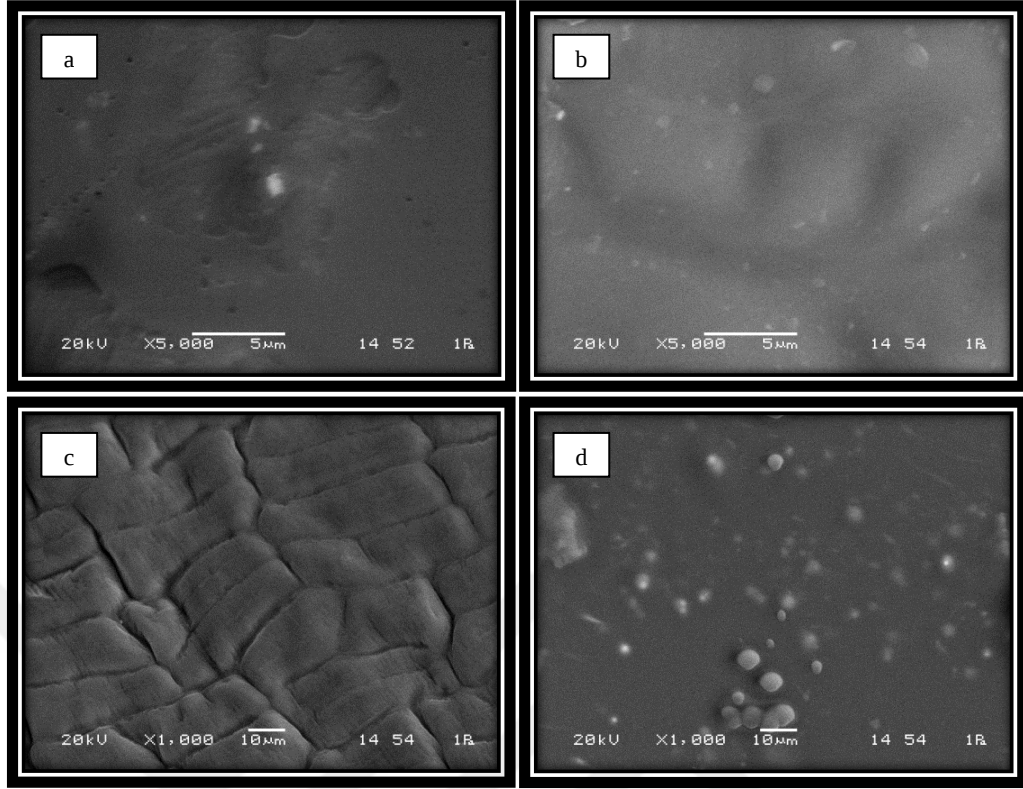
a, b, c; Aynı sütunda farklı üssel ifadeye sahip değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$; n:100)

Panelistler tarafından yapılan değerlendirmeler sonucu çeşitli solüsyonlarla kaplanan yer fıstıkları görünüş bakımından düzgün ve pürüzsüz görünümde, doku bakımından ise kabul edilebilir sertlikte ve lezzet bakımından kendine özgü yer fıstığı tadında ve hafif tatlı olarak değerlendirilmiştir. Farklı solüsyonlarla kaplanan yer fıstıkları örnekleri arasında istatistiksel açıdan fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

Farklı solüsyonlarla kaplanan örneklerin duyu açıdan yer fıstıklarının özelliklerini değiştirmemesi eklenen mayanın canlılık ve üreme faaliyetlerinin ürünü etkilemediğini göstermektedir.

4.10. Yer Fıstıklarının Yüzeylerinin Taramalı Elektron Mikroskopunda İncelenmesi

Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri (SEM) filmlerin yüzey homojenitesi, katman yapısı, por ve çukurları, yüzey pürüzsüzlüğü ve kalınlığı hakkında bilgi vermektedir (Garcia ve ark., 2009). Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanan yer fıstıkları Taramalı Elektron Mikroskopunda incelenmiştir. Yer fıstıklarının yüzey mikrografları Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Kaplanmış fıstık örneklerinin elektron mikroskobu görüntüleri. (a) Kontrol, (b) *W. saturnus* ilave edilmiş saf su, (c) PASP, (d) *W. saturnus* ilave edilmiş PASP

Kaplanmış örneklerin yüzey mikrografları incelendiğinde saf su içerisine *W. saturnus* ilave edilmiş solüsyonla kaplanan örnekte (b) mayaların yer fıstığı yüzeyine tutunduğu gözlenmektedir. Yapılan çalışmalar da PASP filminin yer fıstığı yüzeyinde pürüzlü yapı oluşturmamasından dolayı yer fıstıklarının yüzeyi pürüzlendirilerek daha etkili bir kaplama yüzeyi elde edilmiştir (Lin ve Krochta, 2006).

