

Taze alabalık filetolarının gümüş antimikrobiyal yenilebilir film kaplanarak bozulmaya neden olan bakterilerin tanımlanması

Identification of spoilage microorganisms in fresh trout fillets coated with silver antimicrobial edible film

Berna Kılınç* • Göknur Sürengil

Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 35100, Bornova-İzmir
*Corresponding Author: berna.kilinc@ege.edu.tr

How to cite this paper:

Kılınç, B., Sürengil, G., 2015. Identification of spoilage microorganisms in fresh trout fillets coated with silver antimicrobial edible film. *Ege J Fish Aqua Sci* 32(4): 183-192. doi: 10.12714/egejfas.2015.32.4.02

Abstract: In this study fresh trout fillets were coated with colloidal silver antimicrobial edible films and identification of spoilage microorganisms were determined. 0.5 g of colloidal silver was put into 100 ml of edible film coatings. Then this mixture were mixed for 15 min. Fresh trout fillets were dipped into this edible film coating for 1 min for both sides. After 1 minute later trout fillets were put into strafe plates and wrapped with stretched film. The microbiological (mesophilic aerobic bacteria count, psychrotrophic bacteria count, Enterobacteriaceae count, *Staphylococcus spp.* count, yeast and mould count, lactic acid bacteria count, sensorial (in raw and cooked samples) and pH analyses were done during storage period for groups (control and fresh trout fillets coated with colloidal silver antimicrobial edible film.). According to the results of API test kits; the spoilage microorganisms of trout fillets coated with/without colloidal silver antimicrobial edible film. The identification of dominant bacteria were 99,9 % *Pseudomonas fluorescens*, 76 % *Alcaligenes spp.*, 76 % *Moraxella spp.*, 99,9 % *Lactobacillus salivarius*, 99,6 % *Lactobacillus brevis* and 81,8 % *Lactococcus lactis spp.*

Keywords: Colloidal silver containing antimicrobial edible film, antimicrobial activity, shelflife, trout fillets, bacterial identification

Özet: Çalışmada taze alabalık filetoları koloidal gümüş içerikli antimikrobiyal film ile kaplanarak depolama esnasında bozulmaya neden olan bakteriler tanımlanmıştır. Antimikrobiyal yenilebilir film üretiminde; biyopolimer malzemesi ksantan gam, plastikleştirici olarak gliserol, antimikrobiyal madde olarak ise gümüş kullanılmıştır. Alabalık filetoları (kontrol grup) ve gümüş içerikli yenilebilir filmle kaplanmış grup olarak çalışılmıştır; koloidal gümüş içeriği 0.5 gr / 100 ml film çözeltisi [% 0,5 (w / v)] olacak şekilde ilave edilmiş, 15 dakika boyunca karıştırılarak antimikrobiyal içerikli ksantan gam yenilebilir film elde edilmiştir. Filetoları daldırma öncesinde solüsyonu 15 dakika oda sıcaklığında bekletilerek soğutmaya bırakılmıştır. Alabalık filetoları kaplama işlemi sırasında 30 saniye balığın bir yüzeyi 30 saniye diğer bir yüzeyini bekletmek koşuluyla toplamda 1 dakika boyunca hidrokolloit kaplama çözeltisi içine daldırılmıştır. Yenilebilir film kaplama ardından filetolar 1 dk bekletilerek filmin kuruması ve süzdürülmesi sağlanmıştır. Yenilebilir film kaplanmış alabalık filetoları strofar tabaklara konularak streç filmle kaplanarak paketlenmiştir. Yenilebilir film uygulanmış alabalık filetolarındaki değişimler mikrobiyolojik (mezofilik aerobik bakteri sayısı, psikrotrof bakteri sayısı, Enterobacteriaceae sayısı, *Staphylococcus spp.* sayısı, küf-maya sayısı, laktik asit bakteri sayısı), duyuşsal (çiğ ve pişmiş alabalık filetoları kabuledilebilirlik testleri), pH analizleri ve bakteri tanımlamaları yapılmıştır. API test kitiyle yapılan mikroorganizma tanımlama sonuçlarına göre alabalık filetolarında depolama esnasında bozulmaya neden olan baskın bakteriler % 99,9 *Pseudomonas fluorescens*, %76 *Alcaligenes spp.*, %76 *Moraxella spp.*, %99,9 *Lactobacillus salivarius*, %99,6 *Lactobacillus brevis* ve %81,8 *Lactococcus lactis spp.* oranlarında tanımlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Koloidal gümüş içerikli yenilebilir film, alabalık fileto, raf ömrü, bakteri tanımlama

GİRİŞ

Uzun yıllardır gıdaların korunmasında ısıtma veya soğutma gibi sıcaklık uygulamaları, su aktivitesinin düşürülmesi, pH kontrolü, küreleme, tuzlama gibi işleme yöntemleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte raf ömrünü uzatmak ve daha kaliteli ürün elde etmek için ambalajlama, kontrollü atmosferde depolama ve antimikrobiyal madde ilavesi gibi çeşitli metotlar da kullanılmaktadır (Gennadios vd., 1994). Son yıllarda nanoteknoloji ile daha başarılı, daha ucuz, daha besleyici gıda dizayn etmek için gıdaların atomlarının ve moleküllerinin

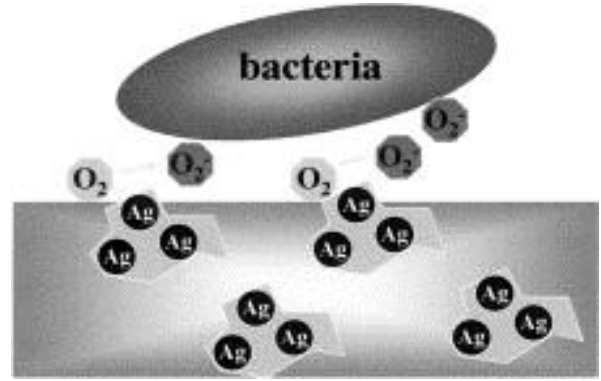
düzenlenmesinde veya gıda paketeleme ve film uygulamalarında kullanılmaktadır. Böylece gıdaların dayanıklılıklarının artırılması ve raf ömürlerinin uzatılması sağlanmaktadır (Gogotsi vd., 2001). Ayrıca tüketicilerin yüksek kalite ve uzun raf ömrü olan gıdalara olan taleplerindeki artış ve çevredeki geri dönüşümlü ambalajlara olan ihtiyaç yenilebilir film kullanımına ve araştırmalarına olan ilgiyi arttırmıştır (Krochta ve DeMulder Johnston, 1997). Bu amaçla antimikrobiyal madde içeren ambalajların üretilmesi ve bu

materyallerin gıda yüzeyine teması ile bozulmanın başladığı noktada mikroorganizma gelişimini önlemektedir. Yapılan çalışmalarda gıda yüzeyine kaplanan filme antimikrobiyal madde eklenmesinin alternatif ve ekonomik bir muhafaza yöntemi olduğu belirtilmektedir (Vermeiren vd., 1999; Appendini ve Hotckiss, 2002; Quintavalla ve Vicini 2002).

