

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAVUK ETİNDE TAZELİĞİ İZLEMEK İÇİN
GERÇEK ZAMANLI-pH DUYARLI KOLORİMETRİK
AKILLI İNDİKATÖR GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İrem Melda KARACA

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

HAZİRAN 2023

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAVUK ETİNDE TAZELİĞİ İZLEMEK İÇİN
GERÇEK ZAMANLI-pH DUYARLI KOLORİMETRİK
AKILLI İNDİKATÖR GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İrem Melda KARACA

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zehra AYHAN

HAZİRAN 2023

İrem Melda KARACA tarafından hazırlanan “TAVUK ETİNDE TAZELİĞİ İZLEMEK İÇİN GERÇEK ZAMANLI-pH DUYARLI KOLORİMETRİK AKILLI İNDİKATÖR GELİŞTİRİLMESİ” adlı tez çalışması 23.06.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı : **Prof. Dr. Zehra AYHAN (Danışman)**
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Prof. Dr. Murat ÖZDEMİR**
Gebze Teknik Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Dr. Öğretim Üyesi Güliz HASKARACA**
Sakarya Üniversitesi

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “TAVUK ETİNDE TAZELİĞİ İZLEMEK İÇİN GERÇEK ZAMANLI-pH DUYARLI KOLORİMETRİK AKILLI İNDİKATÖR GELİŞTİRİLMESİ” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(...../...../2023).

İrem Melda KARACA

Hayatımı aydınlatan tüm sevdiklerime.....

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans serüvenim boyunca beni her adımda cesaretlendiren, bilgi ve deneyimlerimi etkili bir iletişim ile anlatan, karşılaştığım tüm sorunlarda destekleyici tavrını ve samimiyetini hiçbir zaman esirgemeyen, çalışmam süresince daha iyi yerlere gelebileceğime inanan, tüm bunlar doğrultusunda yüksek lisans tez çalışmamdaki yönlendirmeleri ve katkılarından dolayı kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Zehra AYHAN'a;

Yaşadığım tüm engellerde kapısını ne zaman çalsam güler yüzle karşılayan, doğru bir yönlendirme için değerli zamanını ayıran, laboratuvar çalışmalarım boyunca eli her zaman üzerimde olan, öneri ve eleştirileriyle bakış açımı değiştiren gerek fiziki gerekse manevi olarak bir abla gibi yanımda olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Güliz HASKARACA'ya;

Yüksek lisans tez savunma jürimde görev alan Prof. Dr. Murat ÖZDEMİR'e ve Dr. Öğr. Üyesi Güliz HASKARACA'ya;

Zor ve uzun bir yolculuğu beraber omuzladığım, gece gündüz demeden aynı amaç için birlikte çalışıp destek aldığım, aynı laboratuvarı keyifle paylaştığım sevgili arkadaşlarım Eylem KARAKUŞ, Amal Samir Lutfi AL OBAİDİ ve Fatma AL'a;

Doğduğum günden bu yana sevgisi ve ilgisi ile her anımda yanımda olan, ne kadar zorluk yaşasam da bunları aşmam için elinden geleni yapan, bilgi ve kültür kelimelerini her anlamda hayatıma kazandıran, tüm başarımın mimarı canım annem Fatime KARACA'ya;

Tüm engelleri birlikte aştığım, her düştüğümde beni kaldıran, her vazgeçmek istediğimde beni cesaretlendirip buna izin vermeyen, manevi olarak beni her zaman güçlendiren, sevgi ve saygı ile bağlı olduğum biricik yol arkadaşım Erol SERTER'e;

Deneysel çalışmalarımı yürütmemde maddi imkanlarını hiçbir zaman esirgemeyen, süreçlerin her aşamasını benimle birlikte takip eden, doğru yönlendirmeleri ve bilgileri ile çalışmayı farklı bir boyuta taşıyan Emre Gültekin liderliğindeki değerli proje ekibine ve İspak Esnek Ambalaj Sanayi A.Ş.'ye;

Adını saymadığım ancak bu tez çalışması süresince bana katkısı olan tüm değerli hocalarıma, sevgili arkadaşlarıma ve canım aileme; teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

İrem Melda KARACA

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SİMGELER	xv
TABLO LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxi
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	5
2.1. Tavuk Eti ve Beslenme Açısından Önemi	5
2.2. Tavuk Etinin Bozulma Mekanizması	6
2.3. Akıllı Ambalajlama Teknolojisi	8
2.3.1. Tazelik indikatörü sistemleri	11
2.3.2. Tazelik indikatörü tasarımında kullanılan materyaller	13
2.3.2.1. Boyalar	13
2.3.2.2. Bağlayıcılar	16
2.3.2.3. İç ve dış katman olarak kullanılan materyaller	18
2.4. Literatürde Yer Alan Tazelik İndikatörü Çalışmaları	20
2.5. Hipotez	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1. Materyal	27
3.2. Kolorimetrik Tazelik İndikatörlerinin Hazırlanması	27
3.3. Kolorimetrik Tazelik İndikatörlerinin Simülasyonu	30
3.3.2. Simülasyon- ana deneme çalışması	31
3.4. Kolorimetrik Tazelik İndikatörlerinin Gıda Validasyonu	31
3.4.1. Kolorimetrik tazelik indikatörlerinin renk analizleri	32
3.4.1.1. Kolorimetre cihazı ile renk analizi	32
3.4.1.2. ImageJ yazılımı ile dijital renk analizi	33
3.4.2. Tepe boşluğu gaz analizi	34
3.4.3. pH analizi	34
3.4.4. Toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) analizi	35
3.4.5. Trimetilamin (TMA) analizi	35
3.4.6. Mikrobiyolojik analizler	36
3.4.7. Duyusal değerlendirme	37
3.5. İstatistiksel analiz	37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	39
4.1. Simülasyon-Ön Deneme Çalışması	39
4.1.1. Farklı boya ve konsantrasyonları ile geliştirilen indikatörlerin (dopingsiz) renk değişimi	39

4.1.2. Farklı boya ve konsantrasyonları ile geliştirilen indikatörlerin (dopingli) renk değişimi	41
4.1.3. BTB ve PR içeren tazelik indikatörlerinin (dopingli) tekrarlanabilirlik çalışması	44
4.2. Simülasyon-Ana Deneme Çalışması	47
4.3. Gıda Validasyonu	52
4.3.1. Tepe boşluğu gaz kompozisyonu	52
4.3.2. pH	53
4.3.3. Toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) konsantrasyonu	55
4.3.4. Trimetilamin (TMA) konsantrasyonu	56
4.3.5. Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) ve <i>Pseudomonas spp.</i> sayısı	57
4.3.6. Duyusal değerlendirme	60
4.3.7. Gıda validasyonu çalışmasında kolorimetrik tazelik indikatörlerinin renk değişimi	61
5. SONUÇLAR	71
KAYNAKLAR.....	75
EKLER.....	83
ÖZGEÇMİŞ.....	85

KISALTMALAR

BCG	: Bromokresol yeşili
BTB	: Bromotimol mavisi
CO₂	: Karbondioksit
GC	: Gaz Kromatografisi
HCl	: Hidroklorik asit
HS-SPME	: Tepe boşluğu- Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu
LDPE	: Düşük yoğunluklu polietilen
MC	: Metil selüloz
MgO	: Magnezyum oksit
MR	: Metil kırmızısı
NaOH	: Sodyum hidroksit
PEG 400	: Polietilen glikol 400
PET:	: Polietilen tereftalat
PR:	: Fenol kırmızısı
TMA	: Trimetil amin
TMAB	: Toplam mezofilik aerobik bakteri
TVB-N	: Toplam uçucu bazik nitrojen

SİMGELER

ml	: Sıvı ölçü birimi [mililitre]
mg	: Kütle birimi [miligram]
μl	: Sıvı ölçü birimi [mikrolitre]
g	: Kütle birimi [gram]
m²	: Alan ölçü birimi [metrekare]
ΔE	: Toplam renk değişimi
ΔRGB	: Toplam renk değişimi
rpm	: Dakikadaki dönüş sayısı

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Akıllı ambalaj çeşitleri ve kullanım alanları.	10
Tablo 2.2. Et ürünleri için pH boyaları ile geliştirilen tazelik indikatörü çalışmaları.	24
Tablo 3.1. BTB ve PR içeren tazelik indikatörleri için deneme planı.....	30
Tablo 4.1. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince tepe boşluğundaki % CO ₂ ve O ₂ oranları.	52
Tablo 4.2. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince pH değerleri.....	54
Tablo 4.3. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince TVB-N değerleri.	55
Tablo 4.4. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince TMA değerleri (mg/100g).....	56
Tablo 4.5. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince TMAB ve <i>Pseudomonas spp.</i> sayıları.	58
Tablo 4.6. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince duyu kalitesindeki değişimler.	60
Tablo 4.7. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince PR bazlı tazelik indikatörlerindeki L, a*, b* ve ΔE değerleri... 67	67
Tablo 4.8. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince BTB bazlı tazelik indikatörlerindeki L, a*,b* ve ΔE değerleri. 68	68
Tablo 4.9. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince PR bazlı tazelik indikatörlerindeki R, G, B ve ΔRGB değerleri.	69
Tablo 4.10. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince BTB bazlı tazelik indikatörlerindeki R, G, B ve ΔRGB değerleri.	70

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Dünya çapında kişi başı yıllık tüketilen tavuk oranı (%).	6
Şekil 2.2. Akıllı ambalajlama alanında yapılan bilimsel yayın dağılımları.	9
Şekil 2.3. Ticari uygulaması bulunan sıcaklık- zaman ve tazelik indikatörleri.	11
Şekil 2.4. Bazı pH boyaları ve karakteristik özellikleri, (Zhang ve Lim (2018)'den uyarlanmıştır).	14
Şekil 2.5. Metil kırmızısı boyasının protoliz reaksiyonu sonucu renk değişimi.	15
Şekil 2.6. Metil selülozun kimyasal yapısı.	17
Şekil 2.7. PET polimerinin kimyasal yapısı.	20
Şekil 2.8. PE ve LDPE polimerlerinin kimyasal yapısı.	20
Şekil 3.1. Tazelik indikatörü üretim aşamaları.	29
Şekil 3.2. PR ve BTB bazlı tazelik indikatörlerinin üretim akışı ve gıda bozulması sonucunda renk dönüşüm mekanizması.	32
Şekil 3.3. Taşınabilir renk ölçüm cihazı.	33
Şekil 3.4. İndikatör görsellerini kaydetmek için kullanılan portatif tarayıcı.	34
Şekil 3.5. Taşınabilir gaz ölçüm cihazı.	34
Şekil 3.6. HS-SPME ekstraksiyon düzeneği.	36
Şekil 4.1. Farklı boya konsantrasyonları ile doping solüsyonu kullanılmadan üretilen TMA duyarlı tazelik indikatörleri (BCG: Bromokresol yeşili, MR: Metil kırmızısı).	40
Şekil 4.2. Farklı boya konsantrasyonları ile doping solüsyonu kullanılmadan üretilen CO ₂ duyarlı tazelik indikatörleri (BTB: Bromotimol mavisi, PR: Fenol kırmızısı).	41
Şekil 4.3. Farklı boya konsantrasyonları ile HCl doping solüsyonu içeren TMA duyarlı tazelik indikatörleri.	42
Şekil 4.4. Farklı boya konsantrasyonları ile NaOH doping solüsyonu içeren CO ₂ duyarlı tazelik indikatörleri.	43
Şekil 4.5. Simülasyon çalışmasında artan CO ₂ oranına bağlı olarak BTB ve PR indikatörlerinin toplam renk değişimi.	44
Şekil 4.6. 25°C'de 24 saatlik depolama sonunda BTB ve PR içeren dopingli tazelik indikatörlerinin CO ₂ konsantrasyonlarına bağlı olarak renk değişimi.	45
Şekil 4.7. 4°C' de 8 günlük depolama sonunda BTB ve PR içeren dopingli tazelik indikatörlerinin CO ₂ konsantrasyonlarına bağlı olarak renk değişimi.	46
Şekil 4.8. 4°C'de 10 günlük depolama süresince PR içeren tazelik indikatörlerinin (dopingli) CO ₂ konsantrasyonlarına bağlı olarak renk değişimi.	48
Şekil 4.9. 4°C'de 10 günlük depolama süresince BTB içeren tazelik indikatörlerinin (dopingli) CO ₂ konsantrasyonlarına bağlı olarak renk değişimi.	49
Şekil 4.10. CO ₂ simülasyonu süresince (4°C'de 10 gün) BTB ve PR bazlı tazelik indikatörlerinin toplam renk değişimi.	51
Şekil 4.11. TMA kromatogram örneği.	56
Şekil 4.12. TMA kalibrasyon eğrisi.	57

Şekil 4.13. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğsünde mikrobiyolojik sayım sonuçları.....	59
Şekil 4.14. Depolama süresince duysal özelliklere ait örümcek ağı grafiği.	61
Şekil 4.15. Tavuk göğüs etlerinin hava ve %100 N ₂ atmosferinde depolanması sürecinde tazelik indikatörlerinin renk değişimi.	62
Şekil 4.16. Hava ve %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüslerinin depolamanın ilk ve son günlerindeki görselleri.	63
Şekil 4.17. Hava atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüslerinin depolama süresince (4°C, 10 gün) görselleri.	64
Şekil 4.18. %100 N ₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüslerinin depolama süresince (4°C, 10 gün) görselleri.....	64
Şekil 4.19. Depolama süresince artan CO ₂ metaboliti ile indikatörlerin toplam renk farkı arasındaki ilişki.	65

TAVUK ETİNDE TAZELİĞİ İZLEMELİK İÇİN GERÇEK ZAMANLI-pH DUYARLI KOLORİMETRİK AKILLI İNDİKATÖR GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

Bu tez kapsamında tavuk etinin tazeliğini gerçek zamanlı olarak izlemek ve bozulma seviyesini tespit etmek amacıyla renk değişimine bağlı akıllı tazelik indikatörü geliştirilmesi hedeflenmiştir. Tazelik indikatörleri tavuk etinin mikrobiyolojik olarak bozulması sonucunda meydana gelen CO₂ metabolitine hassasiyet gösterecek şekilde 3 katmanlı olarak tasarlanmıştır. Tazelik indikatörlerinin renk değişim katmanında; %1 (a/h) oranında bromotimol mavisi (BTB) ve fenol kırmızısı (PR) boya, bağlayıcı olarak %3 oranında (a/h) metil selüloz (MC), plastikleştirici olarak %1 oranında (a/h) polietilen glikol (PEG-400) ve sodyum hidroksit (NaOH) doping solüsyonu (500µl), iç katmanda düşük yoğunluklu beyaz polietilen (LDPE) ve dış katmanda polietilen tereftalat (PET) filmleri kullanılmıştır. Katmanlar birbirine laminasyon işlemi ile yapıştırılmış ve 3 katmanlı kolorimetrik tazelik indikatörleri hazırlanmıştır.

Geliştirilen tazelik indikatörlerinin CO₂ metaboliti varlığında renk değişimlerini izlemek ve en iyi renk dönüşümünü sağlayan indikatörü tespit edebilmek amacıyla simülasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Simülasyon çalışmaları, gerçek gıda ambalajlama ve depolama koşullarını sağlamak amacıyla akıllı indikatör içeren PA/PE torba ambalajlara %0-30 CO₂ enjekte edilerek ve 4°C'de 10 gün depolama yapılarak yürütülmüştür. Tazelik indikatörlerinin depolama süresince renk değişimleri, portatif bir kolorimetre ile L*, a*, b*, ΔE ve ImageJ yazılımı ile R, G, B, ΔRGB değerleri olmak üzere iki farklı renk ölçüm yöntemi ile tespit edilmiştir. Tazelik indikatörlerinin etkinliğini test etmek amacıyla gıda validasyonu çalışması yapılmış olup bu amaçla tavuk göğüs etleri, poliamid/polietilen (PA/PE) torba ambalajlarda hava atmosferi (%80 N₂ ve %20 O₂) ve %100 N₂ atmosferi altında ambalajlanmış ve 4°C'de 10 gün süreyle depolanmıştır. Validasyon çalışmasında depolama süresince tavuk göğüs etinin kalitesindeki değişimler ve bozulma süreçleri tepe boşluğu gaz kompozisyonu, pH, toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N), trimetilamin (TMA), toplam mezofilik aerobik bakteri, *Pseudomonas spp.* ve duyuşal değerlendirme analizleri ile izlenmiştir. Tazelik indikatörlerinin depolama süresince renk değişimleri L*, a*, b*, ΔE ve R, G, B, ΔRGB değerleri ile belirlenmiştir.

Simülasyon çalışmasının ön deneme sonuçlarına göre en belirgin renk dönüşümü %1 pH boyası içeren dopingli indikatörlerde gözlenmiştir, bu sonuçlara istinaden ana simülasyon denemesi ve gıda validasyonu çalışması bu indikatörler ile yürütülmüştür. Simülasyon çalışmasının ana denemelerinde, BTB ve PR bazlı kolorimetrik tazelik indikatörlerinde CO₂ konsantrasyonundaki artış ile kademeli bir renk değişimi gözlenmiştir. BTB bazlı tazelik indikatörlerinde %10-15 CO₂ konsantrasyonlarında turkuazdan koyu yeşile, %15-30 CO₂ aralığında koyu yeşilden açık yeşile kademeli bir renk değişimi gözlenmiştir. PR bazlı indikatörlerde %5 CO₂ konsantrasyonunda

mordan kırmızıya, %5-30 CO₂ aralığında ise turuncu ve sarımsı-turuncuya renk değişimi gözlenmiştir.