PASP filmine ilave edilmiş mayalar da (d) film içerisine homojen biçimde dağılmıştır ve film yapısını PASP filmine (c) göre daha pürüzsüz ve parlak hale getirmiştir. Bizim çalışmamızdan almış olduğumuz benzer çalışmalar da literatürde bulunmaktadır. Örneğin; Marín ve ark. (2010) tarafından farklı kaplama formülasyonlarına *Candida sake* biyokontrol ajanını ilave ettikleri film örneklerinde mayaların homojen dağıldığını ve daha parlak bir film yapısı oluşturduğunu belirtmişlerdir.

BÖLÜM 5. GENEL SONUÇLAR ve ÖNERİLER

W. saturnus antagonist mayasının eklenen kaplamalarda antagonist maya sayısında 84 gün boyunca önemli bir değişiklik olmamıştır. Su aktivitesinin depolama gününe bağlı olarak değişmemesi ve mayanın korunum süresinin uzun olması özelliği buna etkindir.

Bütün örneklerle kontamine edilmiş *A. flavus* küfünün sayısını, *W. saturnus* antagonist mayasının eklenen kaplamalarda % 82 ve % 91 oranında azaltması mayanın bu suşa da antagonist davrandığını göstermektedir. Küf sayısının azalmasına bağlı aflatoksin seviyelerinin de düşük olması buna bağlıdır.

Panelistler tarafından yapılan değerlendirmede çeşitli kaplama solüsyonları ile kaplanmış yerfıstıkları görünüş, doku ve lezzet açısından benzer puan almıştır. Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanmış yerfıstıkları örnekleri arasında lezzet açısından fark görülmemesi mayanın ürünü olumsuz etkilemediğini göstermektedir.

Bu çalışma *W. saturnus* antagonist mayasının farklı filmlere eklenerek küf ve mikotoksin problemi olan gıdalara uygulanabilirlik potansiyeli göstermiştir. *W. saturnus* mayası ekli filmler gıdalarda küf gelişimini ve buna bağlı aflatoksin gelişimini sınırlandırmasının yanısıra non-lipolitik ve non-proteolitik özellikte olmasından dolayı yer fıstıklarının fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirmemiştir. *A. flavus* gelişimine ve aflatoksin üretimine karşı yer fıstığı üzerinde minimum toksin düzeyine ulaşmak için kaplama pH'sı ve depolama sıcaklığı gibi farklı bağımsız parametrelerin etkisinin analiz edilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Aiko, V., Edamana, P., Mehta, A., 2016. Decomposition and detoxification of aflatoxin B₁ by lactic acid. J. Sci. Food Agric. (96) : 1959–1966.
- Akova, Y. 2000. Kuru ve Sert Kabuklu Meyveler Dış Pazar Araştırması. T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüt Merkezi, Ankara.
- Allen, L., Nelson, A. I., Steinberg, M. P., McGill, J. N. 1963. Edible corn carbohydrate food coatings. II. Evaluation of fresh meat products. Food Technology, 17(11): 104-108.
- Aloui, H., Licciardello ,F., Khwaldia, K., Hamdi, M, Restuccia, C. 2015. Physical properties and antifungal activity of bioactive films containing *Wickerhamomyces anomalus* killer yeast and their application for preservation of oranges and control of postharvest green mold caused by *Penicillium digitatum*. International Journal of Food Microbiology 200 (2015): 22–30.
- Aly, S.E., Hathout, A.S., 2011. Fate of aflatoxin B₁ in contaminated corn gluten during acid hydrolysis. J. Sci. Food Agric. 91, 421–427.
- Arioğlu , H. 2007. Yağ Bitkileri Yetiştirme ve Islahı. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Kitapları Yayın No: A-70, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi: 204, Adana.
- Arioğlu, H.H., Kolsarıcı, Ö., Göksu, A.T., Güllüoğlu, L., Arslan, M., Çalışkan, M., Söğüt T., Kurt ,C. ve Arslanoğlu, F. 2010. Yağ Bitkileri Üretiminin Artırılması Olanakları. Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-1, s. 361-376, Ankara.
- Arzandeh, Jinap S. 2011. Effect of initial aflatoxin concentration, heating time and roasting temperature on aflatoxin reduction in contaminated peanuts and process optimisation using response surface modelling. Int. J. Food Sci. Technol. 46, 485–491..
- Ayana, B., Turhan, K. N. 2010. Gıda ambalajlamasında antimikrobiyal madde içeren yenilebilir filmler/ kaplamalar ve uygulamaları. Gıda (2010) 35 (2): 151-158.
- Bahram, S., Rezaei, M., Soltani, M., Kamali, A., Ojagh, S. M., & Abdollahi, M. 2014. Whey protein concentrate edible film activated with cinnamon essential oil. Journal of Food Processing and Preservation, 38(3): 1251–1258.
- Baldwin, E. A. 1994. Edible Coatings for fresh fruits and vegetables: past, present and future, In: Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. Techomic Publishing Company Inc., Lancaster, 25-64.