Son yıllarda patojenik bakterilerin antimikrobiyal ajanlara karşı gösterdiği direnç önemli bir sağlık problemidir. Bazı antimikrobiyal ajanlar, aşırı toksik ve tahriş edicidir, bu yüzden yeni tip güvenilir ve uygun maliyetli antimikrobiyal malzemelerin geliştirilmesi konusunda yoğun ilgi bulunmaktadır. Bu nedenlerden dolayı gümüş nanopartiküllerin inhibe edici ve bakterisidal etkileri olduğu bilinmekte olup bu malzemelerin kullanımları üzerine yoğunlaşmıştır (Shahverdi vd., 2007). Kullanılacak bu antimikrobiyal sistemlerin aktif komponentleri hem organik hem de inorganik olabilir. Özellikle inorganik sistemler gümüş, bakır ve platin gibi metaller içerir. Antimikrobiyal olarak gümüş iyonları aletler, inşaat ürünleri, medikal cihazlar, su filtrasyonu, dağıtım sistemi, gıda işleme ve ambalajlama gibi oldukça geniş alanlarda kullanılmaktadır. Gümüş zeolit, plastıklara katılan en yaygın antimikrobiyal ajandır. Metabolik enzimlerin büyük miktarını inhibe eden gümüş iyonları güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Dursun vd., 2010). Kolloidal gümüş fungus, bakteri, virüs ve diğer tek hücreli patojenlere uygulandığında onların oksijen metabolizmalarını bozarak kısa sürede ölmelerine sebep olur. İmmun, limpatik ve eliminasyon sistemleriyle vücut dışına atılmasını sağlarlar. Antibiyotikler yararlı enzimlerin zarar görmesine sebep olurken, kolloidal gümüş doku-hücre enzimlerini zarara uğratmaz. Bu yüzden gümüş insan, reptiller, bitkiler ve tüm çok hücreli canlılar için güvenlidir (Dean vd., 2001). İnert doğası ve güçlü antimikrobiyal etkisi ile gümüşün kullanımı, gıda işleme ve medikal alanında cazip bir malzeme haline getirmiştir. Toksik, yanıcı veya koroziv olmayıp ve bakterilerin direnç oluşturamayacağı materyal olması kullanımı için büyük avantajlar sağlamaktadır. Gümüşün tıbbi plastiklerde ve gıda işlemede antimikrobiyal kullanımının iki ana nedeni vardır. Bunlardan biri, bakterilerin veya fungusların nesnenin fiziksel özellikleri üzerindeki bozucu etkilerini durdurmak, diğeri ise insanlara enfeksiyon kaynağı olabilecek zararlı bakterilerin gelişimini önlemektir (Simpson,2003).

Gümüş iyonlarının antimikrobiyal aktivitesi ilk olarak 19. yüzyılda tespit edilmiştir ve kolloidal gümüşün ise 1920'lerde yara tedavisinde etkili olduğu ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından kabul edilmiştir. Ancak, 1940'lı yıllarda penisilinin keşfedilmesinden sonra antibiyotikler bakteriyel enfeksiyonlarda standart tedavi olarak kullanılmaya başlanmış ve gümüş kullanımı azalmıştır (Chopra, 2007). Kolloidal gümüş, çözelti içinde süspansiyon haline getirilmiş gümüş nanopartiküllerinden oluşmaktadır. Gümüş parçacıkları eşit şekilde su içinde dağılırken yerçekiminden etkilenmeden homojen olarak dağılım gösterirler (Brandt, vd., 2005). Nano-gümüş, gümüş zeolit ve nanoboyuttaki tabakalı silikatları

biyopolimerlerde kullanarak gıda ambalajlama uygulamaları için; biyobozunur, antimikrobiyal, biyonanokompozit özelliklerde filmler geliştirmek mümkündür (Rhim vd., 2006). Paketleme malzemelerine gümüş, titanyum oksit gibi çeşitli nanoparçacıkların eklenmesiyle; malzemenin geçirgenlik özelliğinin modifiye edilmesi, ambalajın gıda ile temas eden yüzeyine oksijen absorblayan özellik kazandırılarak anaerobik ortam yaratılması ve böylelikle antimikrobiyal ve antifungal yüzeyler oluşturulmaktadır. Böylece paketleme malzemelerinin oksijen ve karbondioksit geçirgenliklerinin sınırlandırılarak, kötü kokuların bloke edilip ürünün tazeliğinin korunması ve raf ömrünün artırılması sağlanmaktadır (Sürengil ve Kılınç, 2011). Polimer içine modifiye edilen bu antimikrobiyal nanoparçacıklardan biri olan gümüş, antimikrobiyal etkisinin gümüş iyonunun salınımından kaynaklanmadığı, gümüşün katalitik etkisi ile meydana gelen oksijen aktivasyonu sonucu gerçekleştiği bilinmektedir (Imazato, 2003) (Şekil 1).



Şekil 1. Antibakteriyel etki oluşturmak amacıyla kompozitlerdeki gümüşün katalitik aktivitesi (Imazato, 2003)

Figure 1. Catalytic activity of silver in the composites to create antibacterial impact (Imazato, 2003)

Gelecekte kullanılacak olan ambalajlarda organik ve inorganik maddelerin nanoboyutta manipulasyonu ile elde edilen nanokompozitlerin gıda ürünlerinin paketlenmesinde yer almaları, geleneksel kompozitlerin kullanımına önemli bir alternatiftir. Polimer nanokompozitler, sundukları saydamlık, düşük yoğunluk, gelişmiş yüzey özellikleri ve geri dönüştürülebilirlik gibi olanaklarla yeni kuşak, çok fonksiyonlu, akıllı paketleme malzemelerini oluşturacak niteliktedirler (Sorrentino vd., 2007). Yenilebilir film ve kaplamalar, gıdaların satın alınması ve tüketimi sırasında olumsuz etki yaratması için kokusuz, tatsız, renksiz, saydam, berrak olmalı, gıda maddesi ile uyum gösteren biyopolimer malzemeler ve uygun antimikrobiyal ajanlar tercih edilmelidir (Arvidson vd., 2006). Böylece antimikrobiyal madde ilave edilen yenilebilir filmler ile gıdaların yüzeyine kaplanmasıyla alternatif ve ekonomik bir muhafaza yöntemi olarak kullanılabilir (Quintavalla ve Vicini 2002). Taze veya donmuş etlerin depolanması

sirasındaki meydana gelen nem kaybından kaynaklı tekstür, flavor ve renk değişimleri iyi bir nem bariyer özelliğinde yenilebilir kaplamalar ile nem kaybı önlenerek ürün miktarında oluşacak azalmalar ve oluşabilecek ekonomik kayıplar engellenmektedir (Gennadios vd. 1997). Bunun yanında son yıllarda gerek atık maddelerin gerek doğada çözünmeyen maddelerin doğada yarattıkları tahribattan dolayı; çevre dostu, geri dönüşümlü ve atıkların değerlendirildiği malzemelerin önemi gün geçtikçe artmaktadır. Bu amaç doğrultusunda yapılan bu çalışmada nanopartikül gümüş içerikli antimikrobiyal malzeme ile biyoçözünür/yenilebilir bir ambalaj film geliştirilmesi ve bu ambalajların alabalık filetolarına uygulanarak raf ömrü tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada mikrobiyal gamlar üretim alanlarının ve temin imkânlarının sınırlı olmaması, teminlerinde mevsimsel değişikliklerin olmaması ve fizikokimyasal özelliklerinin daha dengeli olması gibi avantajlarından dolayı biyopolimer kaplama malzemesi olarak ksantan gam seçilerek kullanılmıştır. Ksantan gamların suda çözenebilme, hidrofilite ve jelleşme özelliğinden yola çıkarak plastikleştirici ajan olarak en uygun gliserolün olacağı düşünülmüştür.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada Bağcı Alabalık A.Ş. (İzmir) tarafından alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) filetoları hasat edildikten sonra fileto haline getirilip buzlanarak aynı gün içinde soğutmalı araçlar ile Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknoloji Laboratuvarına teslim alınmıştır. Taze alabalık filetoları 3 ay boyunca -18 C'de muhafaza edilmiştir. Film solüsyonu; 0.5 (w/v) ksantan gam polisakariti ile 100 ml distile suda 25±2°C sıcaklığında 1 saat boyunca ısıtmalı manyetik karıştırıcısıyla (Hotplate stirrer, Wissesstir MSH-20A, Kore) homojenize edilmiştir. Solüsyona % 30 (w / w) gliserol (KRK Gıda, NO. 422, C3H8O3) ilave edilerek 30 dakika boyunca karıştırılmaya devam edilmiştir (Martins vd., 2012). Kolloidal gümüş içeriği için 0.5 gr / 100 ml film çözeltisi [% 0,5 (w / v)] olacak şekilde ilave edilmiş, 15 dakika boyunca karıştırılarak antimikrobiyal içerikli ksantan gam yenilebilir film elde edilmiştir. Filetoları daldırma öncesinde solüsyonu 15 dakika oda sıcaklığında bekletilerek soğutmaya bırakılmıştır. Alabalık filetoları kaplama işlemi sırasında 30 saniye balığın bir yüzeyi 30 saniye diğer bir yüzeyini bekletmek koşuluyla toplamda 1 dakika boyunca hidrokolloid kaplama çözeltisi içine daldırılmıştır. Yenilebilir film kaplama ardından filetolar 1 dk bekletilerek filmin kuruması ve süzdürülmesi sağlanmıştır (Sothornvit vd., 2011). Yenilebilir film kaplanmış alabalık filetoları strafor tabaklara konularak streç filmle kaplanarak paketlenmiştir. Her gruptan 20'şer adet olmak üzere toplam 40 adet paket fileto balık hazırlanmıştır. Elde edilen paketçikler daha sonra 4±2 °C'de buzdolabı içerisine yerleştirilerek bozulma tespit edilene kadar depolanmıştır. Yenilebilir film uygulanmış alabalık filetolarındaki değişimler mikrobiyolojik (mezofilik aerobik bakteri sayısı, psikrotrof bakteri sayısı, Enterobacteriaceae sayısı, *Staphylococcus spp.* sayısı, küf-maya sayısı, laktik asit bakteri sayısı), duyuşal (çiğ ve pişmiş alabalık filetoları kabul edilebilirlik testleri), pH analizleri ve bakteri tayini ile