Gıda validasyon çalışmasında, 4°C'de 10 gün süreyle ambalajlanan tavuk göğüs etlerinin raf ömrü hava atmosferi ile ambalajlanan grupta 4 gün, %100 N₂ atmosferi ile ambalajlanan grupta ise 6 gün olarak belirlenmiştir. PR bazlı indikatörlerin rengi her iki atmosferde de mor ile koyu kırmızı arasında değişmiş olmasına rağmen depolama süresince artan CO₂ konsantrasyonu ve diğer kalite parametreleri ile belirgin bir korelasyon göstermemiştir. Her iki atmosferde de PR bazlı tazelik indikatörlerinin toplam renk değişimi değerleri artmasına rağmen bozulma sınırı olarak belirtilen %10-15 CO₂ aralığında tüketici tarafından çıplak gözle ayırt edilebilecek belirgin bir renk geçişi tespit edilmemiştir. Depolamanın başlangıcında koyu mavi olan BTB bazlı indikatörler, depolamanın 2. ve 4. günlerde turkuaz, depolamanın 6. gününde ise koyu yeşil olarak gözlenmiştir. BTB bazlı indikatörde gözlenen bu renk değişimi, diğer kalite parametreleri ve toplam renk değişimi değerleri ile ilişkili bulunmuştur. %100 N₂ atmosferi ambalajında depolamanın 8. gününde %7,03 olarak belirlenen CO₂ konsantrasyonunda BTB bazlı indikatörler turkuazdan biraz daha belirgin bir yeşile renk dönüşümü göstermiştir. BTB bazlı indikatörlerin simülasyon çalışmalarında depolamanın 4. ve 6. günlerinde %10-15 CO₂ konsantrasyonlarındaki turkuazdan koyu yeşile renk değişimi, gıda validasyonunda hava atmosferi altında ambalajlanan indikatörler ile oldukça benzer bulunmuştur. Ancak her iki atmosfer için de PR bazlı indikatörlerdeki renk değişimleri, simülasyon çalışmalarındaki kadar belirgin bulunmamıştır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, BTB bazlı tazelik indikatörlerinde depolama süresince koyu mavi, turkuaz ve koyu yeşil olarak gözlenen 3 aşamalı renk değişimi, tüketicilere "taze, hala taze ve bozulmuş" sinyallerini vererek gıdadaki kalite değişimlerinin gözle görülür şekilde izlenmesini sağlayabilecektir. BTB bazlı tazelik indikatörleri, tavuk ve kanatlı etlerinde gıda kalitesinin gerçek zamanlı olarak belirlenmesinde ve gıda güvenliğinin sağlanmasında endüstriyel ölçekte umut verici bulunmuştur.

DEVELOPMENT OF REAL TIME-pH-SENSITIVE COLORIMETRIC INTELLIGENT INDICATOR TO MONITOR CHICKEN MEAT FRESHNESS

SUMMARY

In this thesis, an intelligent freshness indicator based on color change was developed to monitor the freshness/spoilage of chicken meat in real-time. The freshness indicators were designed in three layers to be sensitive to the CO₂ metabolite occurred due to microbiological spoilage of chicken meat. In the color change layer of the freshness indicators, bromothymol blue (BTB) and phenol red (PR) dyes were used at a ratio of 1% (w/w), along with a 3% (w/w) methyl cellulose as a binder, 1% (w/w) polyethylene glycol (PEG-400) as a plasticizer, and a doping solution of sodium hydroxide (NaOH) (500μl). The freshness indicators were laminated with low-density white polyethylene (LDPE) used in the inner layer and polyethylene terephthalate (PET) films in the outer layer.

Simulation studies were performed to monitor the color changes of the freshness indicators in the presence of metabolites and determine the best indicator formulation by simulating CO₂ concentrations ranging from 0% to 30%. The simulation studies were conducted at 4°C for 10 days to provide real food packaging and storage conditions. The color changes of the freshness indicators images were recorded with a portable scanner and mobile phone camera. The total color change values were determined using two different color measurement methods. L*, a*, and b* values were measured by using a colorimeter method and the total color difference (ΔE) was calculated. Image J software was used to evaluate the color R, G, B, and total color difference (ΔRGB) values were calculated by loading the recorded digital images into Image J software.

To test the functionality of the freshness indicators, a food validation study was conducted at 4°C for 10 day using chicken breast meat, which was packaged in polyamide/polyethylene (PA/PE) with an air (80% N₂ and 20% O₂) and a 100% N₂ atmospheres. During the validation study, changes in the quality parameters of the chicken breast meat were monitored using headspace gas composition, pH, total volatile basic nitrogen (TVB-N), trimethylamine (TMA) concentration with gas chromatography (GC), total mesophilic aerobic bacteria, *Pseudomonas spp.*, and sensory evaluation. The color changes of the freshness indicators during storage were determined using a portable colorimeter with L*, a*, b*, ΔE , and ImageJ software using R, G, B, and ΔRGB values.

According to the pre-simulation results, the most significant color change was observed in colorimetric freshness indicators containing 1% pH dye and doping solution. Therefore, the main simulation and food validation studies were conducted using these freshness indicators. In the main simulation study, a gradual color change was observed with increasing CO₂ concentration in both BTB-based and PR-based colorimetric freshness indicators.

In the case of BTB-based freshness indicators, a gradual color change was observed from turquoise to dark green at CO₂ concentrations of 10-15%, and from dark green to light green in the range of 15-30% CO₂. For PR-based indicators, a color change from purple to red was observed at a 5% CO₂ concentration, and from orange to yellowish-orange in the 5-30% CO₂ range. The ΔE and ΔRGB values for both indicators were found to be associated with the indicator images showing color change as a result of increasing CO₂ concentration.

The % O₂ concentration decreased significantly during storage in the air atmosphere, while it remained stable and low in the 100% N₂ atmosphere ($p \leq 0.05$). The significant increase in % CO₂ concentration was determined in both atmospheres ($p \leq 0.05$). The CO₂ concentration in the air atmosphere increased gradually, reaching 12.89% on the 6th day of storage. The CO₂ concentration in the 100% N₂ atmosphere reached 8.98% at the end of the storage. CO₂ concentration is considered a good indicator of spoilage, as it correlates well with microbial growth.

The pH of fresh chicken breast was 6.12 at the beginning of storage and decreased gradually in both air and 100% N₂ atmospheres. In the air atmosphere, pH of the chicken decreased to 5.86 on the 4th day of storage and then increased to 6.20 on the 8th day ($p \leq 0.05$). Similarly, in the 100% N₂, pH decreased to 5.93 on the 6th day and then increased to 6.04 on the 10th day. The initial pH reduction was attributed to lactic acid formation by microbial growth, while the increase in pH afterwards was likely due to proteolytic enzyme activities of the microbial flora. These enzymes break down proteins and can lead to unpleasant changes in sensory properties of the chicken breast.

The TVB-N values of chicken breasts gradually and significantly increased during storage in both air and 100% N₂ atmospheres ($p \leq 0.05$). TVB-N values were higher in the air atmosphere compared to the 100% N₂ atmosphere. While the initial concentration of TVB-N was 7.67 mg/100 g in the fresh product (day 0) under air atmosphere, it was determined as 19.44 mg/100 g on the 4th day and 28.72 mg/100 g on the 6th day of storage. Similarly, TVB-N increased to 11.51 mg/100 g on the 4th day of storage and determined as 19.35 mg/100 g on the 6th day and reached to 21.90 mg/100 g on the 8th day under 100% N₂ atmosphere. TVB-N is an important metabolite correlated with spoilage of chicken breast meat, and an increase in TVB-N values indicates a reduction in freshness of the chicken meat.

The TMA concentrations of chicken breasts under air and 100% N₂ atmospheres were measured and compared to the upper limit of acceptance suggested for fresh chicken meat. The TMA concentrations gradually increased during storage, but the increments were not statistically significant ($p > 0.05$). The TMA concentration in air atmosphere reached the upper limit of acceptance (2.5 and 2.6 mg N/100 g) on the 6th and 8th day of storage, while for 100% N₂ atmosphere, the TMA concentrations remained below the limit.

Both TMAB and *Pseudomonas spp.* levels significantly increased during storage under both atmospheres ($p \leq 0.05$). The initial TMAB and *Pseudomonas spp.* levels were 3.38 and 3.62 log cfu/g, respectively. The TMAB load reached 5.10 and 6.64 log cfu/g, while the *Pseudomonas spp.* level reached 6.21 and 7.40 log cfu/g on the 4th and 6th day of storage under air atmosphere, respectively. In the 100% N₂ atmosphere, the TMAB level was 6.16 and 6.62 log cfu/g, while the *Pseudomonas spp.* level was 5.96 and 6.88 log cfu/g on the 6th and 8th day of storage, respectively.

The sensory quality of the chicken breast changed significantly during storage in both air and 100% N₂ atmospheres ($p \leq 0.05$). Appearance, odor, texture, and overall

acceptance decreased below the acceptable limit on the 6th day of storage in the air atmosphere, while they remained above the limit in the 100% N₂ atmosphere. The shelf life of the air and 100% N₂ packed chicken breast meats was determined as 4 and 6 days, respectively, based on the CO₂, TVB-N, microbiological, and sensory evaluation. Sensory evaluation scores remained below 3 points after the 4th day in the air atmosphere and the 6th day in the 100% N₂ atmosphere.

The color change of two types of freshness indicators (PR-based and BTB-based) were evaluated during the storage of chicken breast under two different atmospheres (air and 100% N₂). The results showed that both types of indicators had an increase in color difference (represented by ΔE and ΔRGB) with an increase in CO₂ concentration under both atmospheres. For PR-based indicators, the ΔE and ΔRGB values increased gradually up to 25.26 and 87.35, respectively, in air atmosphere and up to 20.71 and 56.66, respectively, in 100% N₂. Meanwhile, BTB-based indicators showed a higher total color difference during the storage period for both atmospheres. The ΔE and ΔRGB value of the BTB-based indicators increased up to 39.95 and 115.86, respectively, in air atmosphere, and up to 32.97 and 89.09, respectively, in 100% N₂ atmosphere. The PR-based indicators changed from purple to dark red on the 2nd day of storage and then to light red-orange on the 6th and 8th days, eventually turning reddish-orange on the 10th day. The BTB-based indicators started as dark blue and turned turquoise on the 2nd day, then green and dark green on the 4th day in both air and 100% N₂. On the 6th day of air atmosphere, the color turned to dark and light green, and on the 8th day of 100% N₂ atmosphere, the color became lighter green. On the 10th day, the BTB-based indicators turned to a light green color with yellow surroundings in both atmospheric conditions.

The total color differences of BTB-based indicators are in a very good correlation with changes in CO₂ concentration and showed a better correlation than PR-based indicators. The increase in CO₂ concentration for both atmospheres during the storage period did not have much effect on the PR-based indicator visuals. The color of the PR-based indicators changed between the purple and dark red, during storage but color transition was not clear during the shelf life, in both of air and 100% N₂ atmospheres. During the storage, visual color changes of the indicators have shown that BTB-based indicators are in a well correlation with changes in quality parameter changes and reflect the freshness level of chicken breast meat simultaneously, in both atmospheres. During the simulation studies, a noticeable color change with naked eye from turquoise to dark green was observed for BTB-based indicators when the CO₂ concentrations reached 10-15% on the 4th and 6th days of storage. Similar color changes were also observed in the indicators packaged under air atmosphere during the subsequent food validation. This indicates a close resemblance between the color change observed in the simulation and food validation studies. Conversely, the color changes observed in PR-based indicators for both atmospheric conditions in food validation were not as pronounced as those observed in the simulation studies. Specifically, the distinct orange-yellow color observed at a CO₂ concentration of 10-15% in the simulation study were not detected during the food validation study.

The BTB-based freshness indicators showed a clear, 3-stage color change during the 6 days of storage under air atmosphere. The colors were dark blue (0-2 days), turquoise (2-4 days), and light green (after 6 days) to signal "fresh, still fresh, and spoiled". A similar color change trend was observed in 100% N₂ atmosphere, with the most significant color change observed between the 8th and 10th days. The color changes under the 100% N₂ were dark blue (0th day), turquoise close to blue (2nd day), turquoise

(4th day), greenish-turquoise (6th day), dark green (8th day), and dark green (10th day). The BTB-based freshness indicators gave a three-stage response to spoilage under both air and 100% N₂ atmospheres while the PR-based freshness indicators did not provide clear color changes for consumers to distinguish spoilage limits with the naked eye.

In conclusion, BTB-based three-layer colorimetric pH-sensitive freshness indicators are more effective in detecting CO₂ metabolite in chicken meat and have a higher potential for use in food packaging. The three-stage color changes observed in the indicators correlated well with spoilage especially considering microbiological and sensory quality. The study also suggested the shelf life of chicken breast meat as 4 days under air atmosphere and 6 days under 100%N₂. BTB-based colorimetric freshness indicators were found to have the potential to be adapted to industrial scale to monitor the freshness/spoilage of chicken meat in real time. The use of freshness indicators is promising for producers and consumers, as it ensures food safety, reduces waste, and promotes traceability and sustainability in the food industry.

1. GİRİŞ

Hayvansal protein kaynağı olan et ve et ürünleri, insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Yüksek oranda protein, vitamin, mineral ve yağ ihtiva eden kırmızı et, tavuk ve balık ürünleri günlük diyetle başlıca enerji kaynağı olarak tüketilmektedir. Diğer et türlerine nazaran daha kolay ulaşılabilen, ekonomik açıdan avantajlı, lezzetli, sindirimi kolay ve yüksek kalitede protein içeren tavuk eti dünya genelinde çokça tercih edilmekte olup tavsiye edilen günlük besin öğelerini karşılayabilir niteliktedir (WHO 2007). Tavuk eti, biyolojik yapısı gereği içerdiği yüksek değerdeki besin öğeleri, karakteristik pH değeri ve su aktivitesi nedeniyle gıdaların bozulmasına neden olan mikroorganizmaların çoğalması için uygun ortam sağlamaktadır (Bayrakal, 2016; Chowdhury ve Morey, 2019). Önemli bir protein kaynağı olan tavuk etinde uygun şartlar altında çoğalan mikroorganizmalar, kesimden kısa bir süre sonra (4°C'de yaklaşık 3-5 gün) veya gıdanın henüz tüketilemeden bozulmasına neden olmaktadır (Kuswandi ve ark., 2017; Tarlak ve Rodríguez, 2021). Tavuk etinde kokuşma, solma, morarma, yapışkanlık şeklinde kendini gösteren bozulma indeksleri fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kalite karakteristiklerinin değişmesinden ileri gelmektedir (Rokka ve ark., 2004). Bozulma süreci, mikrobiyobiyal faaliyetler sonucunda meydana gelen etanol, organik asitler, biyojen aminler, uçucu azot bileşenleri, kükürtlü bileşikler ve karbondioksit gibi metabolitler ile kendini göstermektedir. Tavuk etinin bozulması sırasında hidrojen sülfid (H_2S), karbondioksit (CO_2) ve uçucu organik bileşikler anahtar metabolit rolü oynamaktadır. Özellikle CO_2 , bakteriyel metabolizmanın doğal bir yan ürünü olup tavukta bulunan protein ve yağları parçalayan bakteriler tarafından üretilmektedir (Wen ve ark., 2020; Ruckhon ve ark., 2014; Obaidi ve ark., 2022; Ebrahimi ve ark., 2022). Tavuk eti ve diğer et türlerinin besinsel özelliklerini koruma gayreti, eski çağlardan beri süregelen soğutma, dondurma, kurutma, tuzlama, fermantasyon vb. gıda muhafaza yöntemlerinin geliştirilmesine öncülük etmiştir (Göksun, 2014). Teknolojinin ve bilimin gelişmesi ile gıda muhafaza yöntemleri de bir hayli gelişmiş olup gıdayı koruma, içerme, bilgi verme ve kullanım kolaylığı sağlama fonksiyonlarına sahip olan ambalajlama teknolojisi de ön plana çıkmıştır (Karakuş ve Ayhan, 2019).

Gıda ambalajlama endüstrisi, tüketicilerin taleplerini karşılayabilmek adına geleneksel fonksiyonların ötesinde, yenilikçi yaklaşımlar sergileyerek dünya çapında önemli bir konuma gelmiştir (Obaidi ve ark., 2022). Ambalaj materyalleri ve ambalajlama teknolojisindeki inovasyonlar sayesinde gıdaların raf ömrünün uzatılması, gıdanın depolama süresince uğradığı değişimlerin izlenebilmesi, gıda bozulmalarından kaynaklanan hastalıkların, zehirlenme vakalarının ve ölüm oranlarının düşürülmesi, ekonomik kayıpların önüne geçilebilmesi, gıdanın mevcut durumu ve kalitesi hakkında tüketiciye bilgi sağlanabilmesi gibi fonksiyonlar ambalaja entegre edilmiştir (Muller ve Schmid, 2019; Cheng ve ark., 2022). Bu geliştirilmiş işlevleri taşıyan akıllı ve aktif ambalajlama teknolojileri için son 20 yılda küresel pazar çapında yaklaşık 26,7 milyar ABD dolarına ulaşan yatırımlar yapılmıştır (Schaefer ve Cheung, 2018). Tüm bu gelişmeler, günümüzde tüketici ile iletişim kurarak güvenli gıdaya erişimi kolaylaştıran, soğuk zincirin kırılması veya gıdanın bozulması durumunda renk değişimi ile görsel bir sinyal veren, üretimden tüketime her noktada gıdanın izlenebilirliğini mümkün kılan akıllı ambalajlama teknolojisi oldukça popüler hale gelmiştir (Obaidi ve ark., 2022) Akıllı ambalajlama teknolojisi sayesinde gıdanın taşıma, depolama ve satış sırasında uğradığı değişimler üretici, satıcı ve tüketici tarafından eş zamanlı olarak izlenebilmektedir (Takma ve Nadeem, 2019).