- Baldwin, E.A., Nispero-Carriedo, M.O., Hagenmaier, R.D., Baker, R.A. 1997. Use of lipids in coatings for food products. *Food. Technol.* 51 (6), 56-64.
- Barreto, P.L.M., J. Roeder, J. S. Crespo, G. R. Maciel, H. Terenzi, A. T. N. Piresa and V. Soldia. 2003. Effect of concentration, temperature and plasticizer content on rheological properties of sodium caseinate and sodium caseinate/sorbitol solutions and glass transition of their films. *Food Chem.* 82: 425–431.
- Hassan, B., Chatha, A. S. S., Hussain, I. A., Mahmood, Zia K. M., Akhtar, N. M. 2018. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 109 (2018): 1095–1107.
- Bourtoom, T. 2008. Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15 (3): 237-248.
- Brunner, J.R., 1977. Milk Proteins. In: Witaker, J.R., Tannenbaum, S.R. (Eds.), *Food Proteins*. AVI Publishers, Westport, CT, 175-208.
- Bullerman, L.B., 1986. Mycotoxins and Food Safety: Food Techonology. A Scientific Status Summary by The Institute of Food Technologists' Expert Panel on Food Safety & Nutrition, 59-66.
- Cagri, A., Ustunol, Z., & Ryser, E. T. 2004. Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*, 67(4): 833-848.
- Caner, C., Küçük M. 2004. Yenilebilir Film ve Kaplamalar: Gıdalara Uygulanabilirliği. *Gıda Mühendisliği ve Gıda Sanayi Dergisi*, 2 (8): 30-35.
- Cheraghali, A. M., Yazdanpanah, H. 2010 . Interventions to control aflatoxin contamination in pistachio nuts: Iran experience. *Journal of Food Safety*, 382-397.
- Civelek ve Çağrı-Mehmetoğlu, 2019. *Williopsis saturnus* var. *saturnus* içeren yenilebilir kaplamanın kaşar peyniri yüzeyinde maya ve küf üremesine karşı antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- Craufurd, P.Q., Prasad, P.V.V., Waliyar, F., Taheri, A. 2006. Drought, pod yield, pre-harvest *Aspergillus* infection and aflatoxin contamination on peanut in Niger. *Field Crops Research* 98:20-29.
- Çağrı, A, Üstünol, Z, Ryser, ET. 2002. Inhibition of three pathogens on Bologna and summer sausage using antimicrobial edible films. *J Food Sci*, 67 (6): 2317-2324.
- Çağrı-Mehmetoğlu A. Yenilebilir Filmlerin ve Kaplamaların Özelliklerini Etkileyen Faktörler. 2010. *Akademik Gıda* 8(5): 37-43.
- Debeaufort, F., Martin-Polo, M., and Voilley, A. 1993. Polarity homogeneity and structure affect water vapor permeability of model edible films. *Journal of Food Science* 58: 426-434.
- Deshpande, S.S., 2002. *Handbook of Food Toxicology*. Marcel Dekker, Inc. NY.