belirlenmiştir. Analizler Ege Üniversitesi Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü Gıda Mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizler için; depolama periyodunun her grubundan aseptik şartlarda örnekler alınarak 3 paralel olarak mikrobiyolojik ekimleri yapılmıştır. Toplam bakteri ve Psikrotrof bakteri sayısı, (PCA) Plate Count Agar (Merck, 1.05463.0500, Almanya), Enterobacteriaceae mikroorganizmalarının sayısı için (VRBD-A) Violet red bile dekstroze agar (Merk, 1.10275.0500, Almanya), *Staphylococcus* bakterileri için Baird Parker Agar (Merck, 1.05406.0500, Almanya), Maya-küf tespiti amacıyla Yeast Extract Glucose Chloramphenicol (YGC) Agar (Merck, 1.16000.0500, Almanya), laktik asit bakteri sayısı için MRS (De Man, Rogosa Sharpe) Agar (Merk, 1.10660.0500, Almanya) besiyeri kullanılarak analizleri yapılmıştır (Harrigan ve Mc Cance, 1976).

Bakteri İzolasyonu ve Tanımlanması

Toplam Mezofilik Bakteri Tayini (API 20 NE, Biomeriux, 20 050) 29°C'de 24 saatte, Enterobacteriaceae Tayini (API 20 E, Biomeriux, 20 100) 36 °C'de 18-24 saatte, *Staphylococcus spp.* Tayini (API 20 STAPH, Biomeriux, 20 500) 36°C'de 18-24 saat, Maya Tayini (API 20 C AUX, Biomeriux, 20 210) 29°C'de 48-72 saat, Laktik asit Bakterileri Tayini (API 50 CH, Biomeriux, 50 410 ve API 50 CHL, Biomeriux, 50 300) 29°C'de 24-48 saat inkübasyon süresi sonucunda oluşan reaksiyonlara göre tanımlanmıştır.

Duyusal Analizler

Yenilebilir film kaplanmış ve kaplanmadan paketlenmiş alabalık filetoların çiğ ve pişmiş olarak duyuşal analizleri Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim görevlilerinden oluşan 5 deneyimli panelist tarafından değerlendirilmiştir. Örnekler panelistlere rastgele sıralama yapılarak sunulmuştur. Duyusal değerlendirme için önceden panelistlere analiz zamanları ve içeriği hakkında bilgi verilip, örneklerin her biri farklı kodlanarak sabah 10.00-12.00 saatleri arasında duyuşal değerlendirmeleri yapılması sağlanmıştır. Pişmiş alabalık filetoların duyuşal analizi Paulus vd. (1979) yöntemine göre yapılmıştır. Balık filetoları yaklaşık 3 dakika mikrodalga fırında pişirildikten hemen sonra panelistlere sunulmuştur. Duyusal değerlendirmede panelistler pişmiş örnekleri 9'dan 1'e kadar olan tanımlayıcı kriterler ile renk, koku, lezzet, doku yapısı (tekstür) ve genel kabul edilebilirlik özelliklerini değerlendirmişlerdir. Değerlendirmede 9'lu hedonik skala (1:çok kötü, 9:çok iyi) kullanılmıştır. 9 tamamen taze balığı, 1 ise tamamen bozulmuş balığı göstermektedir. Çiğ alabalık filetoların duyuşal değerlendirmesi Bonilla vd., (2007)'nin yaptığı çalışmasıya göre Kalite İndeks Metoduna (QIM) kriter alınarak hazırlanmıştır. Her bir parametre için; "0" çok taze balık etini gösterirken, daha yüksek puanlar daha düşük kaliteyi ve bozulmayı belirtmektedir.

Yenilebilir film kaplı alabalık fileto örneklerinin pH değeri (Hanna model pH metre) ile tespit edilmiştir. Analizler 3 paralelli olarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen bulguların istatistiki değerlendirilmesinde gruplar arasında farklılığın önemli olup olmadığının saptanması amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Ayrıca Tukey testi yapılmıştır. Sonuçlar, ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

BULGULAR

Gümüş içerikli yenilebilir film ile kaplanan ve kaplama yapılmadan depolanan kontrol grubu alabalık filetolarına ait mikrobiyolojik analiz (mezofilik aerobik bakteri sayısı, psikrotrof bakteri sayısı, toplam Enterobacteriaceae sayısı, *Staphylococcus spp.* sayısı, küf-maya sayısı, laktik asit bakteri sayısı) bulguları Tablo 1'de ve Şekil 1'de, duyu analizi (çiğ ve pişmiş alabalık filetoları kabul edilebilirlik testleri) sonuçları Şekil 3'de ve pH değişimleri Şekil 4'de verilmiştir.

Buzdolabında depolanan kontrol ve gümüş içerikli yenilebilir film ile kaplanan alabalık filetolarında mezofilik bakteri sayıları Şekil 1'de görülmektedir. Depolamanın başlangıcında 2,9 ve 2,8 log cfu/g olarak saptanan toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları depolama periyodu boyunca artış göstererek kontrol ve gümüş içerikli yenilebilir film ile kaplanan alabalık filetolarında sırasıyla 7,95 ve 6,9 log cfu/g olarak bulgulanmıştır (Tablo 1).