Bir akıllı indikatör çeşidi olan tazelik indikatörleri, üründeki mikrobiyal bozulma veya kimyasal değişiklikler sonucu meydana gelen metabolitlerin varlığında renk değiştirme prensibiyle çalışan görsel araçlardır. Gıdaların kalite parametrelerindeki değişim zaman alıcı, pahalı ve tahribatlı olan geleneksel analiz yöntemleri ile belirlenmektedir. Tazelik indikatörlerinin en büyük avantajları; paketlenmiş gıdanın kalitesinin, tazeliğinin ve güvenliğinin indikatördeki renk değişimi sayesinde tahribatsız (paket bütünlüğü bozulmadan) ve zaman alan analizlere gerek kalmadan çıplak gözle belirlenebilmesidir (Rukchon ve ark., 2014; Morsy ve ark, 2016; Lee ve ark.,2019; Öksüztepe ve Beyazgül, 2015). Geliştirilen bu görsel araçlar sayesinde son tüketim tarihi geçmeden bozulan veya tüketim tarihi geçmesine rağmen satışı devam eden ürünler tespit edilerek gıda güvenliği sağlanabilmektedir. Akıllı ambalajlar yalnızca gıda güvenliğini sağlamak için değil aynı zamanda FAO (2020) verilerine göre her yıl çöpe giden 1,3 milyar ton gıda israfını önlemek için de büyük bir potansiyel ve önem taşımaktadır (Racionero et al., 2017).

Tazelik indikatörleri üzerine gerçekleştirilen bilimsel çalışmalar ve ticari uygulamalar literatürde yer almaktadır. Ülkemizde ise bu konu üzerine yapılan çalışmalar ve uygulamalar sınırlı olmasına rağmen Türk Gıda Kodeksi Gıda ile Temas Eden Madde ve Malzemelere Dair Yönetmelik'te akıllı ambalajlar ile ilgili tüm kurallar ve akıllı ambalajların doğru kullanımı açık bir şekilde belirtilmiştir (T.C. Resmî Gazete, 5 Nisan 2018 Perşembe, sayı: 30382). Yönetmelik doğrultusunda üretilecek bir tazelik indikatörü, hiçbir kimyasal migrasyona izin vermeyecek şekilde tasarlanmalı, belirtilen limit değerleri aşmamalı, vadettiği tüm fonksiyonları yerine getirmeli ve en önemlisi tüketiciyi yanıltmamalıdır. Tüm bu bilgiler ışığında güvenli tazelik indikatörleri çok katmanlı sistemler kullanılarak geliştirilebilmektedir.

Literatürde yer alan tazelik indikatörü çalışmalarında, gıdanın bozulmasına işaret eden renk değişiminin gözlemlenmesi için bromotimol mavisi, metil kırmızısı, bromokresol yeşili ve bromokresol moru gibi sentetik pH boyalarının yanı sıra kurkumin, alizarin, klorofil, mor havuç, hibiskus (roselle) gibi farklı bitkilerden ekstrakte edilen doğal renk pigmentleri kullanılmıştır (Medina-Jaramillo ve ark., 2017; Ezati ve ark.,2019a; Lee ve ark.,2019; Zhang, Bhandari ve Yang, 2019). Doğal boyalar her ne kadar düşük toksisite, biyobozunur, geniş renk skalası gibi özelliklere sahip olsa da zayıf renk stabilizasyonu nedeniyle tazelik indikatörü uygulamalarında yeterli olmamaktadır. Bu nedenle sentetik pH boya ları, yüksek renk stabilizasyonu ve geniş bir renk değişim aralığı sunmaları ile asidik veya bazik türdeki farklı metabolitlere özgü indikatör üretimine daha fazla olanak sağlamaktadır (Obaidi ve ark., 2022; Bao ve ark., 2022; Shao ve ark., 2021).

Endüstriye uyarlanabilir bir indikatör tasarımı için iç ve dış katman olarak kullanılacak materyallerin nem, sıcaklık, ışık, UV gibi çevresel faktörlere dayanıklı olması ve boya içeren renk değişim katmanını migrasyona karşı koruması beklenmektedir. Ancak literatürdeki çalışmaların bazılarında iç katman bazılarında ise arka plan olarak hidrofilik özellikteki filtre kağıdı kullanılmıştır. Katmanların birbirine tutunması ise bir laminasyon prosesi yerine bant ile gerçekleştirilmiştir (Nopwinyuwong ve ark., 2010; Rukchon ve ark., 2014; Morsy ve ark., 2016; Hidayat ve ark., 2019; Ezati ve ark., 2019). Filtre kağıdı yapısı ve özellikleri gereği hiçbir çevresel şarta dayanıklı olmadığı gibi gıda güvenliğini sağlayabilecek ve endüstriye uygulanabilecek nitelikte değildir. Çoğu gıda ambalajında tek başına veya çoklu katmanlar arasında yaygın olarak kullanılan LDPE, PET, PVC, PTFE gibi polimerler gaz geçirgenliği, optik ve

mekanik özellikleri bakımından akıllı indikatörlerin kullanımında istenen fonksiyonları karşılarken ekstra bir maliyete neden olmamaktadır (Chun ve ark., 2014; Baek, ve ark., 2018; Lee ve ark., 2019; Obaidi ve ark.,2022; Choi ve ark., 2023). Akıllı indikatörlerin ve materyallerin özel gereksinimleri göz önüne alındığında renk değişim katmanı, iç ve dış katmanlar ısıl laminasyon, solvent bazlı, solventsiz ve ekstrüzyon laminasyon teknikleri kullanılarak üç katmanlı olarak üretilmektedir (Almasi ve ark., 2022; Obaidi ve ark., 2022; Anukiruthika ve ark., 2020). Gıda güvenliği sistemlerinin gelişimine katkı sağlaması ve kalite parametrelerinin belirlenmesindeki işleyiş kolaylığı nedeniyle kolorimetrik tazelik indikatörleri, tavuk etinin bozulma derecesi hakkında tüketiciye doğrudan bilgi vererek gıda ambalaj endüstrisinde kullanım için büyük bir potansiyel taşımaktadır.

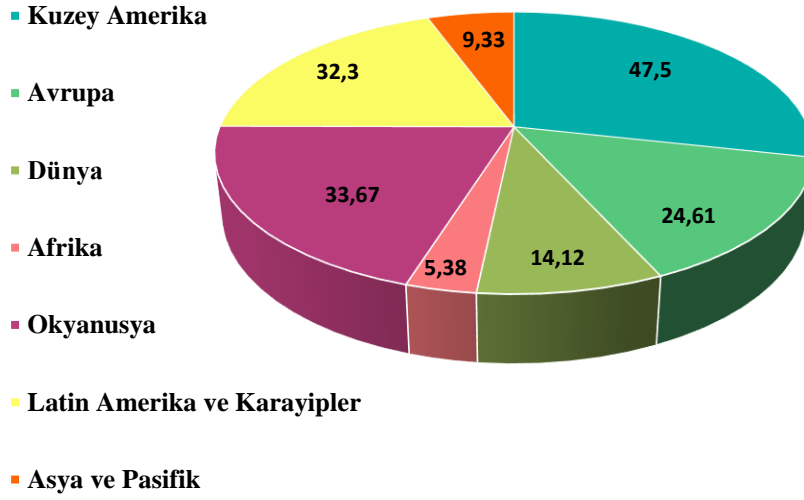
Tez çalışmasının temel amacı; ambalajlı tavuk etinde raf ömrü süresince mikrobiyolojik bozulmalar ve kimyasal değişimler sonucu üretilen metabolitlerin tespit edilerek renk dönüşüm mekanizması ile görsel iletişim sağlayabilme fonksiyonunu içeren, tüketiciye çıplak gözle ayırt edilebilen bir sinyal ile gıdanın mevcut kalitesi hakkında doğrudan bilgi aktaran, gıda güvenliğini artırırken gıda israfının ve ekonomik kayıpların önüne geçen, gıda kaynaklı hastalıkların ve zehirlenme vakalarının azalmasına katkı sağlayan, endüstriyel üretim potansiyeline sahip çok katmanlı bir tazelik indikatörü geliştirilmesidir. Akıllı ambalajlama teknolojisinin önemli bir parçası olan tazelik indikatörleri, gıdanın bozulma seviyesi hakkında tüketiciye doğrudan bilgi sağlayarak kaliteli ve güvenli gıdaya ulaşımı kolaylaştırmaktadır. Bu kapsamda; hedef metabolit olan CO₂'ye duyarlı renk dönüşümü gösteren ve pKa değeri yüksek olan bromotimol mavisi ve fenol kırmızısı pH boyalarının su bazlı metil selüloz matrisi içine hapsedilmesi ile elde edilen renk değişim katmanının, metabolit difüzyonuna izin veren LDPE iç katmanı ve tazelik indikatörünü çevresel etmenlerden koruyan PET dış katmanı arasına tutkal laminasyonu ile güvenilir bir tazelik indikatörü geliştirilmesi hedeflenmektedir. Geliştirilen indikatörler gerçek ambalajlama ve depolama koşullarında (4°C'de 10 gün) tavuk etinde tazeliği izlemek için test edilecektir.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1. Tavuk Eti ve Beslenme Açısından Önemi

İnsanlığın varoluşundan beri avcılık ve toplayıcılık yoluyla elde edilen et, yüksek besin içeriği sayesinde besin zincirinin temel gıdalarından biri olmuştur. Protein, yağ, vitamin, mineral, kollajen gibi besinsel değerleri bir arada bulunduran et ve et ürünleri, insan beslenmesinin vazgeçilmez ögesi haline gelmiştir. Genel olarak kırmızı et ve beyaz et (kanatlı eti ve balık) olarak ikiye ayrılan et türleri, kimyasal kompozisyon ve besinsel içerik bakımından farklılık göstermektedir (Klaschne ve ark., 2020). Beyaz etler, yüksek protein ve düşük yağ içeriği nedeniyle günlük diyetle önemli bir besin kaynağı olarak tüketilirken aynı zamanda kırmızı ete göre daha az maliyetli olması nedeniyle tüketici tarafından da tercih edilmektedir (Tarlak ve Rodríguez, 2021). Tavuk etinde bulunan yüksek protein insan vücudunun gelişmesi, onarımı ve bakımı için gereklidir. Ayrıca demir, çinko, selenyum, fosfor, magnezyum, askorbik asit, A ve B vitaminleri gibi önemli besin maddeleri açısından da zengin olan tavuk eti, özellikle gelişme çağındaki çocuklarda zekâ ve beden gelişimine katkı sağlamaktadır (Chimel ve ark., 2019; Bayrakal, 2016).

Gelişen dünya nüfusu ve ekonomik şartlardaki zorluklar, diğer et türlerine kıyasla daha ekonomik olduğu için tavuk etine olan talebin artmasına neden olmuştur (Ghollasi-Mood ve ark., 2016). FAO 2020 verilerine göre 2000 yılından bu yana tavuk üretiminde yaklaşık %45'lik bir artış tespit edilmiştir ve 2020 yılında üretilen 337 milyon ton etin yarısından fazlasını tavuk eti temsil etmektedir (FAO 2020). Ancak Pazar talebini karşılamak için üretilen yüksek orandaki tavuk etinin ne yazık ki her yıl %20'den fazlası israf edilmektedir (Racionero et al., 2017). İsrafin bu denli yüksek olması; kimyasal ve mikrobiyolojik bozulmalar, yanlış depolama, soğuk zincirdeki kırılmalar, kesimden sonraki bekleme süresi, kesimhane ortamının ve materyallerin sterilizasyon eksikliği gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır (Mildivanlı, 2014). Ekonomik İş Birliği ve Kalkınma Örgütü'nün (OECD) 2019 yılı araştırmalarına göre, dünya çapında kişi başı tavuk tüketimi verileri Şekil 2.1'de yer almaktadır.



Şekil 2.1. Dünya çapında kişi başı yıllık tüketilen tavuk oranı (%).

Son yıllarda küresel ölçekte sürdürülebilir yaşam ve sıfır atık yaklaşımları giderek önem kazanmaktadır. Bu yaklaşımların artması, tüketicilerin alışveriş yaparken daha bilinçli davranmasına ve ihtiyacı kadar ürün satın alarak gıda israfının azaltılmasına yardımcı olmaktadır.

2.2. Tavuk Etinin Bozulma Mekanizması

100 gramında %21,3 protein, %4,5 yağ ve %72,2 su içeren çiğ tavuk eti, besinsel kompozisyonu ve 0,98'lik su aktivitesi nedeniyle mikroorganizma faaliyetlerine oldukça açık olup kesimden sonra kısa bir süre içinde bozulmaktadır (Yücesoy ve Kaya, 2022). Farklı pH ve a_w seviyelerinde metabolik aktivite gösteren mikroorganizmalar, uygun çevresel şartlarda (sıcaklık, oksijen varlığı, nem varlığı vb.) hem gelişmekte hem de enzim üretmektedir. Bozulmadan sorumlu olan mikroorganizma türleri, glukoz ve aminoasitleri parçalayarak tavuk etinin yüzeyinde veya iç dokularında baskın mikroflora haline gelmektedir. Karakteristik mikrofloranın oluşmasında; *Pseudomonas spp.*, *Salmonella*, *Shewanella putrefaciens*, *Enterobacter*, *Moraxella spp.*, *Corynebacter*, *Staphylococcus*, *Leuconostoc carnosum*, *L. Gelidium*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Clostridium laramie*, *Enterococcus* ve laktik asit bakterileri (LAB) etkin rol oynamaktadır (Mildivanli, 2014). Gıdadaki baskın mikrofloranın ürettiği enzimler, birçok metabolitin ortaya çıkmasına neden olup tavuk etinin koku (sülfür veya amonyak kokusu), tat (ransit tat), tekstür (polimer bozulması, yapışkanlık) gibi özelliklerinde istenmeyen değişikliklere yol açmaktadır (Erol, 2007).

Bu metabolitlerin başında gelen biyojenik aminler, uçucu aminler, kükürtlü bileşikler ve CO₂ tavuk eti kalitesini önemli düzeyde düşürerek gıda bozulmasına işaret etmektedir.

Birçok bakteri ve mantar türü (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.*, *Aspergillus*, *Penicillium* vb.) sahip oldukları proteaz enzimi sayesinde farklı reaksiyonları kataliz etme yeteneğine sahiptir. Bu reaksiyonlardan biri, bir aminoasit molekülünden amino grubunun çıkarılması ile amonyak, hidrojen sülfid, organik asit, karbondioksit, merkaptan, homosistein gibi metabolitlerin oluşumuna neden olan deaminasyon reaksiyonudur. Deaminasyon reaksiyonu sonucunda oluşan metabolitler, yıkılan aminoasite göre değişkenlik göstermekte ve bunlardan bazıları toksik özelliğe sahip olabilmektedir. Özellikle glutamat, glutamin, aspartat ve aspargin aminoasitlerinin oksidatif deaminasyonunda en fazla oluşan metabolit CO₂'dir (Wu ve ark.,2021). Taze kanatlı etlerinde sayıları düşük olsa da *Pseudomonas* türleri, özellikle aerobik koşullarda ve soğuk muhafazada hızlıca çoğalarak geniş bir yayılım gösterirler. *Pseudomonas* türleri, çoğu bakteri gibi nötral pH değerlerinde oldukça iyi gelişmekte olup geniş pH aralıklarında üreyebilen türleri ve izolatları bulunmaktadır (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* vb.) (Maytar ve ark., 2008). *Pseudomonas spp.* ve *Shwanella putrefaciens* tavuk etinde bozulma göstergesi olarak sülfid kokusu oluşturmaktadır (Aksan,2010). Gıdanın kalitesini ve tüketilebilir olmasını etkileyen bu metabolitlerin hızlı ve doğru bir şekilde belirlenmesi son derece önemlidir.

Gıda bozulmasının anlaşılacağı durumlarda tüketim sonucu ciddi sağlık problemleri ve ölüm vakaları ortaya çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, gıda kaynaklı hastalıklar her yıl dünya çapında tahmini 600 milyon hastalığa ve 420.000 ölüme yol açmaktadır. Ortaya çıkan birçok gıda kaynaklı hastalık vakası bildirilmediği veya teşhis edilmediği için sorunun ne denli büyük olduğu anlaşılmamaktadır. Ayrıca düşük ve orta gelirli ülkelerde gıda kaynaklı hastalıkların insidansı daha yüksektir ve gıda kaynaklı hastalıklar küresel olarak eşit bir şekilde dağılmamaktadır (Havelaar ve ark., 2015). COVID-19 pandemisi, gıda ve diğer ürünlerin ambalajlanmasının önemini arttırmıştır. Tüketiciler, virüsün yüzeylerde ne kadar süre hayatta kalabileceği konusunda endişelenmiş, gıdanın ve ambalajın hijyeni konusunda daha duyarlı hale gelmiştir. Bu nedenle son yıllarda, gıda güvenliği için uygun ambalajlama yöntemlerini içeren ürünlerin satın alınması önem kazanmıştır (Mihindukulasuriya ve

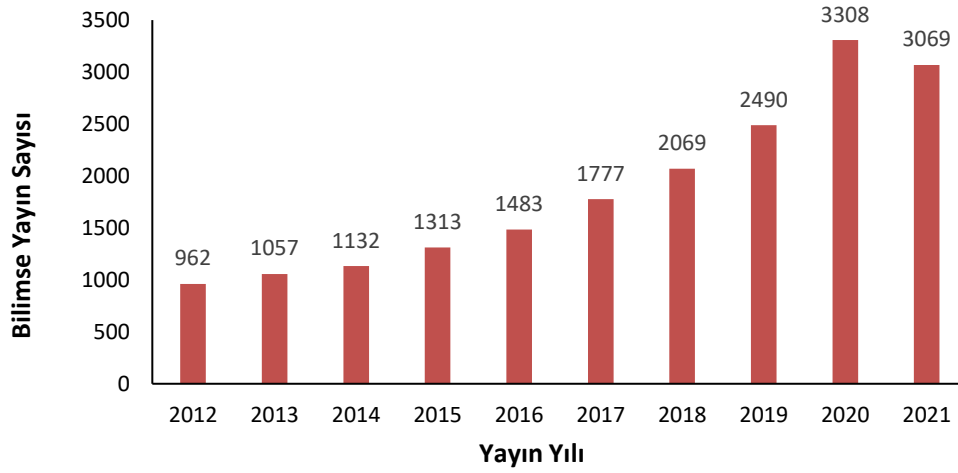
Lim, 2021). Gıda güvenliğini artırma amacı ile geliştirilen akıllı ambalajlama teknolojisi, geleneksel ambalajların tüm gerekliliklerini yerine getirmekle beraber izleme, kaydetme, iletişim kurma ve algılama fonksiyonlarını da içermesiyle ambalaj endüstrisi için büyük bir potansiyel taşımaktadır.