- Dhanapal, A., Sasikala, P., Rajamani, L., Kavitha, V., Yazhini, G., Banu, M.S., 2012. Edible films from polysaccharides. *Food Science and Quality Management*, 3: 1-10.
- Di Stefano, V., Pitonzo, R., Avellone, G. 2014. Effect of gamma irradiation on aflatoxins and ochratoxin a reduction in almond samples. *J. Food Res.*, 3 (113).
- Donhowe, I. G. and Fennema, O. R. 1993. The effects of plasticizers on crystallinity, permeability, and mechanical properties of methylcellulose films. *Journal of Food Processing and Preservation*, 17: 247-257.
- Dorner, JW., Cole, RJ, Blankenship, PD. 1992. Use of a biocompetitive agent to control preharvest aflatoxin in drought stressed peanuts. *J Food Prot.* 55(11):888–892.
- Droby, S., Wisniewski, M., Macarisin, D., Wilson, C., 2009. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? *Postharvest Biol. Technol.* 52, 137–145.
- El-Desouky, T., Sharoba, A., El-Desouky, A., El-Mansy, H., Naguib, K. 2012. Effect of ozone gas on degradation of aflatoxin B₁ and *Aspergillus flavus* fungal. *J. Environ. Anal. Toxicol.* 2, 1–6.
- Oregel-Zamudioa E., Angoa-Pérez, M. V., Oyoque-Salcedo, G. , Aguilar-González, C. N., Mena-Violante, H. G. 2017. Effect of candelilla wax edible coatings combined with biocontrol bacteria on strawberry quality during the shelf-life. *Scientia Horticulturae* 214 (2017) :273–279.
- FAO 2017. Food Organization Agriculture. <http://www.fao.org/faostat/en/data/QC>. Erişim tarihi 12.11.2018.
- Farzaneh, M., Shi, Z.Q., Ghassempour, A., Sedaghat, N., Ahmadzadeh, M., Mirabolfathy, M., Javan-Nikkhah, M., 2012. Aflatoxin B₁ degradation by *Bacillus subtilis* UTBSP1 isolated from pistachio nuts of Iran. *Food Contr.* 23, 100–106.
- Fleet, G.H., 2003. Yeasts in fruit and fruit products. In: Boekhout, T., Robert, V. (Eds.), *Yeasts in Food*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 267–287.
- Garcia, M.A., Ferrero, C., Be'rtola N., Martino, M., Zaritzky, N. 2002. Edible coatings from cellulose derivatives to reduce oil uptake in fried products. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 3, 391_397.
- Gennadios ,A., McHugh, T.H., Weller, C.L., Krochta, J.M. 1994. Edible coatings and films based on proteins. In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Krochta JM, Baldwin EA, Nisperos-Carriedo MO (eds.), Technomic Publishing Company, USA, 201-277.
- Gennadios, A., Weller, C.L., 1990. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food. Technol.* 44 (10): 63-69.
- Ghanem, I., Orfi, M., Shamma, M. 2008. Effect of gamma radiation on the inactivation of aflatoxin B₁ in food and feed crops. *Braz. J. Microbiol.* 39, 787–791.

- Ghosh, M.K. , Chhabra, A. , Atreja, P.P. , Chopra, R.C. 1996. Effect of treating with propionic acid, sodium bisulfite and sodium hydroxide on the biosynthesis of aflatoxin on groundnut cake. *Animal Feed Science and Technology* 60, 43-49.
- Günkaya, Z. , Demirel, R. ,Banar, M. 2016. Portakal kabuğu atıklarından üretilen biyokompozit ambalaj filminin aflatoksinlere karşı etkisinin incelenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilim Dergisi* ,513-519.
- Gürhayta, F.O. ,Çağındı, Ö.,2015. Kurutulmuş Meyvelerde Aflatoksin ve Okratoksin A Varlığının ve Sağlık Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi. *CBÜ Fen Bil. Dergi. Cilt 12, Sayı 2*, 327-338.
- Hassan ,B. , Chatha, S. A. S. , Hussain, A. I., Zia, K. M, Akhtar, N. 2018.Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109 (2018): 1095–1107.
- Han J.H. and Gennadios A. 2005. Edible films and coatings: A review. In: J.H. Han (ed.). *Innovations in Food Packaging*. Elsevier Academic Press, Amsterdam, 239–262.
- Haskard, C.A., El-nezami, H.S., Kankaanpaa, P.E., Salminen, S., Ahokas, J.T. 2001. Surface binding of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria surface binding of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 3086–3091.
- Herzallah, S., Alshawabkeh, K., Al Fataftah, A. 2008. Aflatoxin decontamination of artificially contaminated feeds by sunlight, γ -radiation, and microwave heating. *J. Appl. Poult. Res.* 17, 515–521.
- Horn, B.W and. Greene, R.L. 1995. Vegetative Compability within population of *Aspergillus flavus*, *A. Parasiticus* and *A. Tamarii* from peanut field.*Mycologia*.85:324-322.
- Horn, B.W and. Greene, R.L and Dorner, J.W. 1995. Effect of corn and peanut cultivation on soil populations of *Aspergillus flavus* and *A. Parasiticus* Southwestern Georgia. *Applied Enviromental Microbiology* 51,915-918
- Hwang, J.H., Lee, K.G. 2006. Reduction of aflatoxin B₁ contamination in wheat by various cooking treatments. *Food Chem.* 98, 71–75.
- Siciliano, I. , Spadaro, D., Prella, A., Vallauri, D. , Cavallero, M. C. , Garibaldi, A. and Lodovica-Gullino, M. 2016. Use of Cold Atmospheric Plasma to Detoxify Hazelnuts from Aflatoxins. *Toxins* 8, 125.
- Iram, W., Anjum, T., Iqbal, M., Ghaffar, A., Abbas, M., Khan, A.M., 2016. Structural analysis and biological toxicity of aflatoxins B₁ and B₂ degradation products following detoxification by *Ocimum basilicum* and *Cassia fistula* aqueous extracts. *Front. Microbiol.* 7, 1–18.
- İsler, N., Arıoğlu, H.H., Boydak, E., 1996. Şanlıurfa Koşullarında Ana Ürün Olarak Yetiştirilecek Bazı Virginia ve Spanish Tipi Yerfıstığı Çeşitleri Üzerinde Bir Araştırma. *Ç.Ü.Z.F. Dergisi*, 11 (2) : 1-12.
- İmamoğlu, Ö. Biyokontrolde doğal ürünlerin kullanılması; Kitosan. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 2011. 68(4): 215-222.