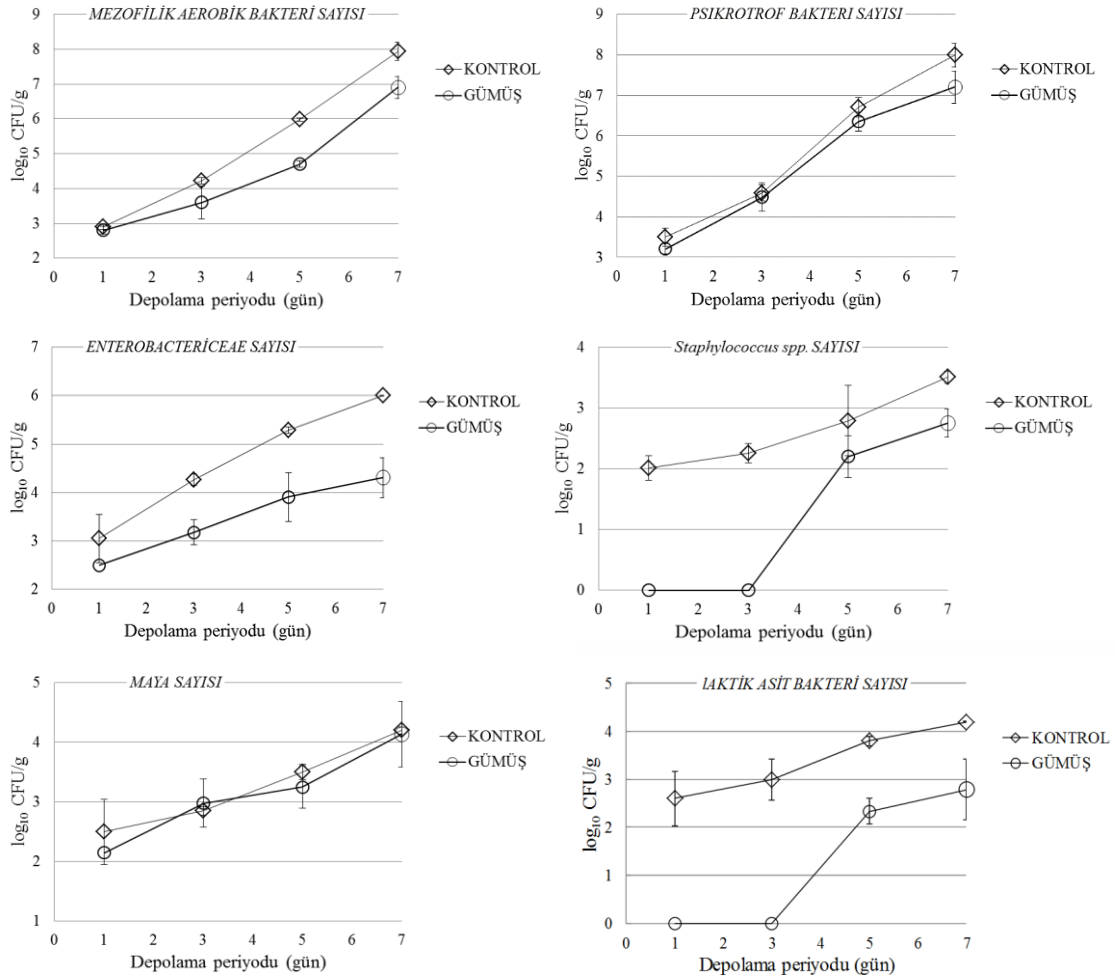
Kontrol ve gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık

filetolarının depolamanın başlangıcında sırasıyla 3,50 ve 3,21 log cfu/g olarak saptanan psikrotrof bakteri sayıları depolama boyunca artarak depolamanın 7. gününde 7,99 ve 7,20 log cfu/g değerlerine ulaşmıştır. Buzdolabında depolanan kontrol ve gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarının depolama periyodu esnasındaki Enterobacteriaceae bakteri sayıları değişimleri Şekil 2'de görülmektedir. Kontrol grubunda depolamanın başlangıcında 3,05 log cfu/g olarak saptanan Enterobacteriaceae bakteri sayısı depolamanın 3.,5., ve 7. günlerinde sırasıyla 4,27, 5,29 ve 6,00 log cfu/g olarak bulgulanmıştır. Gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarında depolamanın 1.,3.,5., ve 7. günlerinde saptanan Enterobacteriaceae bakteri sayıları sırasıyla 2,5, 3,18, 3,91 ve 4,31 log cfu/g olarak saptanmıştır (Tablo 1). Kontrol grubunda depolamanın başlangıcında 2,01 log cfu/g olan *Staphylococcus spp.* bakteri sayısı depolamanın 7. gününde 3,51 log cfu/g değerine ulaşmıştır. Gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarında ise depolamanın başlangıcında <1 log cfu/g olarak saptanan *Staphylococcus spp.* bakteri sayısı depolamanın sonunda 2,75 log cfu/g olarak bulgulanmıştır. Kontrol ve gümüş içerikli film ile kaplanan maya-küf sayıları depolamanın 1. gününde 2,50 ve 2,15 log cfu/g 'dan depolama periyodu esnasında artış göstererek depolamanın 7. gününde sırasıyla 4,20 ve 4,14 log cfu/g değerlerine ulaşmıştır. Kontrol ve gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarında depolamanın 1. gününde 2,60 ve <1 log cfu/g olarak bulgulan laktik asit bakteri sayıları depolama periyodu esnasında artış göstererek depolama sonunda sırasıyla 4,20 ve 2,79 log cfu/g değerlerine yükselmiştir (Tablo 1).

Table 1. Buzdolabında depolanan alabalık filetolarının mikrobiyoloji analiz bulguları (ortalama \pm standart sapma log CFU/g)
Table 1. Microbiological results of trout filets stored at the refrigerator (mean \pm SD log CFU/g)

Analizler	Gruplar	Depolama periyodu (gün)			
		1	3	5	7
Mezofilik aerobik bakteri	Kontrol	2,9 \pm 0,07 ^a	4,22 \pm 0,10 ^b	5,98 \pm 0,05 ^c	7,95 \pm 0,26 ^d
	Gümüş	2,8 \pm 0,11 ^a	3,6 \pm 0,48 ^b	4,7 \pm 0,10 ^c	6,9 \pm 0,32 ^d
Psikrotrof bakteri sayısı	Kontrol	3,50 \pm 0,22 ^a	4,59 \pm 0,20 ^b	6,71 \pm 0,24 ^c	7,99 \pm 0,3 ^d
	Gümüş	3,21 \pm 0,13 ^a	4,49 \pm 0,35 ^b	6,35 \pm 0,24 ^c	7,20 \pm 0,60 ^d
Enterobacteriaceae sayısı	Kontrol	3,05 \pm 0,57 ^a	4,27 \pm 0,12 ^b	5,29 \pm 0,07 ^c	6,00 \pm 0,01 ^c
	Gümüş	2,5 \pm 0,17 ^b	3,18 \pm 0,20 ^b	3,91 \pm 0,51 ^b	4,31 \pm 0,41 ^b
Staphylococcus spp. sayısı	Kontrol	2,01 \pm 0,20 ^a	2,26 \pm 0,16 ^a	2,79 \pm 0,58 ^a	3,51 \pm 0,10 ^b
	Gümüş	<1	<1	2,2 \pm 0,35 ^a	2,75 \pm 0,23 ^a
Küf-maya sayısı	Kontrol	2,50 \pm 0,55 ^a	2,85 \pm 0,07 ^a	3,50 \pm 0,13 ^b	4,20 \pm 0,06 ^c
	Gümüş	2,15 \pm 0,2 ^a	2,98 \pm 0,40 ^a	3,25 \pm 0,35 ^b	4,14 \pm 0,54 ^c
Laktik asit bakteri sayısı	Kontrol	2,60 \pm 0,56 ^a	3,00 \pm 0,43 ^a	3,80 \pm 0,10 ^b	4,20 \pm 0,01 ^c
	Gümüş	<1	<1	2,34 \pm 0,27 ^b	2,79 \pm 0,63 ^b

Her bir analiz için aynı satır ve sütundaki farklı harfler gruplar arasındaki farkı göstermektedir (p<0,05)