2.3. Akıllı Ambalajlama Teknolojisi

Genel tanımı ile ambalaj; ürünü muhafaza etmek, olumsuz dış etkilerden ve nakliyeden kaynaklanan hasarlardan korumak, depolamayı kolaylaştırmak ve içerdiği ürün hakkında bilgi vererek müşterilerle iletişim kurmayı sağlayan sistemdir (Robertson, 2016). Geleneksel bir gıda ambalajının temel işlevi, gıdanın üretiminden tüketimine kadar geçirdiği tüm aşamalarda kalite ve güvenliğini sağlayarak gıda kalitesini olumsuz etkileyebilecek oksijen, nem, ışık, basınç, kimyasal veya mikrobiyolojik bulaşmaya karşı içerdiği ürünü korumak ve raf ömrünü uzatmaktır. Geleneksel gıda ambalajının ikincil işlevi ise şekil ve tasarım ile diğer alternatifler arasında fark yaratarak müşterinin ilgisini çekmektir (Ozcan, 2020). Son yıllarda tüketicilerin gıda kalitesi konusundaki hassasiyeti ve bilinci artmış olmakla birlikte gıda ambalajına olan bakış açısı değişmiştir. Değişen tüketici tercihleri, teknolojideki yenilikler ve güvenli gıdaya ulaşmaktaki zorluklar, gıdanın mevcut durumu hakkında bilgi veren ve izlenebilirliğini mümkün kılan akıllı ambalaj teknolojisine olan ilginin artmasına neden olmuştur (Chen ve ark., 2020).

Geleneksel ambalajlamadan farklı ve gelişmiş niteliklere sahip olan akıllı ve aktif ambalajlama teknolojileri oldukça karıştırılmaktadır. Aktif ambalajlama, ambalaja dâhil edilen oksijen emici, nem emici, antimikrobiyal bileşenler vb. materyaller sayesinde interaktif özelliklere sahip bir teknolojidir (Drago, 2020). Aktif ambalajlama, patojen ve zararlı mikroorganizmaların gelişmesini engelleyerek ürünün fiziksel, kimyasal, biyolojik kalitesini koruma ve raf ömrünü uzatmayı amaçlamaktadır. Akıllı ambalajlama ise iletişim kurma niteliği sayesinde tedarik zinciri süresince üretici, satıcı ve tüketiciye doğrudan bilgi aktaran, gıdayı ve gıdayı çevreleyen ortamı izleyerek ürünün mevcut durumu hakkında bilgi veren, çevresel faktörlere karşı tepki gösteren ve gıda güvenliği hakkında bilgi sağlayan bir ambalajlama teknolojisidir. Son yıllarda bu teknolojiye artan ilgi, bilimsel çalışmalar üzerinde de büyük bir etki yaratmıştır. Şekil 2.2’de görüldüğü gibi Google Scholar

verilerine göre son 9 yılda (2012-2021) “intelligent packaging” anahtar kelimesi ile yazılmış yaklaşık 20000 bilimsel araştırma makalesi bulunmaktadır.



Şekil 2.2. Akıllı ambalajlama alanında yapılan bilimsel yayın dağılımları.

Akıllı ambalajın iletişim fonksiyonu elektronik, mekanik, kimyasal veya çevrimiçi teknolojilerden en az biri ile sağlanmaktadır (Ozcan, 2020). Gıda kalitesini izlemek için kullanılan akıllı ambalajlama teknolojisi sensörler, radyo frekanslı tanımlama etiketleri (RFID) ve indikatörler olmak üzere 3 ana sistemden oluşmaktadır (Kerry ve ark., 2006). Her bir sistemin kendi içinde farklı amaçlar ve ürün grupları için geliştirilen çeşitleri bulunmaktadır. Farklı çalışma mekanizmalarına sahip olan bu sistemler sayesinde gıdaların bozulma süreçleri, metabolit üretimleri, kalite kontrolü, depolama ve tedarik zinciri takibi zaman alıcı analizlere ve yüksek maliyetlere gerek kalmadan doğrudan belirlenebilmektedir (Demirel, 2018). Akıllı ambalaj çeşitleri, kullanım amaçları ve genel özellikleri Tablo 2.1’ de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Akıllı ambalaj çeşitleri ve kullanım alanları.

Akıllı Ambalaj	Çeşitleri	Kullanım Amacı	Hedef Gıdalar	Ticari Uygulama
Sensörler	Gaz Sensörleri	Gaz sızıntısı takibi	MAP ve vakum paketlenmiş gıdalar	OxySense® O2xyDot®O2
	Biyosensörler	Kontaminasyon takibi	Et ve süt ürünleri Meyve ve sebzeler	Toxin Guard®
İndikatörler	Sıcaklık-Zaman İndikatörleri	Depolama sıcaklığının takibi	Soğukta depolanan ve dondurulmuş gıdalar	PakSense® 3M Monitor®
	Tazelik İndikatörleri	Gıdalarda bozulma takibi	Et ve et ürünleri Çabuk bozulan gıdalar	Fresh Tag® To-Genkyo®
	Gaz İndikatörleri	Gaz sızıntısı takibi	MAP ve vakum paketlenmiş gıdalar	Ageless-Eye® Tufflex GS®
RFID Etiketler	RFID Etiketler	Depolama ve tedarik zinciri takibi	Paketli tüm gıdalarda	Impinj Smartrac Technology

Reseptör ve transformatörden oluşan sensörler, fiziksel veya kimyasal enerji formundaki bilgileri analitik bir sinyale dönüştürerek ürün hakkında bilgi sağlamaktadır (Puligundla ve ark., 2012). RFID etiketler, elektromanyetik dalgaları kullanarak bir okuyucu yardımıyla etiketle iletişim kurulmasını ve elektronik bilgi akışı sağlayan sistemlerdir. RFID etiketler genellikle ürün takibi ve tedarik zinciri yönetimi, ürün içeriğinin öğrenilmesi, doğru depolama sıcaklığının sağlanıp sağlanmadığı, raf ömrü tespiti gibi alanlarda kullanılmaktadır (Athauda ve Karmakar, 2019). Akıllı indikatörler bu teknoloji içinde en büyük potansiyele sahip olan ve en inovatif sistemlerdir. Ürünün fiziksel özelliklerini ya da mevcut durumunu takip etmek, tüketiciye ürün hakkında doğrudan bilgi sağlamak için geliştirilen akıllı indikatörler gıda, ilaç, kozmetik gibi pek çok alanda kullanılabilir (Cheng ve ark., 2022). Gaz indikatörleri, sıcaklık-zaman indikatörleri ve tazelik indikatörleri olmak üzere 3 farklı çeşidi bulunan bu sistemlerin en önemli özelliği, gıdanın bozulma veya tazelik seviyesi hakkında tüketiciye görsel bir sinyal sunmasıdır. Gaz indikatörleri genellikle paket içerisinde yer alan oksijen veya karbondioksitte sızıntı olup olmadığını tespit etme amacı ile kullanılmaktadır (De Jong ve ark., 2005). Sıcaklık- zaman indikatörleri (TTI), gıdanın bulunduğu mevcut sıcaklığı ya da önceden belirlenen sıcaklık eşiği hakkında bilgi sağlamaktadır. Bu akıllı indikatör çeşidi özellikle soğuk zincirin çok daha önemli olduğu et, tavuk, balık, süt ürünleri

gibi çabuk bozulan gıdaların depolama, dağıtım ve taşıma sırasında maruz kaldığı sıcaklıkları tespit etmek için kullanılmaktadır (Bayrakal, 2016). Tazelik indikatörleri, gıdanın kalitesi hakkında tüketicinin doğrudan bilgi edinmesini sağlamaktadır. Üründe kimyasal veya mikrobiyolojik bozulma sonucunda meydana gelen farklı metabolitlerin varlığını tespit eden ve renk değişim mekanizması sayesinde tüketici ile iletişimi sağlayan tazelik indikatörleri, akıllı ambalajlama teknolojisi içerisinde önemli bir yere sahiptir. Ticari uygulaması bulunan bazı akıllı indikatör örnekleri Şekil 2.3’ te verilmiştir.



Şekil 2.3. Ticari uygulaması bulunan sıcaklık- zaman ve tazelik indikatörleri.

Tazelik indikatörleri, gıdada bozulma sonucu oluşacak metabolitler arasından belirli bir hedef metabolit seçilerek ona özgü olarak tasarlanmaktadır. İndikatörün üretiminde, hedef metabolitin özellikleri göz önüne alınarak malzeme seçimi (boya, bağlayıcı, polimer vb.) yapılmaktadır. Tazelik indikatörü sistemleri, tasarımları, özellikleri ve literatürde yer alan bilimsel çalışmaların detayları 2.3.1 başlığı altında incelenmiştir.

2.3.1. Tazelik indikatörü sistemleri

Normal şartlarda ambalajlı bir gıdanın üretim, dağıtım veya depolama süresi boyunca kalite parametrelerindeki değişimi belirlemenin tek yolu, geleneksel analiz yöntemlerini kullanmaktır. Gıdanın kalite parametrelerinde meydana gelen değişikliklerin perakendeciler ya da tüketiciler tarafından değerlendirilmesi neredeyse imkânsızdır. Tazelik indikatörlerinin en büyük avantajı, paketlenmiş gıdaların kalitesinin paket bütünlüğü bozulmadan ve zaman alıcı analizlere gerek kalmadan eş zamanlı olarak belirlenebilmesidir. Tazelik indikatörü sistemlerindeki ana konsept,

gıdanın bozulma sürecinin hangi aşamasında olduğunu indikatördeki renk değişimi sayesinde çıplak gözle takip edebilmektir (Rawdkuen ve Kaewprachu, 2019). Tazelik indikatörleri, genellikle tek bir hedef metabolitin varlığında renk değiştirerek gıdanın kalitesi ve bozulma derecesi hakkında bilgi vermektedir. Bu nedenle, indikatörün algılayacağı hedef metabolit konsantrasyonu ile kullanılan boyaların/kimyasalların renk değişimi arasında yüksek bir korelasyon olmalıdır. Gıda güvenliğini tehlikeye atacak boya veya kimyasal migrasyonu çok katmanlı sistemler ile engellenmelidir. Ayrıca, Avrupa’da akıllı ambalajlama üzerine yayınlanan mevzuatta (Tüzük 450/2009 /EC ve Tüzük 1935/2004 /EC) bir akıllı ambalajın tüketicileri doğru bir şekilde yönlendirmesi gerektiği bildirilmiştir. Bu bağlamda, bir tazelik indikatörü metabolite özgü olmalıdır ve renk değişimleri net bir şekilde gıdanın bozulma durumu hakkında tüketiciye bilgi sağlamalıdır. Aksi takdirde ürün güvenliği ihlal edilerek tüketiciyi yanıltabilecek sonuçlar ortaya çıkacaktır (Demirel, 2016; Muller ve Schmid, 2019).

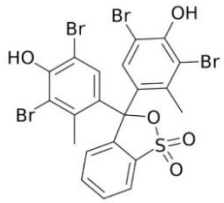
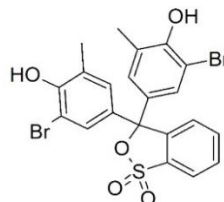
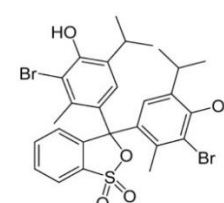
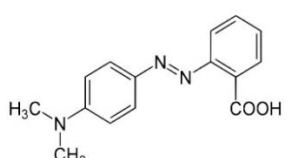
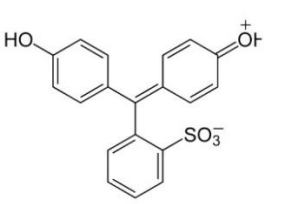
Gıdalardaki bozulma süreci özellikle kısa sürede tüketilmesi gereken, besin içeriği yüksek gıdalarda mikrobiyobiyal gelişme sonucunda meydana gelen etanol, organik asitler, biyojen aminler, uçucu azot bileşenleri, kükürtlü bileşikler ve karbondioksit gibi metabolitler ile kendini göstermektedir. Tazelik indikatörleri çalışma prensiplerine göre; pH değişimine, uçucu azot bileşiklerine, hidrojen sülfüre (H_2S) ve mikrobiyal metabolitlere duyarlı olmak üzere 4 ana grupta incelenmektedir (Gök, 2007). pH değişimine duyarlı indikatörler, bozulma sonucunda ambalajın tepe boşluğunda toplanan uçucu aminlerin (trimetil amin, dimetil amin, metil amin vb), sülfite içeren bileşiklerin, CO_2 ’nin varlığında indikatörün renk değiştirmesi prensibiyle çalışmaktadır (Öksüztepe ve Beyazgül, 2015). Uçucu azot bileşiklerine duyarlı indikatörlerde, etikete yerleştirilen ve bu metabolite duyarlı olan reaktif fitil ile ambalajın tepe boşluğunda biriken metabolit indikatör tarafından algılanır ve renk dönüşümü ortaya çıkar (Smolander, 2003). Hidrojen sülfite (H_2S) duyarlı indikatörlerin çalışma prensibi ise H_2S ile miyogloblin arasında gerçekleşen kimyasal reaksiyon sonucundaki renk değişimi ile bozulma derecesinin belirlenmesine dayanmaktadır (Ghaani ve ark., 2016). Mikrobiyal metabolitlere duyarlı indikatörler etanol ve diasetil gibi metabolitlere duyarlı olacak şekilde tasarlanmaktadır. İndikatör tasarımında etanol tespiti için alkoloksidaz ve kromajenik bir substrat, diasetil tespiti içinse diasetil bazlı boyalar kullanılmaktadır (Öksüztepe ve Beyazgül, 2015).

Uçucu bileşiklerin aksine CO₂ metaboliti için gaz kromatografisi gibi zaman alıcı ve pahalı analizlere gerek duyulmadan gaz analizörü gibi pratik ve basit yöntemler ile metabolit miktarı tespit edilmektedir. Bu durum, CO₂ metabolitine duyarlı bir tazelik indikatörünün geliştirilmesini kolaylaştırmaktadır.

2.3.2. Tazelik indikatörü tasarımında kullanılan materyaller

2.3.2.1. Boyalar

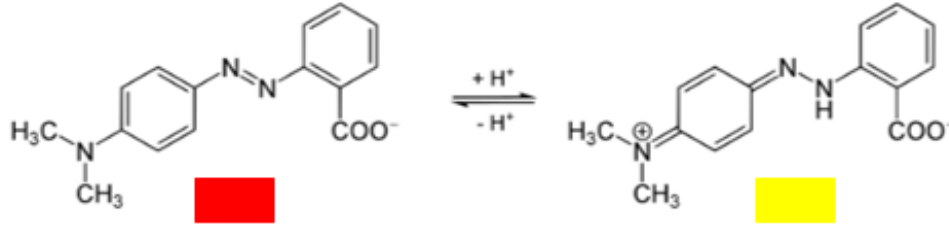
Tazelik indikatörü tasarımındaki ilk adım hedef metabolite uygun boyayı seçmektir. Bu indikatörlerin temel prensibi olan renk değişimi, hedef metabolit varlığında aktive olan ve gıdanın bozulma derecesini doğru bir şekilde temsil edecek boya ile sağlanmaktadır. Tazelik indikatörlerinin tasarımında genellikle bromokresol yeşili, bromokresol moru, bromotimol mavi, metil kırmızısı, fenol kırmızısı gibi sentetik pH boyları kullanılmaktadır (Rukchon ve ark., 2014; Lee ve ark., 2019; Kim ve ark., 2022; Choi ve ark., 2023). Bu boyalar, ortamın asidik veya bazik olmasına göre belirli bir pH aralığında hassasiyet göstermektedir. Gıdaların bozulması sonucunda değişen pH değeri, bu boyalar tarafından hızlı bir şekilde algılanarak indikatörün renginin değişmesini ve görsel bir sinyal oluşmasını sağlamaktadır. (Alfaro ve ark., 2019). Örneğin fenol kırmızısı 6,4-8,0 pH aralığında sarıdan kırmızıya renk, bromokresol yeşili 3,8-5,4 pH aralığında sarıdan maviye renk değişimi göstermektedir. İndikatör üretiminde kullanılacak pH boyları, indikatörün algılayacağı hedef metabolitin asidik veya bazik özelliğine göre seçilmelidir. Örneğin, CO₂ gibi asidik bir metabolitin algılanması için pH değeri yüksek boyalar, NH₃ gibi bazik bir metabolit için ise pH değeri düşük boyalar kullanılarak net bir renk dönüşümü sağlanmaktadır (Zhang ve Lim, 2018). Literatürde sıklıkla kullanılan pH boyları ve özellikleri Şekil 2.4'te verilmiştir.

pH boyası	Halka yapısı	pH aralığı	pKa	Renk dönüşümü
Bromokresol yeşili (BCG)		3.8 – 5.4	4.8	Sarı - Yeşil - Mavi
Bromokresol moru (BCP)		5.2 - 6.8	6.3	Sarı – Mor - Menekşe
Bromotimol mavisi (BTB)		6 – 7.6	7.0	Sarı – Yeşil – Mavi
Metil kırmızısı (MR)		4.4 – 6.2	5.1	Kırmızı – Turuncu- Sarı
Fenol kırmızısı (PR)		6.8 – 8.2	8.0	Sarı – Kırmızı – Pembe

Şekil 2.4. Bazı pH boyaları ve karakteristik özellikleri, (Zhang ve Lim (2018)'den uyarlanmıştır).

pKa değeri, bir molekülün su içindeki iyonlaşma ya da protoliz (proton kaybı ve kazanımı) yeteneğini göstermektedir. Asidik ve bazik türlerin ne kadar zayıf veya ne kadar güçlü olduğunu ölçmek için kullanılan pKa sabiti, boya seçiminde pH kadar önemli bir etkidir. Farklı pH aralıklarında aktivite gösteren bu boyaların pKa değerleri, genellikle minimum ve maksimum pH değerleri arasında yer almaktadır. Metabolit ile pH boyası arasındaki protonlanma veya deprotonlanma reaksiyonu sonucunda renk değişimi gözlenmektedir. Hedef metabolitin pH boyası ile etkileşime girmesi sonucu boyada proton ve H⁺ kazanımı veya kaybı olabilmektedir. Proton kazanımı veya kaybı sonucunda pH boyasında yer alan moleküler bağların yapısı değişmekte ve bir renk dönüşümü ortaya çıkmaktadır. pH boyalarının kullanıldığı

tazelik indikatörlerinde renk dönüşümü, gıda bozulması sonucu ortaya çıkmaktadır. Örnek olarak metil kırmızısı pH boyasının proton kazanma ve kaybetme durumundaki renk değişim reaksiyonu Şekil 2.5' te verilmiştir (Demirel, 2016).