- Han, J. H. , Hwang , H. M. , Min, S. , Krochta, J.M. 2008. Coating of Peanuts with Edible Whey Protein Film Containing α - Tocopherol and Ascorbyl Palmitate, Journal of food Science, 73, 8.
- Janisiewicz, W. J., & Korsten, L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. Annual Reviews of Phytopathology, 40, 411-441.
- Javanmard, M. 2007. Effect Of Whey Protein Edible Film Packaging On The Quality And Moisture Uptake Of Dried Peanuts. Journal of Food Process Engineering, 31 (2008): 503–516.
- Kabak, B. ,Var, I. 2006. Ülkemiz Açısından Sorun Olan Mikotoksinler ve Riskli Gıda Maddeleri, In Türkiye 9. Gıda Kongresi; Bolu, 681–684.
- Kadiroğlu, A. 2008. Yerfıstığı Yetiştiriciliği. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Antalya.
<http://www.batem.gov.tr/yayinlar/kitapciklar/tarla/fistik/yerfistigi.pdf>
- Karabulut ve Çağrı-Mehmetoğlu, 2018. Antifungal, Mechanical, and Physical Properties of Edible Film Containing *Williopsis saturnus* var. *saturnus* Antagonistic Yeast - Journal of Food Science pp.763-769.
- Karakaya, M., Caner, C., Sarıçoban, C. 2001. Ambalaj Materyali olarak Yenilebilir Filmler ve Kaplamalar, Standart , 71-78.
- Komiyama, T., Shirai, T., Ohta, T., Urakami, H., Furuichi, Y., Ohta, Y., Tsukada, Y. 1995. Structure and activity of HYI killer toxin from *Hansenula saturnus*. Biol Pharm Bull. 18 (8): 1057-1059.
- Komiyama, T., Shirai, T., Ohta, T., Urakami, H., Furuichi, Y., Ohta, Y., Tsukada, Y., 1998. Action properties of HYI killer toxin from *Williopsis saturnus* var. *saturnus* and antibiotics, aculeacin A and papulacandin B. Biol Pharm Bull. 21 (10):1013-9.
- Krochta, J.M., Gennadios, E. 2002. A Protein-based Films and Coatings, CRC Press, New York, 2002, pp. 1–41.
- Krochta, J.M., 1997. Edible protein films and coatings. In: Damodaran, S., Paraf, A. (Eds.), Food Proteins and Their Applications. Marcel Dekker, New York, pp. 529-549.
- Krochta, J.M., 2002. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: Gennadios, A. (Ed.), Protein-Based Films and Coatings. CRC Press, Boca Raton, FL, 141.
- Krochta, J.M., de Mulder-Johnston, C., 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. Food Technol. 51, 6074.
- Kurak, M. , Galus, S., Debeaufort, F. 2014. Surface, mechanical and barrier properties of bio-based composite films based on chitosan and whey protein. Food Packaging Shelf Life. 2014;1:56–67.