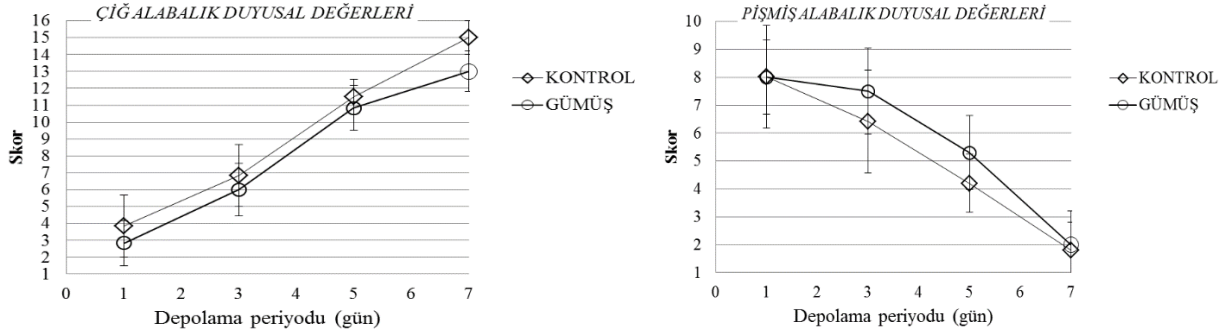


Şekil 2. Buzdolabında depolanan alabalık fileto örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları (log CFU/g)
Figure 2. Microbiological results of trout filets stored at the refrigerator (log CFU/g)

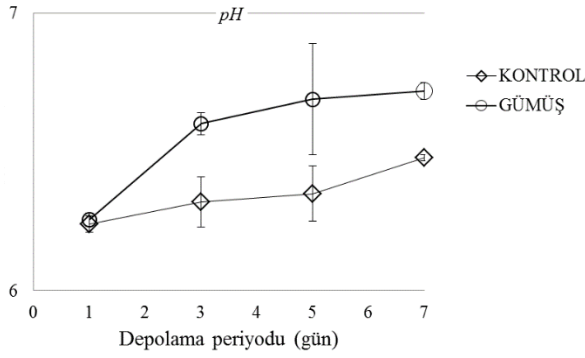
Çiğ ve pişmiş kontrol ve gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarının duyuşal değışimleri Şekil 3' de verilmiştir. Depolama esnasında pişmiş kontrol ve gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarının duyuşal değeriinde düşme görülmektedir. Gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarının taze balık kokusunu, dokusunu ve etin rengini koruyarak genel olarak filetoya parlaklık vermesinden dolayı kontrol grubuna göre daha çok beğenilmiştir. Pişirilmiş balıklarda, yenilebilir film kaplı grupta depolamanın son güne kadar kontrol grubuna göre daha fazla beğenilmiş fakat lezzet açısından bir farklılık gözlenmemiştir. Duyusal değeriendirme panelinde, yenilebilir film kaplama ile balık filetolarında önem

verilen görünüş, özellikle parlaklık, renk ve koku açısından albeniyi artırıp daha çok beğenilmesine neden olmuştur. Aynı zamanda lezzet açısından herhangi bir metalik tad alınmadığı gibi yenilebilir film ile balık filetolarının genel tat ve aromasında belirgin bir değışiklik yaratmadığı belirlenmiştir.

Buzdolabında depolanan alabalık filetolarının depolama esnasındaki pH değışimleri Şekil 4' de verilmiştir. Kontrol ve gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarındaki pH değeriileri depolama başlangıcında sırasıyla 6,24 ve 6,26 olarak saptanmıştır. Depolamanın 7. gününde ise kontrol ve gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık örneklerindeki pH değeriileri sırasıyla 6,48 ve 6,72 olarak bulgulanmıştır.



Şekil 3. Depolama boyunca çiğ ve pişmiş alabalık filetoalarının duyuşal değişimleri
Figure 3. The results of sensorial analyses of raw and cooked trout fillets during storage



Şekil 4. Alabalık filetoaların pH değişimleri
Figure 4. The pH results of trout fillets

Buzdolabında depolanan kontrol ve gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetoalarında depolama esnasında tanımlanan bakteriler ve % oranları aşağıda verilmiştir. Yapılan analizlerin sonuçlarına göre tanımlama oranları ile birlikte izole edilen mezofilik aerobik bakteriler; *Pseudomonas fluorescens* %99,9, *Pseudomonas luteola* %99,7, *Pseudomonas putida* %96,8, *Ralstonia picketti* %91,1, izole edilen Enterobacteriaceae bakterileri; *Alcaligenes spp.* % 76, *Moraxella spp.* %76, *Brucella* %76, *Staphylococcus* bakterileri; *Staphylococcus sciuri* %97,3, *Staphylococcus haminis* %63,4, *Staphylococcus xylosus* %54,6, laktik asit bakterileri; *Lactobacillus salivarius* %99, *Lactobacillus brevis* %99,6, *Lactococcus lactis spp.* %81,8, izole edilen mayalar; *Candida zeylanoides* %97,9, *Cryptococcus laurentii* %85,9, *Candida guilliermondii* %84,5, *Trichospora inkin* %92,7, *Candida calliculosa* %84,5 tanımlanmıştır.

TARTIşMA

Can vd. (2007) yaptıkları çalışmada eugenol'un antimikrobiyal etkisini belirlemek için sazan filetoalar üzerinde inceleme yapmışlardır. Depolama periyodu esnasındaki mikrobiyal değişimler incelenmiştir. Sazan filetoalarındaki toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları depolama periyodu boyunca artış göstermiştir. İncelenen sazan filetoalarının kontrol

grubu depolamanın 14. gününde limit değeri aştığı belirtilirken, eugenol uygulanan örneklerde ise depolamanın 42. gününde toplam aerobik bakteri açısından limit değeri aştığı belirtilmiştir. Altinelataman vd. (2008) yaptıkları çalışmada levrek filetoalarına biberiye ve adaçayı' nın antioksidant, antimikrobiyal ve duyuşal etkilerinin saptanması üzerine yapılan çalışmada eşit miktarlarda kurutulmuş olan yapraklardan adaçayının TBA ve TVB-N zerine, biberiye'nin ise kas yapısı, duyuşal ve renk analizleri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Antimikrobiyal etkileri açısından incelendiğinde iki yaprağında hemen hemen aynı etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Kenar vd. (2010) yaptıkları çalışmada buzdolabı koşullarında depolanan sardalyelerin duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitelerine biberiye ve adaçayının antimikrobiyal etkisini incelemişlerdir. Toplam mezofilik bakteri sayısına göre mikrobiyolojik bozulma kontrol grubu için depolamanın 5. gününde, biberiye ve adaçayı (10 g/lit biberiye+adaçayı) içeren grupta ise depolamanın 9. gününde gerçekleşmiştir. Yukarıda belirtilen çalışmalarda toplam aerobik mezofilik bakteri sayılarının depolamaya bağlı olarak artış göstermesi yönünde elde edilen bulgular, çalışma sonuçları ile paralellik göstermektedir. Frangos vd. (2010) yaptıkları çalışmada 4°C'de depolanan alabalık filetoaları üzerine tuz, mercanköşk esansiyel yağı ve paketlemenin etkisini araştırmışlardır. Vakum ambalaj uygulanmayan örneklerde streç film ile paketlenen örnekler ile mukayese edildiğinde streç film ile paketlenenlerde Enterobacteriaceae bakteri sayıları daha yüksek değerlerde bulgulanmıştır. Çalışmada Enterobacteriaceae bakteri sayısının depolamaya bağlı olarak artış göstermesi yönünde elde edilen bulgular yukarıda belirtilen çalışmanın bulguları ile paralellik göstermektedir. Mexis vd., (2009) yaptıkları çalışmada buzdolabı koşullarında depolanan gökkuşağı alabalıklarının raf ömrünün arttırılmasında oksijen emici ve kekik esansiyel yağının (%4 v/w) kombine etkisi incelenmiştir. Enterobactericeae ve laktik asit bakteri sayılarını kontrol grubu ile karşılaştırıldığında engellemiştir. Çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetoalarında Enterobactericeae ve laktikasit bakterilerinin