Şekil 2.5. Metil kırmızısı boyasının protoliz reaksiyonu sonucu renk değişimi.

pH boyalarının renk değiştirme yetenekleri, içerdikleri fonksiyonel gruplara göre farklılık göstermektedir. Bu boyalar, moleküllerindeki iyonizasyonu etkileyen gruplar sayesinde farklı pH seviyelerinde farklı renklere sahiptirler. Metil kırmızısı, fenol kırmızısı, bromofenol mavisi azo (-N=N-) grubu içerirken bromokresol yeşili, bromokresol moru ve bromotilmol mavisi sülfonatlı triarilmetan bileşikleri arasında yer almaktadır (Guo ve ark., 2023).

Literatürde bitkilerden ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen doğal boyaların kullanıldığı tazelik indikatörü çalışmaları da mevcuttur. Kurkumin, alizarin, antosiyaninler, tatlı patates, mor havuç literatürde en çok kullanılan doğal boyalardır (Ezati ve ark., 2019; Zhang, Bhandari ve Yang, 2019). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, meyve ve sebzelerden ekstrakte edilen antosiyaninlerin renk değişimini temsil etmede en başarılı doğal boya olduğu bildirilmektedir (Wu ve ark., 2021; Franco ve ark., 2021; Gomes ve ark., 2022). Genellikle biyobazlı veya biyobozunur akıllı indikatörler için tercih edilen doğal boyalar, düşük toksisiteye ve doğada yüksek biyolojik çözünmeye sahip olsalar da renk stabilizasyonu ve çevre şartlarına karşı (sıcaklık, nem, UV vb.) dirençleri zayıftır. Bu özellikleriyle doğal boyalar, kararlı yapıda bir doğal matris (nişasta, selüloz, kitin vb.) gerekliliği ve iç ve dış katmanlarda kullanılması gereken biyobozunur polimerlerin arzu edilen bariyer özellikleri karşılamaındaki zorlukları nedeniyle endüstriyel bir indikatör üretimi bakımından daha düşük potansiyele sahiptir (Liu ve ark., 2020). Bu nedenle pH boyalarına nazaran indikatör tasarımlarında doğal boyaların kullanımı sınırlı olmaktadır (Obaidi ve ark., 2022). pH boyalarının kullanıldığı bilimsel çalışmalar 2.4. başlığı altında verilmiştir.

2.3.2.2. Bağlayıcılar

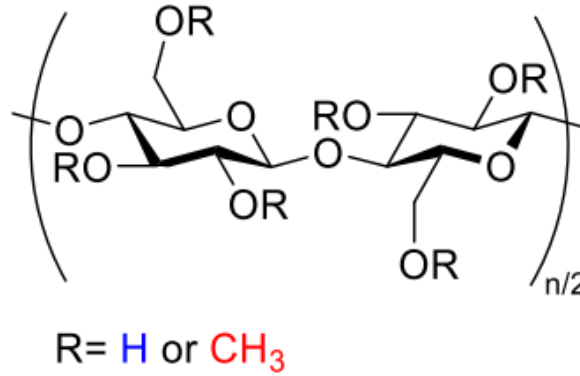
Tazelik indikatörlerinin metabolit varlığındaki tepkisi yalnızca boyaya değil aynı zamanda renk değişim tabakasının bileşimine de bağlıdır. Bir renk değişim katmanı; boya, bağlayıcı ve katkı maddelerinden (plastikleştirici, pH düzenleyici vb.) oluşmaktadır. Akışkan durumdaki boya solüsyonu, bağlayıcı materyal içine hapsedilerek viskozite artırılmakta ve yeni bir katman oluşmaktadır (Abolghasemi ve ark., 2016). Bağlayıcı materyallerin temel işlevi, indikatör üretiminde kullanılan boyayı fiziksel, enzimatik veya kimyasal bağlar ile hareketsizleştirerek (immobilize) boyanın sızmasını önlemektir (Alfaro ve ark., 2019). Ancak adsorpsiyon gibi fiziksel bir bağlanma yönteminde, boya sızıntısı sorunuyla karşılaşılabilen ve indikatördeki boya konsantrasyonunun azalması sonucunda indikatörün algılama hassasiyeti düşebilmektedir (Zhang ve ark., 2020). Bu nedenle kimyasal bağlanma yöntemlerinden biri olan kovalent bağlanma ile elde edilen renk değişim katmanı daha güvenli ve etkili olmaktadır. Tazelik indikatörlerinde kovalent bağlanma genellikle, substratın (indikatörün yerleştirildiği materyal) yüzeyindeki amino grupları veya karboksil grupları ile bağlayıcı materyal arasındaki reaksiyon sonucunda ortaya çıkmaktadır. Kovalent bağlanma yöntemi, tazelik indikatörlerinin substrat yüzeyine daha uzun süre tutunmasını sağlayarak indikatörün yüzeyden kopması veya uzaklaşması riskini azaltmaktadır. Bu yöntem ayrıca, bağlayıcının substrat yüzeyinde homojen bir şekilde dağılmasını ve düşük bağlayıcı miktarları ile yüksek performans sağlanmasını da mümkün kılmaktadır (Sharma ve ark., 2003).

Tazelik indikatörü çalışmalarında su bazlı ve solvent bazlı bağlayıcılar kullanılmaktadır (Rukchon ve ark., 2014; Chen ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2018). Su bazlı bağlayıcılar su içinde çözünen polimerler veya reçinelerdir. Bu tür bağlayıcılar, su ile inceltip kolayca uygulanabilen ve daha sonra hava ile kurutulabilen boyaların veya kaplamaların üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Su bazlı bağlayıcıların çevre dostu olduğu ve düşük VOC (uçucu organik bileşikler) emisyonu ile daha güvenli olduğu düşünülmektedir. Solvent bazlı bağlayıcılar ise, organik çözücüler içinde çözünebilir reçinelerdir. Bu tür bağlayıcılar, solventin hızlı buharlaşmasıyla yüzeyi kaplayan katı bir film haline gelmektedir. Solvent bazlı boyaların ve kaplamaların kullanımı, VOC emisyonları nedeniyle çevre dostu değildir, yanıcı ve patlayıcı olabilen solventlerin kullanımı güvenlik riski taşımaktadır (Mills ve Skinner, 2010). Bu bağlamda selülozik, polimerik, biyobozunur su ve solvent bazlı

polimerlerin bağlayıcı olarak kullanıldığı çalışmalar literatürde mevcuttur. Polimer bazlı bağlayıcıların avantajları arasında iyi mekanik dayanıklılık, kimyasal stabilite, çevreye uyumluluk ve düşük maliyet yer alır. Literatürdeki en yaygın bağlayıcılar selülozik bağlayıcılardır. Bu bağlayıcılar arasında metil selüloz (MC), hidroksipropil metil selüloz (HPMC), hidroksietil selüloz (HEC) ve karboksi metil selüloz (CMC) su bazlı iken selüloz nitrat (NC), selüloz asetat (CA), selüloz propionat (CP) ve selüloz butirat (CB) solvent bazlıdır (Wüstenberg, 2014).

Metil selüloz, su ile kolayca karışabilen ve jelleşebilen bir polimerdir. Bu özelliği sayesinde, tazelik indikatörlerinde substrata bağlanarak renk değişim katmanında bir matris oluşturabilir (Nasatto ve ark., 2015). Bu matris, içerdiği boya sayesinde gıda bozulmasına özgü bileşenler veya değişiklikler var olduğunda belirgin bir renk değişikliği göstermektedir. Bu selüloz türevi, amfifilik (hem hidrofilik hem hidrofobik uç bulundurma) özelliklere ve orijinal fizikokimyasal özelliklere sahiptir.

Metil selülozun kimyasal yapısı Şekil 2.6' da verilmiştir (Morozova, 2019).



Şekil 2.6. Metil selülozun kimyasal yapısı.

MC, substitüsyon (yer değiştirme) derecesi (DS) 0 ila 3 arasında değiştiğinde suda çözünür veya organo-çözünür hale gelmektedir (Ruta ve ark., 2014). Metil selüloz ayrıca, düşük toksisite, kimyasal stabilite ve düşük maliyet gibi avantajlara sahiptir. Gıdaya temas ettiğinde sağlık açısından herhangi bir risk oluşturmadığı için genellikle gıda endüstrisinde bir bileşen olarak kullanılmaktadır (Rukchon ve ark., 2014; Nasatto ve ark., 2015). Metil selülozun bağlayıcı olarak kullanıldığı tazelik indikatörü çalışmaları 2.4. başlığı altında verilmiştir.

2.3.2.3. İç ve dış katman olarak kullanılan materyaller

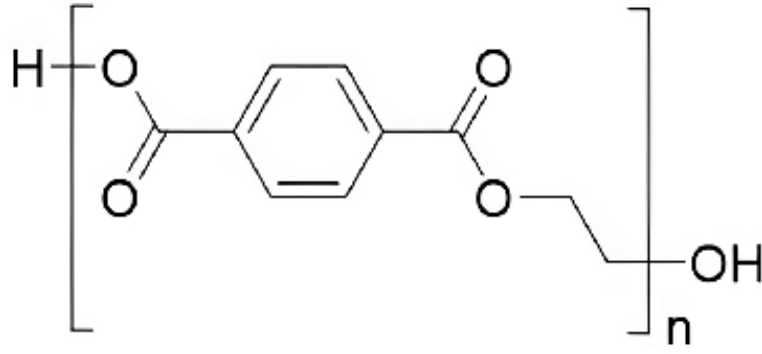
Tazelik indikatörlerindeki en büyük kaygılardan biri, paketli gıdaya boya veya kimyasal migrasyonu gerçekleşmesidir. Gıda güvenliğini sağlamak ve tüketicilerin bu kaygılarını önlemek amacı ile çok katmanlı tazelik indikatörleri geliştirilmiştir. İndikatörde kullanılan boyar madde her ne kadar bir bağlayıcı içine hapsedilmiş olsa da gıda bozulmasına bağlı olarak metabolitlerin geçmesine izin veren ve boyaların renk değişim katmanından migrasyonunu engelleyen bir iç katmana ihtiyaç duyulmaktadır. İndikatör tasarımında kullanılan iç katman, indikatörün optimum performans göstermesi ve gıdanın korunması için kritik öneme sahiptir (Kim ve ark., 2017; Lee ve ark., 2017). İç katman substratına yönelik bu talepleri karşılamak için hidrofobik bir membran ve gaz geçirgenliği bulunan ve nefes alabilen polimer filmler veya selüloz bazlı malzemeler kullanılmaktadır (Lee ve ark., 2019a). Dış katman ise genellikle iç katmanların korunmasına yardımcı olan, renk değişim katmanına ulaşan metabolitin indikatörden dışarı çıkmasını engelleyen, indikatörün çevresel koşullarla temasını önlemek için bariyer görevi bulunan, fiziksel ve kimyasal olarak dayanıklı olan materyallerden oluşmaktadır (Lee ve ark., 2019b; Obaidi ve ark., 2022)

Tazelik indikatörleri için materyal seçimi, genellikle indikatörün sentetik veya biyobozunur olması gibi faktörlere göre yapılmalıdır. Sentetik materyaller, genellikle daha dayanıklı ve uzun ömürlü olabilirler, ancak doğal ortamda çözünebilme yetenekleri bulunmamaktadır. Biyobozunur materyaller ise doğal ortamda çözünebilirler, ancak bazı durumlarda dayanıklılık ve uzun ömür açısından sentetik malzemelere kıyasla daha düşük performans sergileyebilirler. Bu özelliklerin yanı sıra indikatör tasarımında kullanılan tüm materyaller gıdanın depolama koşullarına (sıcaklık, nem, gaz kompozisyonu vb.) uyumlu olmalı ve çalışma mekanizmasını engellememelidir (Zhang ve ark., 2021; He ve ark., 2022). Literatürde biyobozunur iç katmanlar olarak polivinil alkol (PVA), pektin, kitosan, polilaktik asit (PLA), filtre kağıdı tercih edilmiştir (Ezati ve ark., 2019; Chen ve ark., 2020; Ezati ve Rhim, 2020; Zhang ve ark., 2019; Jiang ve ark., 2020). Biyobozunur tazelik indikatörlerinin dış katmanlarında ise ya filtre kağıdı tercih edilmiş ya da hiçbir materyal kullanılmamıştır (Ezati ve ark., 2019; Liu ve ark., 2018; Freitas ve ark., 2020; Gomes ve ark., 2022). Polimer filmler olarak politetrafloroetilen (PTFE), poliamid (PA), lineer düşük yoğunluklu polietilen (LLDPE), düşük yoğunluklu polietilen (LDPE), polieter blok amid (PEBA), Tyvek ticari polimeri iç katmanda kullanılmıştır (Pacquit ve ark., 2007;

Rukchon ve ark., 2014; Chen ve ark., 2018; Lee ve Shin, 2019; Lee ve ark., 2019a; Lee ve ark., 2019b; Obaidi ve ark., 2022). Dış katmanlarda ise başta polietilen tereftalat (PET) olmak üzere polivinil klorür (PVC) ve LDPE polimer filmleri kullanılmıştır (Pacquit ve ark., 2007; Kim ve ark., 2017; Zhang ve Lim, 2018; Chen ve ark., 2019; Lee ve ark., 2019a; Lee ve Shin, 2019; Kim ve ark., 2022; Obaidi ve ark., 2022). Bariyer özellikleri oldukça zayıf olan filtre kâğıdının iç katman olarak kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur ancak bu çalışmalardan iyi bir sonuç alınmış olsa da endüstriye uyarlanabilir değildir (Obaidi ve ark., 2022).

Renk değişim katmanında doğal boyaların iç ve dış katmanda ise polimer filmlerin kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalarda boyanın ve bağlayıcının biyobozunur özelliklerine vurgu yapılırken biyobozunur özelliğe sahip olmayan polimerlerin kullanımı ile çok katmanlı tazelik indikatörlerinin üretimi ve kullanımı, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve sürdürülebilirlik bakımından çalışmanın amacı ile ters düşmektedir (Choi ve ark., 2023). Bu nedenle biyobozunur bir tazelik indikatörü üretebilmek için kullanılan tüm materyallerin biyolojik olarak parçalanabilir özellikte olmas gerekmektedir.

Gıda ambalajlama endüstrisinde yaygın olarak kullanılan, düşük maliyetli, su buharı ve gaz geçirgenlik özellikleri hedef metabolitin algılanması için uygun olan polimerler tercih edilmelidir. Bu bağlamda literatür baz alındığında dış katman olarak PET film ve iç katman olarak LDPE film kullanılması üç katmanlı bir indikatör üretimi için oldukça uygun olmaktadır. PET filmlerin ana bileşeni polyesterdir, bu nedenle oldukça hidrofobik özelliğe sahiptir. PET, kalıplandıktan ve sertleştikten sonra kristal yapısı nedeniyle suyu kolayca emmez ve ayrıca yaygın solventlerle çözünmeye karşı dirençlidir (Zhang ve ark., 2021). PET film iyi bir nem ve gaz bariyeridir aynı zamanda doğal olarak renksiz ve şeffaftır. PET' in kimyasal yapısı Şekil 2.7'de verilmiştir (Alamer ve ark., 2022).



Şekil 2.7. PET polimerinin kimyasal yapısı.

Tüm bu özellikleri nedeniyle tazelik indikatörünün dış katmanında kullanım için oldukça elverişlidir. Etilen monomerinin polimerizasyonu yoluyla elde edilen dallanmış yapıdaki düşük yoğunluklu polietilen (LDPE), diğer polietilenlere göre daha esnek ve yumuşak bir yapıdadır. LDPE'nin kimyasal yapısı Şekil 2.8'de verilmiştir (İbibikcan, 2013; Tosun, 2010).



Polietilen

Düşük yoğunluklu polietilen

Şekil 2.8. PE ve LDPE polimerlerinin kimyasal yapısı.

LDPE film, kimyasallara ve yüksek sıcaklığa (erime noktası 115°C) dayanıklıdır, düşük su buharı ve yüksek gaz geçirgenliğine sahiptir (Rokbani ve ark., 2019; Zia ve ark., 2019). Bu özellikleri LDPE filmin tazelik indikatöründe iç katman olarak tercih edilebileceğini göstermektedir.

2.4. Literatürde Yer Alan Tazelik İndikatörü Çalışmaları

Son yıllarda önemi artan akıllı indikatörler üzerine birçok çalışma gerçekleştirilerek endüstride kullanılma potansiyelleri incelenmiştir. Araştırmacılar, farklı gıdaların bozulma süreçlerini ve kalite parametrelerini ortaya koymak adına farklı özelliklerde

tazelik indikatörleri geliştirmiştir. Bölüm 2.3.2’de de bahsedildiği üzere farklı boya, bağlayıcı, polimer film katmanları kullanılarak belirli bir gıdaya ve metabolite özgü tazelik indikatörleri üretilmiştir. Tez çalışmasının içeriğine öncülük eden bilimsel çalışmaların detayları ve sonuçları bu başlık altında incelenmiştir.