- Lavkor, I. ,Biçici, M. 2015. Osmaniye’de Yetiştirilen Yerfıstıklarında Hasat, Hasat Sonrası, Kurutma ve Depo Öncesi Dönemlerinde Aflatoksin Oluşumu, Tarım Bilimleri Dergisi – Journal of Agricultural Sciences, 394-405.
- Lee, J., Her, J.Y., Lee, K.G. 2015. Reduction of aflatoxins (B₁, B₂, G₁, and G₂) in soybean- based model systems. Food Chem. 189, 45–51.
- Liu, S. Q. , Tsao, M. 2009. Inhibition of spoilage yeasts in cheese by killer yeast *Williopsis saturnus* var. *saturnus*. International Journal of Food Microbiology ,131 ,280–282.
- Liu, J., Song, W. -j, Zhang, N.-Y., Tan, J., Krumm, C.S., Sun, L.-H., Qi, D.-S. 2017. Biodegradation of aflatoxin B₁ in cottonseed meal by fermentation of *Cellulosimicrobium funkei* in duckling diet. Poult. Sci. 96, 923–930.
- Lu, J. , Wang, X, Xiao, C. 2008. Preparation and characterization of konjac glucomannan/poly (diallyldimethylammonium chloride) antibacterial blend films. *Carbohydr Polym*, 73: 427-437.
- Magliani, W. , Conti, S. , Gerloni, M. , Bertolotti, D. , Polonelli, L. 1997. Yeast killer systems. Clinical and Microbiological Review 10, 369–400
- Mari, M. , Neri, F. , Bertolini, P. 2007. Novel approaches to prevent and control postharvest diseases of fruit. Steward Postharvest Review, 36(6): Article 4. Steward Postharvest Solutions Ltd., London, UK.
- María, B. Vásconez , Silvia K. Flores , Carmen A. Campos , Juan Alvarado , Lía N. Gerschenson .2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films and coatings. Food Research International 42 (2009) 762–769.
- María R Moreira , Barbara Tomadoni , Olga Martín-Belloso , Robert Soliva-Fortuny. 2015. Preservation of fresh-cut apple quality attributes by pulsed light in combination with gellan gum-based prebiotic edible coatings. LWT - Food Science and Technology 64 , 1130-1137.
- Marín, A., Cháfer, M., Atarés, L., Chiralt, A., Torres, R., Usall, J., Teixidó, N. 2016. Effect of different coating-forming agents on the efficacy of the biocontrol agent *Candida sake CPA-1* for control of *Botrytis cinerea* on grapes. Biological Control, 96, 108-119.
- McCormick, KE, Han, IY, Acton, JC, Sheldon BW, Dawson PL. 2005. In-package pasteurization combined with biocideimpregnated films to inhibit *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in turkey Bologna. J Food Sci, 70 (1): 52-57.
- Massart, S., Martinez-Medina, M., & Jijakli, M. H. 2015. Biological control in the microbiome era: challenges and opportunities. Biological Control, 89(98): 108.
- Michalcakova, S. , Sulo, P., Slavikova, E. 1993. Killer yeasts of *Kluyveromyces* and *Hansenula* genera with potential application in fermentation and therapy. Acta Biotechnology 13, 341–350.

- Miller, K. S., Chiang, M. T., Krochta, J. M. 1997. Heat curing of whey protein films. *J. Food Sci* 62:1189- 1193.
- Min, S. , Krochta, J. M. 2005. Inhibition of *Penicillium commune* by edible whey protein films incorporating lactoferrin, lactoferrin hydrolysate and lactoperoxidase system. *J. Food Sci.* 70:87–94.
- Mohamed, N.F., El-dine, R.S.S. , Aly, M., Kotb, M., Saber, A. 2015. Assessing the possible effect of gamma irradiation on the reduction of aflatoxin B₁, and on the moisture content in some cereal grains. *Am. J. Biomed. Sci.* 7, 33–39.
- Moreira, MD. , Ponce, A. , Valle, CD. , Roura SI. 2009. Edible coatings on fresh squash slices effect of film drying temperature on the nutritional and microbiological quality. *J Food Process Pres*, 33: 226–236.
- Nomoto, H., Kitano, K., Shimazaki, T., Kodama, K., Hara, S. 1984. Distribution of killer yeasts in the genera *Hansenula*. *Agricultural and Biological Chemistry* 48, 807–809.
- Oberegger, H. , Schoeser, M. , Zadra, I. , Abt, B. , & Haas, H. 2001. SREA is involved in regulation of siderophore biosynthesis, utilization and uptake in *Aspergillus nidulans*. *Molecular Microbiology*, 41, 1077-1089.
- Ohta, Y., Tsukada, Y., Sugimori, T. 1984. Production, purification and characterization of HYI, an anti-yeast substance, produced by *Hansenula saturnus*. *Agricultural and biological chemistry*, 48(4): 903-908.
- Oluwafemi, F., Kumar, M., Bandyopadhyay, R., Ogunbanwo, T., Ayanwande, K.B., 2010. Bio-detoxification of aflatoxin B₁ in artificially contaminated maize grains using lactic acid bacteria. *Toxin Rev.* 29, 115–122.
- Park, J.W., Kim, Y.B., 2006. Effect of pressure cooking on aflatoxin B₁ in rice. *J. Agric. Food Chem.* 54, 2431–2435.
- Park, J.W., Lee, C., Kim, Y.B., 2005. Fate of aflatoxin B₁ during the cooking of Korean polished rice. *J. Food Protect.* 68, 1431–1434.
- Pavlat, A.E., Orts, W. 2009. Edible Films and Coatings: Why, What, and How? In *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Edited by Milda E. Embuscado, Kerry C. Huber, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 403p.
- Pohland, A.E. 1993. Mycotoxins in Review. *Food Additives and Contaminants.* 10(1): 17-28.
- Polat, H. 2007. İşlenmiş Et Ürünlerinde Yenilebilir Filmlerin ve Kaplamaların Uygulamaları. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi,
- Proctor, A.D. , Ahmedna, M. , Kumar, J.V. , Goktepe, I. 2004. Degradation of aflatoxins in peanut kernels/flour by gaseous ozonation and mild heat treatment. *Food Addit. Contam.* 21, 786–793.