inhibisyonu yönünde elde edilen bulgular yukarıda belirtilen çalışmanın bulguları ile paralellik göstermektedir. [Laohakunjit ve Noomhorm \(2004\)](#) yaptıkları çalışmada; pirinç nişastası esaslı filmlere gliserol (Gls) % 35 (a/a), sorbitol % 45 (a/a) oranında plastikleştiriciler ilave edildiklerinde filmlerin sudaki çözünürlüklerini arttırdığı tespit edilmiştir. Gls, filmlerin su buharı ve oksijen geçiş hızını sorbitol içeren filmlere göre daha çok arttırmıştır. Sorbitol ve gliserol plastikleştirileri kullanılan nişasta filmlerin, plastikleştirici kullanılmayan pirinç nişastası filmlere göre daha homojen, berrak, pürüzsüz ve daha az çözünmemiş parçacıkları içerdiği bildirilmiştir. [Pranoto vd., \(2005\)](#), sarımsak yağı, potasyum sorbat veya nisin içeren kitosan filmlerin, *E. coli*, *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes* ve *B. cereus* gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivitelerini incelemişlerdir. Sarımsak yağı, potasyum sorbat veya nisin içeren filmler; *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *B. cereus* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyel etki gösterirken, sarımsak yağı içeren kitosan filmler *S.aureus*, *L.monocytogenes* ve *B. cereus* üzerinde daha fazla antimikrobiyel etki göstermiştir.

Balık ve su ürünlerinin doğal antimikrobiyel maddelerle muamele edilmesi ve raf ömrünün arttırılmasının sağlanması yanısıra yeni geliştirilen nanopartiküllerle zenginleştirilmiş gıda maddeleri kullanılarak raf ömrünün artırılması yönünde çalışmalar son yıllarda ilerleme göstermektedir. Nanoteknoloji kökenli gıdalar ve ambalaj malzemelerinden doğacak zararlar ve riskler büyük ölçüde bilinmemektedir. Yasal ve bilimsel açıdan eksiklikler ilerleyen zamanlarda yapılan çalışmalarla giderilecektir ([Sürengil ve Kılınç, 2011](#)).

Gümüş ve diğer organik antibakteriyeller arasında bir kıyaslama yapıldığında, gümüş'ün insan sağlığı üzerine potansiyel zararlı etkiler taşımasından dolayı en güvenilir olduğu söylenebilir. Gümüş gıda üretim endüstrisi ve insan sağlığı için ciddi sonuçlar doğurabilecek birçok mikroorganizma üzerine etkilidirler. Uygulandıkları ortamlarda insan ve çevreye zararlı kalıntı maddeler bırakmazlar. Hem gıda maddelerinin dezenfeksiyonunda hem de üretimdeki alet ve ekipmanın sterilizasyonu işlemlerinde kullanılabilir olması da diğer önemli özelliklerindendir ([Yibar, 2012](#)).

Gümüşün düşük maliyetli olması ve antimikrobiyel özelliği nedeniyle dezenfektan olarak kullanımı yaygındır. 2009 yılında FDA gıda katkı maddeleri kurallarını modifiye ederek ticari ambalajlarda gümüş nitrat değerinin 17 µg/kg aşmayacak şekilde dezenfektan olarak kullanımına izin vermiştir ([Polat ve Fenercioğlu, 2014](#)). Minimal işlenmiş ürün üretimi başta olmak üzere benzeri gıda üretim uygulamalarında gümüş kullanımının yaygınlaşması tüketiciler için daha kaliteli, daha uzun ömürlü ve daha güvenli ürünlere ulaşılmasını sağlayacaktır ([Yibar, 2012](#)). Türk Gıda Kodeksine göre gümüş E 174 koduyla izin verilen gıda renklendiricileri arasında yer almaktadır. Ancak maximum kullanım düzeyi belirlenmemiştir.

Yapılan son çalışmalarda nanoparçacık ilave edilerek üretilen kompozit yapıları bu filmlerin, bariyer özellikleri geliştiği için çok katlı ambalaj malzemelerine de alternatif olarak kullanılabilmesi ve böylece normal filmlere göre maliyeti 2-3 kat daha yüksek olan çok katmanlı filmlerin yerini alarak ambalaj giderlerinin azaltılabileceği, ayrıca gıdaların bozulmasını geciktirerek, çöpe atılan gıda miktarının düşürebileceği belirtilmiştir ([Polat ve Fenercioğlu, 2014](#)). Yaptığımız bu çalışmada büyük ölçekte malzeme gerektirmeden hazırlanan gümüş içerikli film çözeltisinde, balık gibi çabuk bozulabilen ürünlerin değerlendirilmesi ile ekonomik anlamda kazanç sağlayabilecektir. Yalnızca kullanılacak antimikrobiyal içeriğin etkinlik-maliyet uyumu ile yaygın kullanımı sağlanmış olacaktır.

[Paul vd. \(2015\)](#) kitosan-jelatin yenilebilir filmi gümüş nanopartikülleri ile kompozit film üretilip fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini araştırmışlardır. Filmin karakteristik özelliklerinin in vitro performansları sonucu iyi bir kaplama materyali olacağı ve pazarda kullanılabilmesi bildirilmiştir. Gümüş nanopartikülleri kitosan-jelatin yenilebilir film için esneklik, stabilite ve uzun süreli kullanımı sağlayıp, kitosan ve jelatin arasında bağlayıcı bir madde olarak rol oynadığı belirtilmiştir. Ayrıca filmin su emme, katlanabilme dayanıklılık özelliğini geliştirmiş ve sıcaklığa dayanıklılık göstermesini sağladığı belirtilmiştir. Aynı zamanda bu gümüş nanopartiküllerinin farmasötik alanında kullanımı spesifik hücrelere hedeflenerek patojenik bakterilere karşı koruma sağlanabileceği bildirilmiştir. [Fayaz vd.. \(2009\)](#) yılında gümüş nanoparçacıklarının gıdaların raf ömrü üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, havuç ve armutlar gümüş nanoparçacıkları içeren aljinat filmler ile kaplanmışlardır. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında kaplanmayan ve sadece aljinat ile kaplanana göre, gümüş içeren filmlerle kaplanan örneklerin depolama esnasında su kaybının daha düşük olduğu, doku, renk, ve lezzet açısından da tüketiciler tarafından daha kabul edilir olduğu belirtilmiştir.

[Altaş vd. \(2012\)](#) yaptıkları çalışmada gümüş lifleri yerleştirilen gıda pedleri ile paketlenen sardalya filetoalarının raf ömrünün belirlenmesi üzerine çalışmışlardır. Çalışmada gümüş liflerinin antimikrobiyal özelliğinden yola çıkarak gıda pedlerinde kullanımı ile sardalya filetoalarında depolama boyunca kontrol grubuna göre toplam aerobik bakteri sayısında yaklaşık 1 log düşüş gözlemlendiği belirtilmiştir.