Rukchon ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, bromotimol mavisi ve metil kırmızısı boyalarının 2:3 oranında karışım olarak kullanıldığı selüloz bazlı bir tazelik indikatörü geliştirerek tavuk göğüs etinin tazeliğini 4°C ve 10°C’ de 8 gün boyunca izlemişlerdir. İndikatörün yapısında bağlayıcı olarak metil selüloz (MC) ve hidrokispropil metil selüloz (HPMC), iç katmanda naylon ile lamine edilmiş poliamid/LLDPE (80 µm) ve beyaz bir arka plan oluşturmak için filtre kağıdı, dış katmanda ise LLDPE (50 µm) kullanılmıştır. Tavuk göğsünün bozulması sırasında ortaya çıkan yaygın metabolitlerden biri olan CO₂ hedef metabolit seçilmiştir. İndikatörün hedef metabolit varlığında renk değişimini gözlemlemek, değişen metabolit konsantrasyonlarında tepkisini izlemek ve optimum boya bileşimini elde etmek için simülasyon çalışması yürütülmüştür. Bu çalışmada 3 ml indikatör solüsyonu gaz geçirmez bir kapalı vialde aktarılmış ve üzerine %0-25 (h/h) CO₂ gazı enjekte edilerek 30°C’ de yarım saat izlenmiştir. Çalışma sonucunda, simülasyonda %9-12 CO₂ aralığında elde edilen yeşilden turuncu-sarıya renk dönüşümünün, 4°C’ de depolanan tavuk göğsü örneklerinde raf ömrünün sınırlandığı 6. günde %11 CO₂ konsantrasyonunda tespit edildiği bildirilmiştir. Ayrıca, depolama süresince CO₂ ile toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) miktarları ve mikrobiyolojik sonuçlar arasında iyi bir korelasyon olduğu rapor edilmiştir (Rukchon ve ark., 2014).

Lee ve ark. (2019b) geliştirdikleri tazelik indikatörünün tasarımında; pH boyası olarak bromokresol yeşili (BCG), bağlayıcı olarak etilen vinil asetat (EVA), indikatörün iç katmanında yüksek gaz geçirgenliğine sahip ticari bir ürün olan Tyvek® ve dış katmanında ise LDPE (30 µm) kullanmışlardır. Tavuk göğüs etinin tazeliğini belirlemek için geliştirilen tazelik indikatörü, hedef metabolit olarak seçilen toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) varlığında renk değiştirmektedir. Tavuk göğsünün minimum bozulma seviyesinin ve BCG boyasının optimum konsantrasyonunun tespit edilebilmesi için bir simülasyon çalışması yürütülmüştür. Trimetil amin (TMA) 0-40 mg/100g konsantrasyonlarında hazırlandıktan sonra kapaklı bir vial içine aktarılmış ve %20 CO₂ enjekte edilerek 23°C’de 1 saat süreyle izlenmiştir. Çalışmada klasik renk ölçüm yöntemlerinden farklı olarak bir yazılım programı olan ImageJ ile RGB

değerleri hesaplanmıştır. Araştırmacılar önceki çalışmalarına dayanarak L^*, a^*, b^* ve ΔE değerlerine kıyasla R, G, B ve ΔRGB değerlerinin renk dönüşümünü daha iyi yansıttığını bildirmişlerdir (Lee ve ark., 2019a). %0,5, %1 ve %1,5 BCG konsantrasyonlarında hazırlanan indikatörler arasında optimum renk dönüşümünün, minimum bozulma seviyesi olarak belirlenen 20-25 mg/100 g TMA aralığında sarıdan yeşile belirgin bir renk geçişi gözlenen %1 BCG konsantrasyonuna ait indikatör olduğu bildirilmiştir. 4°C’ de 10 gün süreyle depolanan tavuk göğsü örneklerinde, depolamanın 7. gününde 23,3 mg/100 g TVB-N ve %19,5 CO₂ tespit edilmiş olup simülasyon sonucu ile uyumlu bir renk dönüşümü gözlenmiştir. Ayrıca TVB-N, CO₂ ve mikrobiyolojik sonuçlar arasında yüksek bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Ancak çalışmada tavuk etini içeren paketin gaz kompozisyonu veya atmosferi bildirilmemiştir (Lee ve ark., 2019b).

Chen ve ark. (2019) bromotimol mavisi, metil kırmızısı ve bromokresol mor boyaları, bağlayıcı olarak metil selüloz, iç katman olarak filtre kağıdı ve dış katman olarak polietilen (PE) film kullanarak domuz eti tazeliğini izlemek için bir indikatör geliştirmişlerdir. Boyaları ayrı ayrı ve karışım olarak kullandıkları çalışmada, indikatör solüsyonunun başlangıç pH değerini özel çözeltiler (bildirilmemiş) ile ayarladıklarını bildirmişlerdir. Tavuk eti ile benzer pH aralığına (5,5-6,0) sahip olan domuz eti, 5°C’de 8 gün süreyle depolanmış olup hedef metabolit olarak seçilen TVB-N’in indikatörün renk değişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Geliştirilen tazelik indikatörleri arasında en belirgin renk dönüşümü, bromotimol mavisi ve metil kırmızısının 3:2 oranında pH 5’e ayarlanan formülasyonunda gözlenmiştir. Depolamanın 6. gününde TVB-N içeriği 15 mg/100 g’ı aşmış olup indikatörde gözlenen 3 aşamalı kırmızı-sarı-yeşil renk dönüşümü bu sonuçlar ile uyumlu bulunmuştur. TVB-N içeriği, mikrobiyolojik ve duyu analizi sonuçları birbiriyle pozitif korelasyon göstermiş ve raf ömrü 6 gün ile sınırlandırılmıştır (Chen ve ark., 2019).

Kim ve ark. (2022), diğer çalışmalardan farklı olarak bromokresol moru (BCP), solvent bazlı selüloz asetat, iç katmanda hidrofobik bir membran olan PTFE ve dış katmanda ise PET film kullanarak bir tazelik indikatörü geliştirmişlerdir. Geliştirilen TVB-N duyarlı tazelik indikatörü ile tavuk eti tazeliği, 20°C’de 72 saat süreyle izlenmiştir. BCP boyası içeren tazelik indikatörü, depolamanın ilk 24 saati içinde sarıdan yeşile, 72 saatin sonunda ise yeşilden mora renk dönüşümü göstermiştir.

Depolamanın 24. saatinde TVB-N miktarı 21,95 mg/100 g olarak tespit edilirken toplam bakteri ve *Pseudomonas spp.* sayısının sınır değeri olan 7 log kob/g'ı aştığı bildirilmiştir. İndikatörde gözlenen renk dönüşümü, analiz sonuçları ile uyumlu olsa da 20°C'de 3 gün süreyle gerçekleştirilen çalışma, tavuk etinin gerçek depolama koşullarını (4°C, 7 gün) yansıtmamaktadır. Bu nedenle, gerçek gıda depolama koşullarında indikatörde gözlenen renk değişimi farklılık gösterebilir.

Zhang ve Lim (2018) gıda bozulmalarında en sık rastlanan metabolitler olan amonyak (NH₃) ve CO₂ tespiti için bir dizi indikatör geliştirmişlerdir. Çalışmada, toplam 7 farklı boya (fenol kırmızısı, timol mavisi, m-kresol moru, metil kırmızısı, klorofenol kırmızısı, dimetil sarı, metil oranj) hem hidroklorik asit (HCl) hem de tetrabutylammonium hidroksit (TBAH) solüsyonları kullanılarak asidik ve bazik metabolitler (NH₃ ve CO₂) için farklı formülasyonlar geliştirilmiştir. Bağlayıcı olarak su bazlı etil selüloz (EC) kullanılmıştır ve indikatörün etrafı şeffaf bir PVC film ile sarılmıştır. İki metabolitin ayrı ayrı ve birlikte etkisinin incelendiği simülasyon çalışması 4°C ve 25°C'de yürütülmüş olup indikatörlerin renk dönüşümü dijital bir kamera ile izlenmiştir. Ancak herhangi bir gıda uygulaması yapılmadığı için bir ön çalışma olarak değerlendirilmiş ve gıdalarda kullanım potansiyeli araştırılmıştır. Sonuç olarak fenol kırmızısının ve timol mavisinin TBAH katkılı indikatörlerinde, CO₂ varlığında belirgin bir renk dönüşümü gözlenmiştir. Farklı benzen sübstitüentleri¹ vardır ve sülfoneftalin yapısının CO₂ tespiti için yararlı olduğu bildirilmiştir (Zhang ve Lim,2018).

Et ürünlerinin tazeliğini belirlemek amacıyla pH boyaları kullanılarak geliştirilen tazelik indikatörü çalışmaları Tablo 2.2'de özetlenmiştir.

¹ Sübstitüent, bir bileşiğin yapısında başka bir atom veya grup ile değiştirilebilen bir hidrojen atomu olarak tanımlanır. Bu değiştirme işlemi, hidrojen atomunun yerine konan atom veya grup tarafından gerçekleştirilir. Metanın bir hidrojen atomu metil grubu (-CH₃) ile değiştirildiğinde, metil grubu "sübstitüent" olarak adlandırılır.

Tablo 2.2. Et ürünleri için pH boyaları ile geliştirilen tazelik indikatörü çalışmaları.

Boya türü	pKa Değeri	Bağlayıcı Türü	İç Katman	Dış Katman	Hedef Metabolit	Hedef Gıda	Kaynak
BTB & MR	7,0 & 5,1	Metil selüloz	PA/LLDPE	LLDPE	CO ₂	Tavuk	Rukchon, 2014
BCP	6,3	PVA	Filtre kağıdı	PET	TVB-N	Tavuk	Kim, 2017
BCG	4,8	EVA	Tyvek	LDPE	TVB-N & CO ₂	Tavuk	Lee, 2019b
BCG & BTB	4,8 & 7,0	PEBA	PEBA film	PET	TVB-N & CO ₂	Tavuk	Lee, 2019a
BCP	6,3	Selüloz asetat	PTFE	PET	TVB-N	Tavuk	Kim, 2022
PR & BTB	8,0 & 7,0	Metil selüloz	LDPE	PET	CO ₂	Tavuk	Obaidi, 2022
PR & BTB	8,0 & 7,0	-	Filtre kağıdı	Filtre kağıdı	TVB-N	Et	Hidayat,2019
MR	5,1	Selüloz asetat	PTFE	PET	TVB-N	Et	Lee ve Shin,2019
BCG	4,8	Selüloz asetat	Çift taraflı bant	PTFE	TVB-N	Balık	Chun, 2014
BPB	4,0	Silika	LDPE	LDPE	TVB-N	Balık	Wells, 2019
BTB & MR	7,0 & 5,1	Metil selüloz	Filtre kağıdı	PE	TVB-N	Domuz eti	Chen, 2019

BTB: Bromotimol mavi, MR: metil kırmızısı, BRCP: Bromokresol moru, BCG: Bromokresol yeşili, PR: Fenol kırmızısı, BPB: Bromofenol mavi, PVA: Polivinil alkol, EVA: Etilen vinil asetat, PEBA: Polieterblok amid, PA: Poliamid, LLDPE: Lineer düşük yoğunluklu polietilen, LDPE: Düşük yoğunluklu polietilen, PTFE: Politetrafloroetilen, PET: Polietilen tereftalat

2.5. Hipotez

Akıllı ambalajlama teknolojisi ile farklı gıdaların bozulma süreçleri hedef bir metabolit varlığında renk değiştirme potansiyeline sahip indikatörler ile tespit edilebilir, uygun pH boyaları ve bağlayıcı seçimi ile geliştirilen çok katmanlı sistemler tazelik indikatörü tasarımlarında başarılı bir şekilde uygulanabilir. Bromotimol mavisi (BTB) ve fenol kırmızısı (PR) boyaları, su bazlı metil selüloz bağlayıcısı, LDPE iç katman ve PET dış katmanın kullanımı ile geliştirilen üç katmanlı kolorimetrik tazelik indikatörleri; tavuk eti tazeliğinin gerçek zamanlı olarak izlenmesi, bozulmaya bağlı gıda kayıplarının azaltılması ve gıda güvenliğinin sağlanması için endüstriyel ölçekte kullanılabilir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

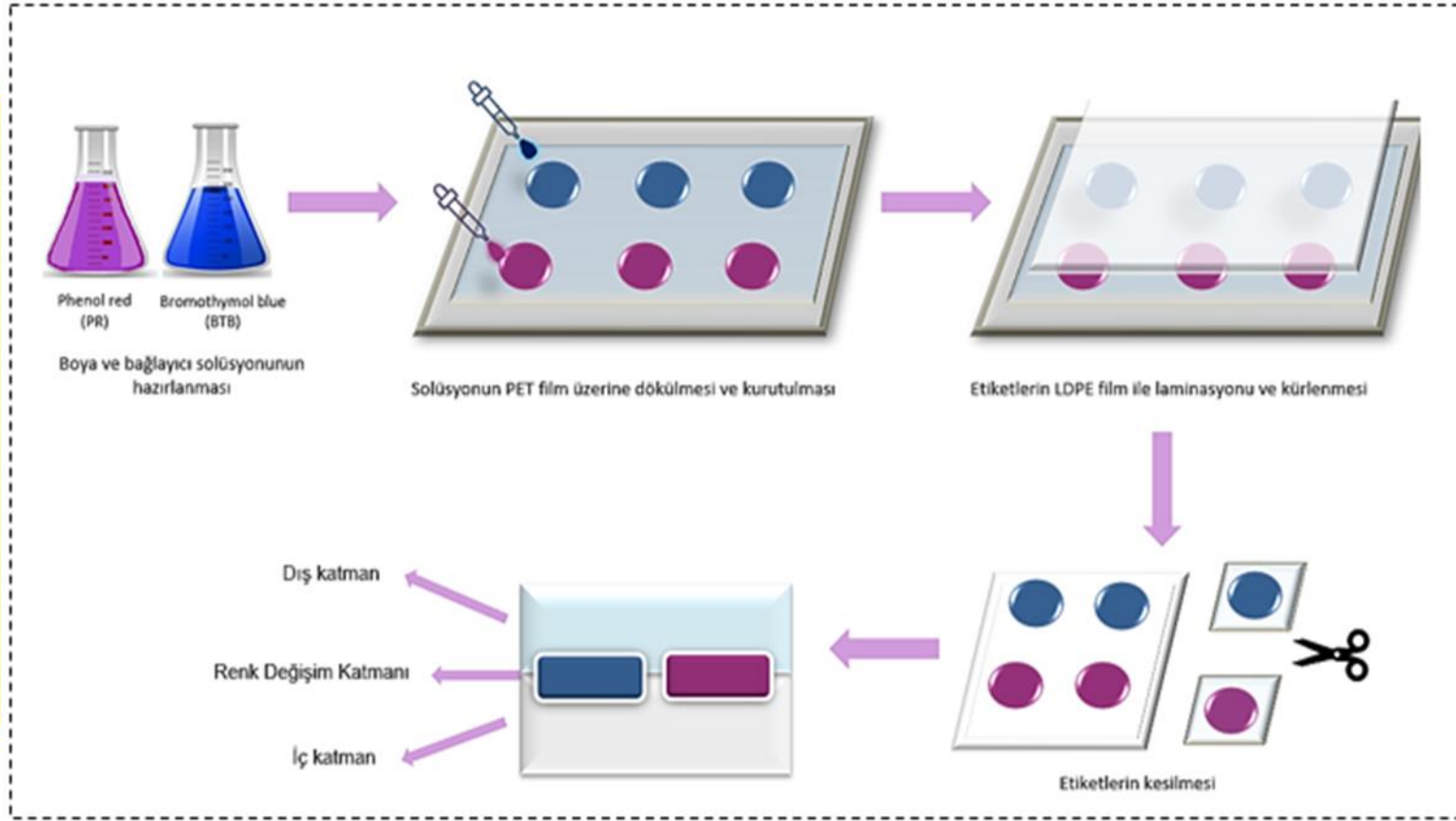
İndikatör üretiminde kullanılan fenol kırmızısı (PR), bromotimol mavisi (BTB), bromokresol yeşili (BCG), metil kırmızısı (MR) boyları, polietilen glikol 400 g/mol (PEG 400), etil alkol, sodyum hidroksit (NaOH) Merck Chemicals Co.'dan (Darmstadt, Almanya); metil selüloz (4000 cp viskozite, Sigma M0512) Sigma Aldrich Chemical Co. Ltd.'den (St. Louis, ABD) satın alınmıştır. Dış katman olarak kullanılan şeffaf polietilen tereftalat film (PET, 13 µm), iç katman olarak kullanılan beyaz renkte düşük yoğunluklu polietilen (LDPE, 50 µm), laminasyon işleminde kullanılan yapıştırıcı malzeme ve katalizör İspak Esnek Ambalaj Firmasından (Kocaeli, Türkiye) temin edilmiştir. Gıda validasyon çalışması analizlerinde plate count agar (PCA) (Merck 70152), *Pseudomonas* selective agar base (Merck 1,07620), *Pseudomonas* CFC selective supplement (Merck 1,07627), propilamin hidroklorür (Sigma, 242543), TMA hidroklorür (Sigma, T72761), HCl (Sigma, %37), borik asit (Merck 1,00160), magnezyum oksit (Merck, 1,05865), Divinilbenzen/Karboksen/Polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) fiberi (Agilent, 5191-5874) kullanılmıştır.

3.2. Kolorimetrik Tazelik İndikatörlerinin Hazırlanması

Tez çalışmasında, ilk olarak farklı boyları (PR, BTB, BCG ve MR) ve boya konsantrasyonlarını (%0,5, %1, %1,5) içeren formülasyonlar geliştirilmiş ve gerçek zamanlı olarak gıda bozulmasını temsil edebilecek pH duyarlı kolorimetrik tazelik indikatörleri kullanılarak simülasyon-ön deneme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ön deneme çalışmaları sonucunda, metabolit konsantrasyonlarına bağlı olarak en belirgin renk dönüşümünü ortaya koyan indikatörler seçilerek simülasyon-ana deneme çalışmaları ve gıda validasyonu çalışmaları yürütülmüştür. Formülasyonlarda kullanılan pH boylarının (BTB, PR, BCG ve MR) her biri %50'lik (h/h) etanol içinde 30 dakika boyunca 500 rpm'de manyetik karıştırıcıda çözümlenerek %0,5, %1 ve %1,5 (a/h) konsantrasyonlarında boya solüsyonları hazırlanmıştır.