- Quattara, B. , Simard, RE. , Piette, G. , Begin, A. , Holley, RA. 2000. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *Int J Food Microbio.* 62, 139-148.
- Rastegar, H., Shoeibi, S., Yazdanpanah, H., Amirahmadi, M., Khaneghah, A.M., Campagnollo, F.B., S. Sant'Ana, A., 2017. Removal of aflatoxin B₁ by roasting with lemon juice and/or citric acid in contaminated pistachio nuts. *Food Contr.* 71, 279–284.
- Raters, M., Matissek, R., 2008. Thermal stability of aflatoxin B₁ and ochratoxin A. *Mycotoxin Res.* 24, 130–134.
- Rouphae Y. , .Kyriacou M.C. 2018. Quality and safety of fresh fruits and vegetables at harvest. *Scientia Horticulturae.* 239 78-79.
- Rushing, B.R. , Selim, M.I. 2019. Aflatoxin B₁: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. *Food and Chemical Toxicology.* 124 ,81-100.
- S. Marin, A.J. Ramos, G. Cano-Sancho, V. Sanchis. 2013. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology* 60 :218–237.
- Samira Kharchoufi , Lucia Parafati , Fabio Licciardello , Giuseppe Muratore , Mokthar Hamdi , Gabriella Cirvilleri , Cristina Restuccia (2018) Edible coatings incorporating pomegranate peel extract and biocontrol yeast to reduce *Penicillium digitatum* postharvest decay of oranges. / *Food Microbiology* 74 (2018) 107-112.
- Sarıkuş G. 2006. Farklı antimikrobiyel maddeler içeren yenilebilir film üretimi ve kaşar peynirinin muhafazasında mikrobiyel inaktivasyona etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, 69 s.
- Schatzki T.F.(1995) Distribution of Aflatoxin in pistachios. *Journal Agriculture Food Chemistry* 43:1561-1569.
- Shao-Quan Liu , Marlene Tsao.2009. Inhibition of spoilage yeasts in cheese by killer yeast *Williopsis saturnus* var. *Saturnus*. *International Journal of Food Microbiology* 131 (2009) 280–282.
- Sharma, N., Verma, U., & Awasthi, P. (2006). A combination of the yeast *Candida utilis* and chitosan controls fruit rot in tomato caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler and *Geotrichum candidum* Link ex Pers. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81, 1043–1051.
- Singleton, J. A., & Pattee, H. E. 1991. Peanut moisture/size, relation to freeze damage and effect of drying temperature on volatiles. *Journal of Food Science*, 56(2), 579-581.
- Soliman, K.M., 2002. Incidence, level, and behavior of aflatoxins during coffee bean roasting and decaffeination. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7477–7481.