[Fan vd. \(2007\)](#), nanopartiküllerin dört tipinin birleştirilmesiyle solvent-dökme metodu kullanılarak dört farklı tipte kitosan bazlı nanokompozit film hazırlamışlardır. Bu nanopartiküller; modifiye edilmemiş montmorillonit (Na-MMT), organik olarak modifiye edilmiş montmorillonit (Cloisite 30B), nano-gümüş ve Ag-zeolit (Ag-Ion)'tir. Sonuç olarak kitosan filmlerinin mekaniksel ve test edilen nanopartikül materyaline bağlı olarak bariyer özellikleri; gerilme gücünü %7-16 artıran,

su buharı geçirgenliğini %25-30 azaltan, filmler elde edilmiştir. Ayrıca, kitosan bazlı nanokompozit filmler, özellikle gümüş kaplama içerinde en fazla düzeyde antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Dean vd., (2007) Üç farklı koloidal gümüş konsantrasyonu (10, 20 ve 30 ppm) ile antibiyotiklerin (tobramisin, lomefloksasin, moksifloksasin, Ampisillin) *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, ve *Bacillus subtilis* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite testleri (ABAT) ve disk difüzyon testi uygulamışlardır. ABAT sonuçları doğrultusunda koloidal gümüşün bakteriler üzerine inibite edici etkisi görülmezken disk difüzyon testi ile 30 ppm konsantrasyonundaki gümüşün bakterilere etkisi olduğu tespit edilmiştir.

Yukarıda belirtilen çalışmalarda gümüşün antimikrobiyal özelliği ve bakteri inhibisyonu yönündeki bulgular yapılan çalışmanın bulguları ile paralellik göstermektedir. Çalışmada kontrol grubu ile gümüş içerikli grup arasında 1 log fark gözlenmiştir. Ayrıca kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarında Enterobacteriaceae ve laktik asit bakterilerinin inhibisyonu gözlemlenmiştir.

Yapılan çalışmalar inorganik nanopartiküllerin gıda ambalajlamasında kullanımının birçok avantaj sağlayabileceğini göstermektedir. İnorganik nanopartiküllerin etilen gazı yıkımını katalize etmesi ve mor ötesi ışınlar karşı koruyucu etkiler göstermesi bu maddelerin ambalaj filmi üretiminde kullanımını cazip kılmaktadır. Ancak nanoteknoloji uygulamalarının gıda ambalaj üretiminde yeni bir teknoloji olması ve beraberinde getireceği risklerin tam olarak bilinmemesinden dolayı kullanımında dikkatli olunması gerektiği bildirilmiştir. Toksikite çalışmaları nanopartiküllerin insan sağlığı üzerine zararlı etkilerinin olabileceğini belirtmekle birlikte bu konuda birçok belirsizliğin olduğu bundan dolayı da tüketici sağlığını ve çevreyi olumsuz etkileyecek kullanımlardan kaçınılması gerektiği vurgulanmaktadır. Yasal düzenlemelerin ve nanopartiküllerin kullanım oranlarının belirlenebilmesi için toksisite ve migrasyon çalışmalarının yapılması gerektiği belirtilmiştir (Polat ve Fenercioğlu, 2014).

SONUÇ

Çalışmada gümüş içerikli ajan kullanılarak antimikrobiyal ksantan gam yenilebilir filmleri üretilmiştir. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları depolama periyodu boyunca paralel bir artış göstermiştir. İncelenen alabalık filetolarından hiçbir işlem görmemiş kontrol grubu ile gümüş içerikli grup arasında 1 log fark gözlenmiş olup gümüş içerikli kaplamanın balıkta duyuşal anlamda olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir. Duyuşal değerlendirme panelinde, yenilebilir film kaplama ile balık filetolarında önem verilen görünüş, özellikle parlaklık, renk ve

koku açısından albeniyi arttırıp daha çok beğenilmesine neden olmuştur.

Çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarında Enterobacteriaceae ve laktik asit bakterilerinin inhibisyonu gözlemlenmiştir.

Buzdolabında depolanan kontrol ve gümüş içerikli film ile kaplanan alabalık filetolarında depolama esnasında tanımlanan bakteriler ve % oranları aşağıda verilmiştir; izole edilen mezofilik aerobik bakteriler; *Pseudomonas fluorescens* %99,9, *Pseudomonas luteola* %99,7, *Pseudomonas putida* %96,8, *Ralstonia picketti* %91,1, Enterobacteriaceae bakterileri; *Alcaligenes* spp. % 76, *Moraxella* spp. %76, *Brucella* %76, *Staphylococcus* bakterileri; *Staphylococcus sciuri* %97,3, *Staphylococcus haminis* %63,4, *Staphylococcus xylosus* %54,6, izole edilen laktik asit bakterileri; *Lactobacillus salivarius* %99, *Lactobacillus brevis* %99,6, *Lactococcus lactis* spp. %81,8, izole edilen mayalar; *Candida zeylanoides* %97,9, *Cryptococcus laurentii* %85,9, *Candida guilliermondii* %84,5, *Trichospora inkin* %92,7, *Candida calliculosa* %84,5 oranlarında tanımlanmıştır.

Antimikrobiyal yenilebilir film kaplama balık eti yüzeyi ile temas halinde olup mikrobiyolojik gelişimi engellerken, aynı zamanda koruyucu bariyer tabakası oluşturmuştur. Antimikrobiyal yenilebilir filmlerde gıdaya uygun biyopolimer ve antimikrobiyal maddelerin kullanılması önerilmektedir. Uygun antimikrobiyal ajan içeren filmler, taze olarak tüketilecek su ürünlerin bozulmaları geciktirip, gıda güvenliğinin sağlanmasını ve ürün raf ömrünün arttırılmasında yarar sağlayabilecektir. Yapılan çalışma gümüş içerikli antimikrobiyal filmlerin gerek mikrobiyolojik ve gerekse duyuşal anlamda gösterdiği olumlu sonuçlar nedeniyle gıda sektöründe kullanılabileceğini göstermektedir. Gümüş içerikli antimikrobiyal filmlerin alabalık filetolarına uygulanması yönünde yapılan ilk çalışma olması dolayısıyla bundan sonra yapılacak olan çalışmalara ışık tutacaktır. Gümüş içerikli antimikrobiyal filmlerin geliştirilerek hava ve nem geçirgenlik özelliklerinin iyileştirilmesi, ilave uygulanacak paketleme teknolojileri ile de gıdaların raf ömrünün daha da arttırılması sağlanabilir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda kullanım limitlerinin belirlenmesi, gıdalardaki kalıntı miktarlarının saptanması sağlanmalıdır. Gümüş içerikli antimikrobiyal filmlerin üretimi, balık ve su ürünlerinde kullanımı ile ilgili çalışmaların yapılması önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2013/SÜF/012 numaralı proje ile desteklenmiştir. Ayrıca çalışma 1-4 Eylül 2015 tarihinde İzmir'de düzenlenen 18. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu'nda sunulmuştur.