Bağlayıcı solüsyonu, 1,5 g metil selülozun 50 ml distile suda (%3 a/h) 30 dakika boyunca 500 rpm hızında manyetik karıştırıcıda çözündürülmesiyle hazırlanmıştır (Chen ve ark., 2019). Yapıya elastikiyet kazandırmak için bağlayıcı solüsyonuna 0,5 g PEG-400 (%1 a/h) ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcıda 500 rpm hızında karıştırılmıştır. BTB, PR, BCG ve MR boya renklerini içeren ayrı indikatör solüsyonları hazırlamak için, selüloz bazlı bağlayıcı solüsyonlarına her bir boya solüsyonundan 2 ml eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda 15 dakika boyunca karıştırılarak boyanın homojen bir şekilde dağılımı sağlanmıştır (Obaidi ve ark., 2022). %0,5, %1 ve %1,5 boya konsantrasyonlarında hazırlanan indikatör solüsyonlarının katkı maddesi (doping) içeren ve içermeyen formülasyonları ayrı ayrı hazırlanmıştır. İndikatör solüsyonlarının başlangıç pH değerini ayarlamak amacıyla doping olarak BTB ve PR bazlı indikatörler (CO₂ duyarlı) için 2 M'lık NaOH'tan 500 µL, BCG ve MR bazlı indikatörler (TMA duyarlı) için 2 M'lık HCl'den 500 µL eklenmiştir ve solüsyonlar Ultra-Turrax (Model T18 digital, Deutschland, Almanya) kullanılarak 5000 rpm'de 15 dakika süreyle homojenize edilmiştir (Zhang ve Lim, 2018). İndikatör solüsyonlarının homojenizasyonu sırasında meydana gelen baloncuklar, tazelik indikatörlerinin pürüzsüz bir yapıya sahip olması için bir vakum pompası yardımıyla 1 saat süreyle giderilmiştir. Bu süre zarfında uzaklaşmayan baloncuklar için indikatör solüsyonları oda sıcaklığındaki desikatör içinde bir süre bekletilmiştir. Elde edilen indikatör solüsyonlarından 1 ml alınarak PET film (solüsyonların iyice tutunması için korona işlemi uygulanan yüzeyine) üzerinde 2 cm çapında daireler şeklinde yayılmış ve solüsyonlar gece boyunca 40°C'de etüvde (Ecocell 222, MMM, Almanya) kurutulmuştur (Lee ve ark., 2019a). Kuruyan filmler, boya migrasyonunu önlemek amacıyla laminasyon işlemine tabi tutulmuştur. Laminasyon işlemi, PET yüzeyinde bulunan renk değişim katmanı ve beyaz LDPE film (50 µm, renk değişiminin daha iyi algılanmasını sağlamak için beyaz olarak seçilmiştir) arasına tutkal ve katalizör karışımı uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Lamine edilen indikatörlerin üzerine ağırlık konularak tüm katmanların birbirine tutunmasını sağlayan kütleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu sayede renk değişim katmanını içeren PET film ve iç katman olan LDPE film birbirine yapıştırılmıştır. pH duyarlı kolorimetrik tazelik indikatörleri 4×4 cm² kareler halinde kesilerek son şekilleri verilmiştir. Tazelik indikatörü üretim akış şeması Şekil 3.1'de yer almaktadır.

Tazelik İndikatörlerinin Üretim Aşamaları



Şekil 3.1. Tazelik indikatörü üretim aşamaları

Tez çalışması kapsamında simülasyon-ön deneme, simülasyon- ana deneme ve gıda validasyonu çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Simülasyon ön deneme sonuçlarına göre en iyi renk dönüşümü BTB ve PR boya larını içeren CO₂ duyarlı indikatörlerden elde edilmiş olup simülasyon- ana deneme çalışması ve gıda validasyonu çalışması bu indikatörler ile gerçekleştirilmiştir. BTB ve PR bazlı indikatörlerin hazırlanmasında kullanılan boya konsantrasyonları Tablo 3.1'de verilmiştir. Bu plana göre en belirgin renk dönüşümü gözlenen tazelik indikatörlerinin her bir formülasyonu için 2 tekerrürlü ve 2 paralel olmak üzere toplam 4 adet indikatör üretilmiştir. Geliştirilen pH duyarlı kolorimetrik tazelik indikatörleri, gerçek gıda ambalajlama ve depolama koşullarını sağlayan simülasyon-ana deneme çalışması ve gıda validasyon çalışmasında kullanılmıştır.

Tablo 3.1. BTB ve PR içeren tazelik indikatörleri için deneme planı.

İndikatör	Boya Konsantrasyonu (%)	Metil Selüloz Konsantrasyonu (%)	Doping Solüsyonu
BTBD-0,5	0,5	3,0	NaOH
BTB-0,5	0,5	3,0	-
BTBD-1,0	1,0	3,0	NaOH
BTB-1,0	1,0	3,0	-
BTBD-1,5	1,5	3,0	NaOH
BTB-1,5	1,5	3,0	-
PRD-0,5	0,5	3,0	NaOH
PR-0,5	0,5	3,0	-
PRD-1,0	1,0	3,0	NaOH
PR-1,0	1,0	3,0	-
PRD-1,5	1,5	3,0	NaOH
PR-1,5	1,5	3,0	-

BTB: Bromotimol mavisi, PR: fenol kırmızısı, BTBD: Doping içeren BTB formülasyonu, PRD: Doping içeren PR formülasyonu

3.3. Kolorimetrik Tazelik İndikatörlerinin Simülasyonu

Geliştirilen kolorimetrik tazelik indikatörlerinin farklı CO₂ ve TMA konsantrasyonlarındaki renk dönüşümünü izlemek ve uygun indikatör formülasyonunu belirlemek için simülasyon- ön deneme çalışması yürütülmüştür. Şekil 3.1'de gösterildiği şekilde hazırlanan indikatörler, et ürünlerinin paketlenmesinde kullanılan PA/PE ambalajların iç yüzeyine yerleştirilerek gerçek bir gıda paketleme sistemi temsil edilmiştir.

3.3.1. Simülasyon- ön deneme çalışması

Ön deneme çalışmalarında, CO₂ ve TMA simülasyonları gerçekleştirilerek en iyi sonuç alınan pH duyarlı kolorimetrik tazelik indikatörü formülasyonunun ve hedef metabolitin belirlenmesi amaçlanmıştır. CO₂ simülasyonu için yedi farklı konsantrasyonda CO₂ gazı (%0, 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 (h/h)) ve gaz bileşimini %100'e tamamlamak için kullanılan nitrojen gazı (N), tazelik indikatörlerini içeren PA/PE torba ambalajlara bir MAP (modifiye atmosfer paketleme) makinesi (Reepack, Italy) kullanılarak enjekte edilmiştir (Obaidi ve ark., 2022). TMA simülasyonunda ise sekiz farklı konsantrasyonda (%0, %10, %15, %20, %25, %30, %35 ve %40) TMA solüsyonlarını içeren vialler, tazelik indikatörlerinin yerleştirildiği PA/PE torba ambalajlara konulmuş ve ambalajların içerisine % 100 nitrojen gazı (N) enjekte edilerek MAP cihazı ile ambalajlanmıştır. Ambalajlama işlemi bittikten sonra viallerin kapakları açılarak simülasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Ön simülasyon denemeleri 25°C'de 24 saat olarak gerçekleştirilmiş olup CO₂ ve TMA konsantrasyonlarının indikatörlerin renk değişimi üzerine etkileri incelenmiştir.

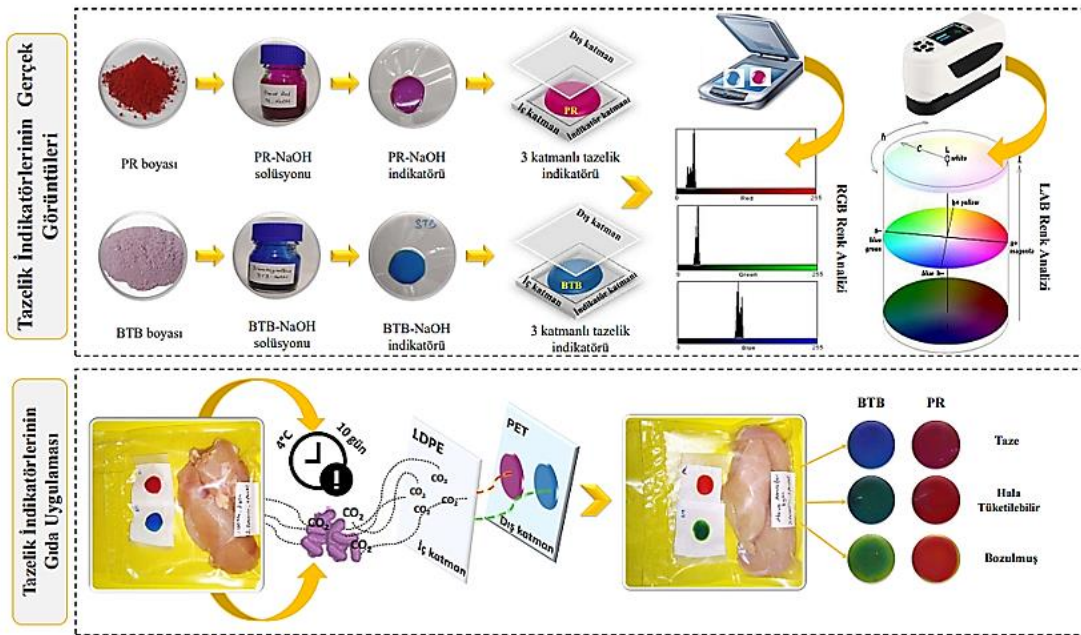
3.3.2. Simülasyon- ana deneme çalışması

Ön denemelerden elde edilen sonuçlara göre simülasyon-ana deneme çalışması, en belirgin renk dönüşümünün gözlemlendiği ve belirlenen hedef metabolite (CO₂) özgü olarak üretilen tazelik indikatörlerinin kullanılması ile bölüm 3.3.1'de açıklandığı şekilde yürütülmüştür. Ana deneme çalışması, gerçek gıda muhafaza koşullarını temsil etmek amacıyla 4°C'de 10 gün boyunca gerçekleştirilmiştir. Tazelik indikatörlerindeki renk dönüşümleri, bölüm 3.4.1'de açıklanan renk ölçüm yöntemleri ile 0, 2, 4, 6, 8 ve 10. günlerde periyodik olarak ölçülmüştür.

3.4. Kolorimetrik Tazelik İndikatörlerinin Gıda Validasyonu

Gıda validasyon çalışmasında, tavuk etindeki bozulma sonucunda mikroorganizmalar tarafından üretilen CO₂ metabolitine karşı duyarlı olarak geliştirilen kolorimetrik tazelik indikatörünün etkinliği test edilmiştir. Yerel bir marketten temin edilen ve pH değeri 5.9-6.5 olan taze kemiksiz tavuk göğsü, steril şartlarda 200 g'lık porsiyonlar halinde kesildikten sonra PR ve BTB bazlı kolorimetrik tazelik indikatörlerinin görünmez bir yapışkan bantla yapıştırıldığı PA/PE ambalajlara (18 x 20 cm²) yerleştirilmiştir.

Taze tavuk göğüsleri hava (%80 N₂ + %20 O₂) ve %100 N₂ olmak üzere iki farklı atmosfer altında MAP makinesi (Reepack, İtalya) ile ambalajlanmıştır. Tavuk göğsü içeren tüm ambalajlar +4±0,5°C’de 10 gün boyunca depolanmış olup 0, 2, 4, 6, 8 ve 10. günlerde tepe boşluğu gaz kompozisyonu (%CO₂ ve O₂), pH, TVB-N, trimetilamin (TMA), toplam mezofilik aerobik bakteri ve *Pseudomonas spp.*, duyu analizi ve tazelik indikatörlerinde renk analizleri gerçekleştirilmiştir. Her bir analiz gününde (0, 2, 4, 6, 8, 10. günlerde) tazelik indikatörlerindeki renk değişimleri bölüm 3.4.1’de açıklanan iki farklı renk ölçüm yöntemi ile belirlenmiştir. Ambalajlar her iki atmosfer koşulu için de iki tekerrürlü ve iki paralelli olacak şekilde hazırlanmıştır. Aynı şartlar altında renk dönüşümlerini incelemek için PR ve BTB indikatörleri aynı paketlere yerleştirilmiştir. Tazelik indikatörlerinin hazırlanma prosesi ve gıda bozulması sonucunda renk dönüşüm mekanizmasının temsili görseli Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.2. PR ve BTB bazlı tazelik indikatörlerinin üretim akışı ve gıda bozulması sonucunda renk dönüşüm mekanizması.

3.4.1. Kolorimetrik tazelik indikatörlerinin renk analizleri

3.4.1.1. Kolorimetre cihazı ile renk analizi

Tazelik indikatörlerinin L*, a*, b* ve toplam renk değişimi (ΔE) değerleri, Şekil 3.3’te yer alan taşınabilir kolorimetre cihazı (PCE-CSM 7, Meschede, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Her bir tazelik indikatörünün renk ölçümü, indikatör yüzeyinin 4 farklı

noktasından gerçekleştirilmiş ve her bir atmosfer grubu için toplam 8 ölçümün ortalaması alınmıştır. Tazelik indikatörlerinin ΔE değerleri denklem 3.1 ile hesaplanmıştır (Chen ve ark., 2019).

$$\Delta E = [(L_0 - L_1)^2 + (a_0 - a_1)^2 + (b_0 - b_1)^2]^{1/2} \quad (3.1)$$

L_0 , a_0 ve b_0 indikatörlerin 0. gündeki renk değerlerini; L_1 , a_1 , b_1 indikatörlerin her bir analiz günündeki renk değerlerini ifade etmektedir.



Şekil 3.3. Taşınabilir renk ölçüm cihazı.

3.4.1.2. ImageJ yazılımı ile dijital renk analizi

Geleneksel renk ölçüm yöntemlerinden farklı olarak bir dijital görüntü işleme teknolojisi olan ImageJ yazılımı (Ulusal Sağlık Enstitüleri, Bethesda, Maryland, ABD) ile tazelik indikatörlerinin renk değişimleri değerlendirilmiştir. Tazelik indikatörleri, Şekil 3.4'te yer alan portatif tarayıcı (HP Deskjet 2130) ile tarandıktan sonra ImageJ yazılımına yüklenerek R, G, B ve toplam renk farkı (ΔRGB) değerleri belirlenmiştir. Her bir indikatör için görseller üzerinde 4 farklı noktadan ölçüm yapılmış ve her bir atmosfer grubu için toplam 8 ölçümün ortalaması alınmıştır.

Tazelik indikatörlerinin ΔRGB değerleri denklem 3.2 ile hesaplanmıştır (Lee ve ark., 2019a).

$$\Delta E = [(R_0 - R_1)^2 + (G_0 - G_1)^2 + (B_0 - B_1)^2]^{1/2} \quad (3.2)$$

R_0 , G_0 ve B_0 indikatörlerin 0. gündeki renk değerlerini; R_1 , G_1 , B_1 indikatörlerin her bir analiz günündeki renk değerlerini ifade etmektedir.



Şekil 3.4. İndikatör görsellerini kaydetmek için kullanılan portatif tarayıcı.

3.4.2. Tepe boşluğu gaz analizi

Validasyon çalışmalarında ambalajın tepe boşluğundaki oksijen ve karbondioksit konsantrasyonları (%h/h) Şekil 3.5'te yer alan taşınabilir Oxybaby gaz analizörü (Almanya) kullanılarak tespit edilmiştir. Her bir ambalaj için 2 ölçüm yapılmış ve sonuçlar her bir atmosfer grubu için 4 ölçümün ortalaması alınarak verilmiştir.



Şekil 3.5. Taşınabilir gaz ölçüm cihazı.

3.4.3. pH analizi

Laboratuvar ölçekli laboratuvar ölçekli warring blender kullanılarak homojenize edilen tavuk göğsü numunelerinden 10 g tartıldıktan sonra üzerine 100 ml distile su ilave edilmiştir. Önceden kalibrasyonu yapılmış (pH 4 ve 7 noktaları) bir pH-metre (WTW, pH315i, Germany) ile tavuk göğüslerinin pH değerleri ölçülmüştür (He et al., 2022). Ölçümler her bir ambalajdaki tavuk göğsü için 2 tekrarlı olarak yapılmış ve her bir ambalaj grubu için 4 ölçümün ortalaması alınarak verilmiştir.