- Spadaro, D., Ciavarella, A., Zhang, D., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2010). Effect of culture media and pH on the biomass production and biocontrol efficacy of a *Metschnikowia pulcherrima* strain to be used as a biofungicide for postharvest disease control. *Canadian Journal of Microbiology*, 56, 128-137.
- Spadaro, D., Gullino, M.L., 2004. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology* 91, 185–194.
- Spadaro, D., Gullino, M.L., 2004. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *Int. J. Food Microbiol.* 91, 185–194.
- Şahin, G. 2014. Türkiye’de Yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.) Yetiştiriciliği ve Bir Coğrafi İşaret Olarak Osmaniye Yerfıstığı. *Gaziantep University Journal of Social Sciences* s.620-621.
- Theivendran S, Hettiarachchy NS, Johnson MG. 2006. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin combined with grape seed extract or green tea extract in soy protein film coated on turkey frankfurters. *J Food Sci*, 71 (2): 39-44.
- Torlak E., Nizamoğlu M. 2009. Doğal antimikrobiyal maddeler ile hazırlanan yenilebilir filmlerin *Listeria monocytogenes* üzerine etkileri. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 25 (1-2): 15-217. Yılmaz, L., Bayazit Akpınar A., Özcan Yılsay T. 2007. Süt proteinlerinin yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılması. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1: 59-64.
- Tronsmo, A., Dennis, C. 1977. The use of *Trichoderma* species to control strawberry fruit rots. *Neth. J. Plant Pathol.* 83, 449–455.
- Tunail, N. 2000. Mikotoksinler: Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2.baskı, (Yazarlar : Akçelik, M., Ayhan, K., Çakır, İ., Doğan, H.B., Gürgün, V., Halkman, A.K., Kaleli, D., Kuleaşan, H., Özkaya, B.F., Tunail, N., Tükel, Ç.), Sim Matbaacılık, Ankara. 116-189.
- TÜİK 2017. Türkiye İstatistik Kurumu Kayıtları. (<http://www.tuik.gov.tr>) Erişim tarihi: 02.11.2018).
- Ulusal Gıda Kompozisyon Veritabanı Yerfıstığı <http://www.turkomp.gov.tr/food-161>. Erişim tarihi 20.10.2018.
- Üstünol, Z. 2009. Edible Films and Coatings for Meat and Poultry. In *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Edited by Milda E. Embuscado, Kerry C. Huber, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 403p.
- Velazhahan, R., Vijayanandraj, S., Vijayasamundeeswari, A., Paranidharan, V., Samiyappan, R., Iwamoto, T., Friebe, B., Muthukrishnan, S., 2010. Detoxification of aflatoxins by seed extracts of the medicinal plant, *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex Turrill - structural analysis and biological toxicity of degradation product of aflatoxin G1. *Food Contr.* 21, 719–725.

- Vijayanandraj, S., Brinda, R., Kannan, K., Adhithya, R., Vinothini, S., Senthil, K., Chinta, R.R., Paranidharan, V., Velazhahan, R., 2014. Detoxification of aflatoxin B₁ by an aqueous extract from leaves of *Adhatoda vasica* Nees. *Microbiol. Res.* 169, 294–300.
- Vondrejs, V., Palkova, Z., 1997. Chemical warfare among the yeast: the killer phenomenon, genetics and applications. In: *Yeasts in Natural and Artificial Habitats*, ed: John F. T. Spencer, Dorothy M. Spencer, Springer, Argentina, 153-171.
- Wang, S., Liu, H., Lin, J., Cao, Y., 2010. Can ozone fumigation effectively reduce aflatoxin B₁ and other mycotoxins contamination on stored grain?, 10th International Working Conference on Stored Product Protection, 582-588.
- Wilson, B.J. 1978. Hazards of Mycotoxins to Public Health, *Journal of Food Protection*, 41(5): 375-384.
- Wisniewski, M., Wilson, C. 1992. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: recent advances. *HortScience* 27, 94–98.
- Yazdanpanah, H., Mohammadi, T., Abouhossain, G., Cheraghali, A.M. 2005. Effect of roasting on degradation of Aflatoxins in contaminated pistachio nuts. *Food Chem. Toxicol.* 43, 1135–1139.
- Yentür, G, Er, B. 2012. Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 69(1): 41-52.
- Yılmaz, H. Ö., Ülger T. G. 2016. Gıda ışınlamanın besinlere etkisi, *Ankara Sağlık Bilimleri Dergisi*, (1-2-3): 1-16.
- Yinzhe, R., & Shaoying, Z. 2013. Effect of carboxymethyl cellulose and alginate coating combined with brewer yeast on postharvest grape preservation. *ISRN Agronomy*.
- Zheng, H., Wei, S., Xu, Y., Fan, M. 2015. Reduction of aflatoxin B₁ in peanut meal by extrusion cooking. *LWT - Food Sci. Technol* 64, 515–519.
- Zinedine, A., Mañes, J. 2009. Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. *Food Control*, 20, 334–344.

ÖZGEÇMİŞ

Tuğçe ULUTAŞDEMİR, 15.11.1990 tarihinde Kars'ta doğdu. İlköğretim ve liseyi Kars'ta tamamladı. 2008 yılında Kars Hüsnü Mehmet Özyeğin Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 2010 yılında Manisa Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitimine başladı ve 2015 yılında lisans eğitimini tamamladı. 2016 yılında Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2016-2018 yılları arasında B.B. Tekstil Gıda İç ve Dış Ticaret A.Ş.'de (Bağdatlılar Çerez) üretim ve Ar-Ge mühendisi olarak görev aldı. Şu anda herhangi bir firmada çalışmamaktadır.