KAYNAKLAR

- Altaş, S., Kilinc, B., Sürengil, G. 2012. Gümüş Liflerinin Taze Balık Filetolarının Paketlenmesinde Kullanımı, TİM Gıda Arge Proje Pazarı, İzmir, sf. 157-158.
- Altinelataman, C., D. Kışla, B. Kılıç, E.B.Ş Yılmaz, A.C. Yünlü, T. Dinçer ve U. Çelik, 2008. Antioxidant, Antimicrobial and Sensorial Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and Sage (*Salvia officinalis* L.) on Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) Fillets", 1. International Congress of Seafood Technology, Çeşme-Izmir, Turkey, May 18-21.
- Appendini, P., and J.H. Hotchkiss. 2002. 'Review of antimicrobial food packaging', *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3: 113-26. doi:10.1016/S1466-8564(02)00012-7
- Arvidson, S.A., Rinehart, B.T. ve Gadala-Maria, F., 2006. Concentration regimes of solutions of levan polysaccharide from *Bacillus* sp. *Carbohydrate Polymers*, 65:144-149. doi:10.1016/j.carbpol.2005.12.039.
- Biomérieux, 2002. API 20 CH, REF 50 300, 07945F-tr.
- Biomérieux, 2002. API 20 STAPH, REF 50 300, 07945-tr.
- Bonilla, A., Sveinsdottir, K. and Martinsdottir, E., 2007. Development of quality index method (QIM) scheme for fresh cod (*Gadus morhua*) filets and application in shelf life study, *Food Control*, 18: 352-358. doi:10.1016/j.foodcont.2005.10.019.
- Brandt, D., Park, B., Hoang, M, Jacobs, H.T., 2005. Argyria secondary to ingestion of homemade silver solution, *J. Acad. Dermatol*, 53: 105-107. doi:10.1016/j.jaad.2004.09.026.
- Can, P.Ö., Arslan, A. ve Özdemir, P., 2007. Eugenolün Çiğ Balık Filetolarının Muhafaza Süresi Üzerine Etkisi, Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları, 5 (2), 125-128s.
- Chopra, I., 2007. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: A useful development or a cause for concern, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59, 587-590. doi: 10.1093/jac/dkm006.
- Dean D. Concepcion, MD, Lee G. Verzosa, MD., Jose Jurel M. Nuevo, RMT, MA., 2007. Antimicrobial potency of colloidal silver compared with antibiotic eye drops, *Philippine Journal of Ophthalmology*, 32(1): 9-11.
- Dean, W., Mitchell, M., Lugo, V.W., South, J., 2001. Reduction of viral load in AIDS patients with intravenous mild silver protein. *Clin Pract Alt Med*, 2: 48-53.
- Dursun, S., Erkan, N. ve Yeşiltaş, M., 2010. Doğal biyopolimer bazlı (biyobozunur) nanokompozit filmler ve su ürünlerindeki uygulamaları, *Journal of Fisheries Sciences.com*, 4(1): 50-77. doi: 10.3153/jfscm.201006.
- Fan, Q., Shan, D., Xue, H., He, Y., Cosnier, S., 2007. Amperometric Phenol Biosensor Based on Laponite Clay-Chitosan Nanocomposite Matrix, *Biosensors and Bioelectronics*, 22: 816-821 doi: 10.1016/j.bios.2006.03.002.
- Fayaz AM, Balaji K, Girilal M, Kalaichelvan PT, Venkatesan R. 2009. Mycobased Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Incorporation into Sodium Alginate Films for Vegetable and Fruit Preservation. *J Agric Food Chem*, 57 (14): 6246-6252. doi: 10.1016/j.bios.2006.03.002.
- Frangos, L., Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A., and Savvaidis, I. N., 2010. Combined effects of salting, oregano oil and vacuum packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets, *Food Microbiology*, 27: 115-121. doi: 10.1016/j.fm.2009.09.002.
- Gennadios, A., Hanna, M.A. and Kurth, L.B., 1997. 'Application of Edible Coatings on Meats, Poultry and Seafoods: A Review', *LWT - Food Science and Technology*, 30: 337-50.
- Gennadios, A., McHugh, T.H., Weller, C.L. and Krochta, J.M., 1994. Edible Coatings and Films Based on Proteins", J.M. Krochta, EA. Baldwin, MO. Nisperos- Carriedo, Edible Coatings and Films to Improve Food Quality, Technomic Publishing Company, 201-277. doi:10.1006/ftsl.1996.0202.
- Gogotsi, Y., Welz, S., Ersoy, D.A. and McNallan, M. J., 2001. Conversion of silicon carbide to crystalline diamond-structured carbon at ambient pressure, *Nature*, 411 (6835): 283-287. doi: 10.1038/35077031.
- Imazato, S., 2003. Antimicrobial properties of resin composites and dentin bonding systems, *Dental Materials*, 19: 449-457. doi:10.1016/S0109-5641(02)00102-1.
- Kenar, M., Ozogul, F. and Kuley, E., 2010. Effects of rosemary and sage tea extracts on the sensory, chemical and microbiological changes of vacuum-packed and refrigerated sardine (*Sardina pilchardus*) filets. *International Journal of Food Science and Technology*, 45: 2366-2372. doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02414.x.
- Krochta, J.M. and DeMulder-Johnston, C., 1997. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technologie*, 51(2): 61-74 . ISSN: 0015-6639.
- Laohakunjit, N. and Noomhorm, A., 2004. Effect of Plasticizers on Mechanical and Barrier Properties of Rice Starch Film, *Starch/Stärke*, 56: 348-356. doi 10.1002/star.200300249.
- Martins, J.T., Cerqueira, M.A., Bourbon, A.I., Pinheiro, A.C., Souza, B.W.S., Vicente, A.A., 2012. Synergistic effects between k-carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof, *Food Hydrocolloids* 29: 280-289. doi: 10.1016/j.foodhyd.2012.03.004.
- Mexis, S.F., Chouliara, E. and Kontominas, M.G., 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 °C, *Food Microbiology*, 26:598-605. doi: 10.1016/j.fm.2009.04.002.
- Paul, S., Jayan, A., Changam Sheela, C., 2015. Physical, chemical and biological studies of gelatin/chitosan based transdermal films with embedded silver nanoparticles, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 5:(12), 975-986. doi:10.1016/S2222-1808(15)60968-9.
- Paulus, K., Zacharias, R., Robinson, L. and Geidel, H., 1979. Kritische Betrachtungen Zur "Bewertenden Prüfung Mit Skale" Als Einem Wesentlichen Verfahren Der Sensorischen Analyse. *LWT - Food Science and Technology*, 12 (1): 52-61.
- Polat, S., Fenercioğlu, H., 2014. Gıda Ambalajlanmasında Nanoteknoloji Uygulamaları : İnorganik Nanopartiküllerin Kullanımı. *Gıda*, 39 (3): 187-194. doi: 10.5505/gida.
- Pranoto, Y., Rakshit, S.K. and Salokhe, V.M., 2005. Enhancing Antimicrobial Activity of Chitosan Films by Incorporating Garlic Oil, Potassium Sorbate and Nisin, *LWT Food Sci Technol*, 38: 859-865. doi: 10.1016/j.lwt.2004.09.014
- Quintavalla, S. and Vicini, L., 2002. Antimicrobial Food Packaging in Meat Industry, *Meat Science*, 62: 373-380. doi: 10.1016/S0309-1740(02)00121-3.
- Rhim, J. W. and Ng P. K. W., 2007. Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for Packaging Applications, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4): 411-433. doi: 10.1080/10408390600846366.
- Shahverdi, A.R., Fakhimi, A., Shahverdi, H.R., Minaian, S., 2007. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3, 168-171pp.
- Simpson, K., 2003. Using silver to fight microbial attack, *Plastics Additives & Compounding* 5(5) 32-35.
- Sorrentino, A., Gorrasi, G. and Vittoria, V., 2007. Potential Perspectives of Bio-Nanocomposites For Food Packaging Applications, *Trends in Food Sci & Tech*, 18 :84-95. doi: 10.1016/j.tifs.2006.09.004.
- Sothornvit, R., 2011. Edible coating and post-frying centrifuge step effect on quality of vacuum-fried banana chips, *Journal of Food Engineering*, 107 (3-4): 319-325. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.07.010.

- Sürengil, G., Kılınç, B., 2011. Gıda - Ambalaj Sektöründe Nanoteknolojik Uygulamalar ve Su Ürünleri Açısından Önemi, *J. Fisheries Sciences*, 5(4): 317-325. doi:10.3153/jfscm.2011036.
- Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Yayımlandığı R. Gazete: 25.08.2002-24857, Tebliğ No: 2002/55, Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ, Yayımlandığı R. Gazete: 01.11.2007-26687, Tebliğ No: 2007/49
- US Food and Drug Administration, Fed. Regist. 74 (2009) 11476.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., Kruijf, N. and Debevere, J., 1999. Developments In The Active Packaging Of Foods, *Trends in Food Science and Technology*, 10(3): 77-86. doi:10.1016/S0924-2244(99)00032-1.
- Yıbar, A. 2012. Güvenli ve etkili bir dezenfektan: Hidrojen peroksit ve Gümüş. *Dünya Gıda Dergisi*, 2012-06: 57-62.