3.4.4. Toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) analizi

Tavuk göğüsleri, laboratuvar ölçekli warring blender kullanılarak homojenize edilmiştir. 10 g homojenizat bir beher içerisine tartılmış ve üzerine 100 ml distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcı ile oda sıcaklığında 30 dk süreyle karıştırılmıştır. Karışım, filtre kâğıdı yerleştirilen erlenmayer içerisine süzülmüştür. Elde edilen berrak süzüntüden ve 10 g/L'lik MgO'dan 10 ml Kjeldahl balonuna aktarılarak örnek alkali hale getirilmiştir. Kontrol örneği için süzüntü yerine 10 ml distile su kullanılmıştır. Kjeldahl balonu Kjeldahl ünitesine bağlandıktan sonra 5 dk süreyle distile edilmiştir. 20 g/L'lik sulu H₃BO₃'ten 20 ml içeren erlenmayere toplanan distilat üzerine, 0,1 g metil kırmızısı ve 0,5 g bromokresol yeşilinin 100 ml %95'lik etanol içerisinde çözündürülmesi ile hazırlanan indikatörden birkaç damla eklenmiştir. TVB-N miktarı, 0,01 N'lik HCl titrasyonu ile belirlenmiş ve TVB-N konsantrasyonu mg/100 g cinsinden denklem 3.3 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$TVB - N (mg/100g) = \left[\frac{(V_1 - V_2) \times c \times 14}{m \times (10/100)} \right] \times 100 \quad (3.3)$$

V1: Test edilen örnek için titrasyonda harcanan hacim

V2: Kontrol örneği için titrasyonda harcanan hacim

c: HCl'nin gerçek normalitesi

m: Örnek miktarı (g)

3.4.5. Trimetilamin (TMA) analizi

TMA analizi, tepe boşluğu-katı faz mikro ekstraksiyonu (HS-SPME) yöntemi baz alınarak, alev iyonlaşma detektörüne (FID) sahip bir gaz kromatografisi (Shimadzu, Model GC-2010, Japonya) yardımıyla gerçekleştirilmiştir. FID dedektörüne sahip GC cihazına CP-Volamin (30 m uzunluğunda, 0.32 mm iç çapında) kapiler kolon yerleştirilmiştir. Blender ile homojen hale getirilmiş 30 g tavuk göğsü örneği 50 mL'lik plastik santrifüj tüpüne yerleştirilmiştir. Her santrifüj tüpüne 20 ml 0.5 N HCl eklendikten sonra tüpler 5 dakika vortekslenmiş ve ardından 5 °C'de 400 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatant 50 mL'lik ölçülü bir balona aktarılarak 0.5 N HCl ile hacme tamamlanmıştır. Balon jöje içerisinden 0,5 ml numune alınarak 20 mL'lik SPME vialine aktarılmış, üzerine 1 mL 15 M NaOH ve 5,0 µg mL⁻¹ iç standart (propilamin) eklenmiştir.

Şekil 3.6’da görüldüğü gibi SPME fiberi (DVB/CAR/PDMS), tepe boşluğu ekstraksiyonu için vialle dikkatli bir şekilde yerleştirilerek 25°C’de 15 dakika boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır.



Şekil 3.6. HS-SPME ekstraksiyon düzeneği.

Ekstraksiyon tamamlandığında SPME fiberi, GC-FID analizi için GC enjektör portuna yerleştirilmiştir (Barbosa ve ark., 2012). Enjeksiyon bloğu ve dedektör sıcaklıkları sırasıyla 200°C ve 250°C olarak ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı 40°C’de 5 dakika tutulduktan sonra 10°C/dk’da 120°C’ye yükseltilmiş bu sıcaklıkta 2 dk kalacak şekilde programlanmıştır. Nitrojen, hidrojen ve hava gazları sırasıyla 40, 40 ve 400 ml/dk akış hızında taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır (Lee ve Shin, 2019; Kim ve ark, 2022). TMA'nın hesaplanmasında kullanılan kalibrasyon eğrisi, beş farklı TMA konsantrasyonundan (0.0, 10.0, 20.0, 30.0 ve 40.0 ppm) elde edilen sonuçlar kullanılarak oluşturulmuştur. Kalibrasyon eğrisinin belirlenmesinde kullanılan her konsantrasyon için üç pik alanı ölçümü ortalaması alınmıştır. TMA konsantrasyonu, denklem 3.4’te yer alan kalibrasyon eşitliği ile mg/100 g olarak hesaplanmıştır.

$$y = 1082.1 x (R2 = 0.9951) \quad (3.4)$$

3.4.6. Mikrobiyolojik analizler

Depolama süresince tavuk göğüslerinin toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) ve *Pseudomonas spp.* sayılarındaki değişimler belirlenmiştir. Steril koşullarda tavuk göğüslerinden 10 g alınarak steril stomacher poşetine aktarıldıktan sonra üzerine 90

ml %0.85'lik fizyolojik tuzlu su ilave edilmiş ve karışım oda sıcaklığında stomacher cihazında (Mayo, HG400, İtalya) 2 dk homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan, 1:9 oranında (steril fizyolojik tuzlu su içinde) seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyondan 0,1 ml alınarak TMAB için Plate Count Agar (PCA, Merck 1.05463) besiyerini içeren petrilere, *Pseudomonas spp.* için Pseudomonas CFC Selective Agar (Merck 1.07620) besiyerini içeren petrilere yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petrilere TMAB sayımları için 37°C'de 48 saat, *Pseudomonas spp.* sayımları için 30°C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. Mikrobiyolojik sayım, her bir tekerrür için 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir (Kim ve ark., 2022; Choi ve ark., 2023).

3.4.7. Duyusal değerlendirme

Bu çalışmada, depolama süresince iki farklı atmosfer altında ambalajlanan tavuk göğüs etlerinin duyu özellikleri altı deneyimli panelist tarafından değerlendirilmiştir. Renk/dış görünüş, koku, tekstür ve genel ürün beğeni olmak üzere 4 duyu özelliğinin değerlendirilmesi için 5'li skala kullanılmıştır. Değerlendirme sonuçlarına göre, 3 puan tüketilebilirlik açısından kabul edilebilir sınır değer olarak belirlenmiştir. Her bir duyu özelliğinin 5'li skalaya göre değerlendirmesi, aşağıdaki tanımlamalar yardımıyla yapılmıştır:

Renk için; 1 = çok kötü/solgun pembe/yüzeyde grileşme, 3 = kabul edilebilir/renkte koyulaşma/koyu pembe, 5 = beğendim-taze/karakteristik tavuk göğsü rengi.

Koku için; 1 = çok kötü/ransit koku/bozuk tavuk kokusu, 3 = kabul edilebilir/hafif amonyak/sülfür kokusu, 5 = karakteristik tavuk kokusu.

Tekstür için; 1 = geri dönüş yok/yumuşak tekstür, 3 = yavaş geri dönüş/yumuşama başlamış, 5 = hızlı geri dönüş/diri/dolgun tekstür.

Genel ürün beğenisi için 1 = hiç beğenmedim, 3 = kabul edilebilir, 5 = çok beğendim (Ek A.).

3.5. İstatistiksel analiz

Geliştirilen tazelik indikatörlerinden depolama süresince elde edilen toplam renk değişimi ve gıda validasyon datası varyans analizi ile Minitab 18 istatistik programı kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Tukey ikili karşılaştırma

testi kullanılarak %5 ($\alpha=0,05$) önem düzeyinde belirlenmiştir. Tablolarda sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Geliştirilen pH duyarlı kolorimetrik tazelik indikatörlerindeki renk değişimleri simülasyon-ön deneme, simülasyon-ana deneme ve gıda validasyonu çalışmaları ile izlenmiştir. Buna göre ön deneme çalışmalarından elde edilen sonuçlar değerlendirilmiş ve hedef metabolit konsantrasyonu ile ilişkili olarak renk değişiminin en belirgin olduğu tazelik indikatörleri simülasyon-ana deneme ve gıda validasyonu çalışmalarında kullanılmıştır.

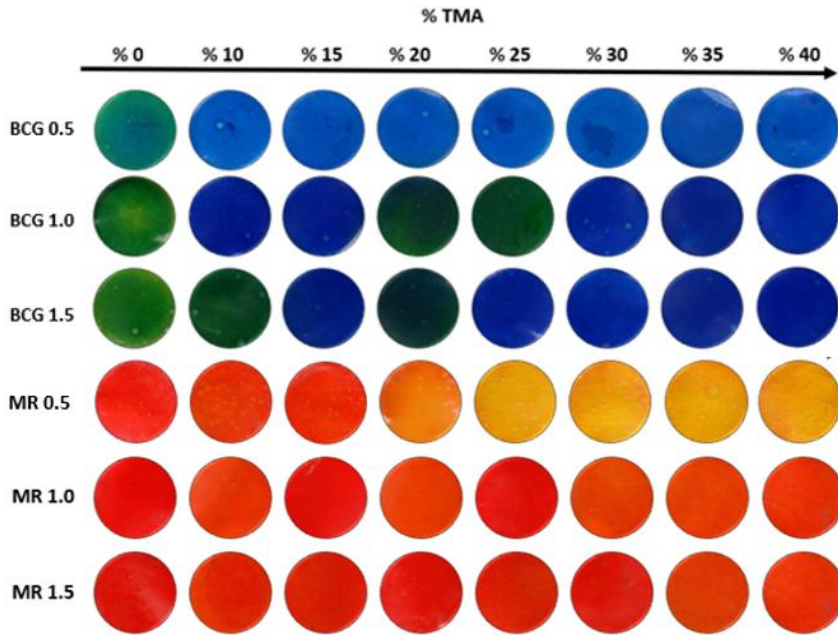
4.1. Simülasyon-Ön Deneme Çalışması

Ön deneme çalışmalarında hem CO₂ hem de TMA simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Ancak gerçekleştirilen ön denemelerde CO₂ metabolitine duyarlı tazelik indikatörlerinin daha başarılı sonuç vermesi nedeniyle hedef metabolit CO₂ olarak belirlenmiş, bu indikatörler simülasyon-ana deneme ve gıda validasyonu çalışmalarında kullanılmıştır.

4.1.1. Farklı boya ve konsantrasyonları ile geliştirilen indikatörlerin (dopingsiz) renk değişimi

Ön deneme çalışmasında metabolitlerin pH değerleri göz önüne alınarak CO₂ metaboliti için bromotimol mavisi (BTB) ve fenol kırmızısı (PR) boya, TMA metaboliti için bromokresol yeşili (BCG) ve metil kırmızısı (MR) boya kullanılmıştır. Başlangıç pH değerini ayarlamak için herhangi bir doping solüsyonu kullanmadan üretilen kolorimetrik tazelik indikatörleri, %0,5, %1 ve %1,5 olmak üzere 3 farklı boya konsantrasyonu kullanılarak üretilmiştir. Simülasyon çalışması, indikatörlerin renk dönüşümünü hızlı bir şekilde tespit edebilmek için 25°C'de 24 saat olarak gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.1 ve 4.2'den de görüleceği üzere, dopingsiz olarak üretilen tazelik indikatörlerinin görsellerinde çıplak gözle ayırt edilebilen veya metabolit konsantrasyonu ile ilişkilendirilebilen herhangi bir renk dönüşümü tespit edilmemiştir. TMA simülasyonunda BCG ve MR içeren tazelik indikatörlerinde bir renk dönüşümü olmasına rağmen artan metabolit konsantrasyonuna bağlı bir trend gözlenmemiştir. En belirgin renk dönüşümü, %0,5 MR içeren tazelik indikatörlerinde

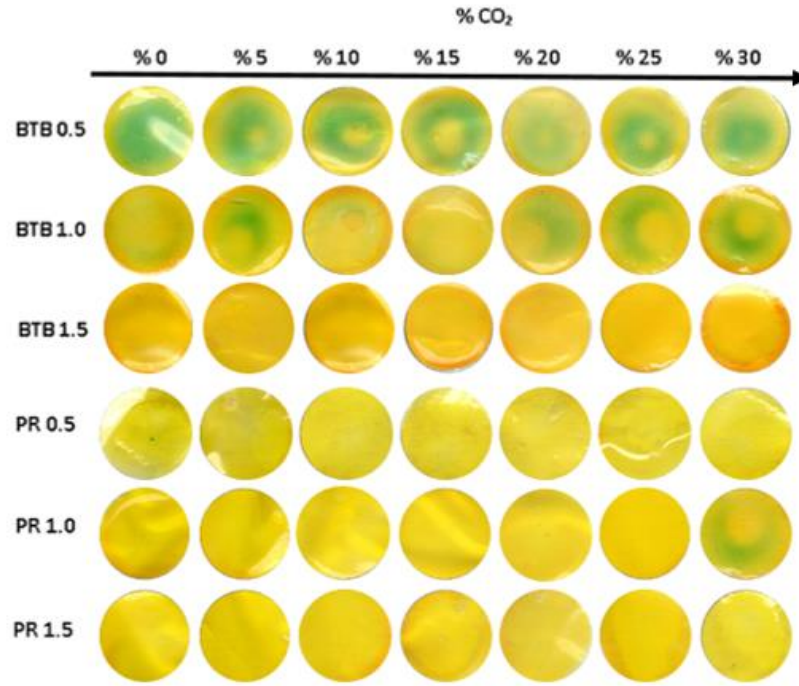
gözlenmiştir. Ancak, oda sıcaklığındaki bir ortamda hiçbir metabolit bulunmamasına rağmen, BCG ve MR içeren tazelik indikatörleri renk dönüşümü göstermektedir. Bu durum, indikatörlerin farklı çevresel koşullarda yeterince stabil olmadığını ve bu nedenle indikatör üretiminde kullanım zorluğu bulunduğunu ortaya koymaktadır. BTB ve PR boya larını içeren tazelik indikatörlerinde ise metabolit bulunmayan ortamda herhangi bir renk dönüşümü gözlenmemiş olup bu indikatörlerin çevre koşullarına karşı stabil oldukları tespit edilmiştir. Bu nedenle bundan sonraki ön denemeler, BTB ve PR pH boya ları kullanılarak üretilen tazelik indikatörleri ile yürütülmüştür.



Şekil 4.1. Farklı boya konsantrasyonları ile doping solüsyonu kullanılmadan üretilen TMA duyarlı tazelik indikatörleri (BCG: Bromokresol yeşili, MR: Metil kırmızısı).

CO₂' nin suda çözünmesi sonucu oluşan karbonik asidin pKa değeri 6,35'tir, bu nedenle gözle görünür bir renk değişikliği elde etmek için CO₂ ile reaksiyona girecek boyanın pKa değeri 6,35' ten yüksek olması gerekmektedir (Zhang ve Lim, 2018; Obaidi ve ark., 2022). Şekil 4.2'den de görüleceği üzere çalışmada metabolit olarak seçilen CO₂'nin algılanabilmesi için pKa değeri en yüksek olan BTB (7,0) ve PR (8,0) boya lar kullanıldığı halde bir renk dönüşümü elde edilememiştir. İki boyanın da başlangıç pH değerlerinin sırasıyla 6,0 ve 6,8 olması, karbonik asidin varlığında boya ların tepki verebilmesi için pH veya pKa değerlerinde yeterince fark olmadığını göstermektedir. Bu nedenle literatürde yer alan bazı çalışmalarda olduğu gibi doping (katkı) solüsyonları kullanılarak indikatörlerin başlangıç pH değerlerinin ayarlandığı

çalışmalar yürütülmüş ve sonuçlar kıyaslanmıştır (Chen ve ark., 2019; Zhang ve Lim, 2018; Obaidi ve ark., 2022; Musso ve ark., 2016).

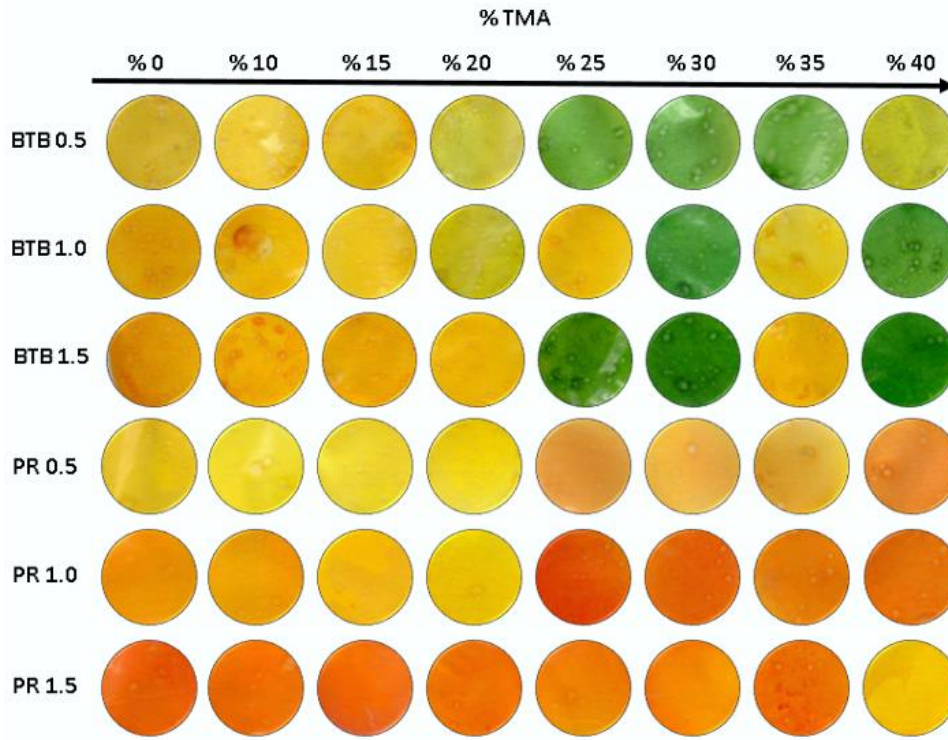


Şekil 4.2. Farklı boya konsantrasyonları ile doping solüsyonu kullanılmadan üretilen CO₂ duyarlı tazelik indikatörleri (BTB: Bromotimol mavisi, PR: Fenol kırmızısı).

4.1.2. Farklı boya ve konsantrasyonları ile geliştirilen indikatörlerin (dopingli) renk değişimi

İlk denemede, dopingsiz formülasyonu kullanılan fenol kırmızısı (PR) ve bromotimol mavisi (BTB) içeren tazelik indikatörleri üretilmiş ancak bir renk dönüşümü gözlemlenmemiştir. Bu sebeple, CO₂ varlığında indikatörlerin renk değişiminin gözlemlenebilmesi için indikatör formülasyonuna bazik bir kimyasal olan NaOH doping solüsyonu olarak eklenmiştir. TMA için ise stabilitesi daha yüksek olan PR ve BTB boya konsantrasyonlarına HCl doping solüsyonu eklenerek asidik bir indikatör solüsyonu elde edilmiştir. 25°C’ de 24 saat olarak gerçekleştirilen ön simülasyon çalışmalarının sonucunda, tazelik indikatörlerinin görselleri sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’ te verilmiştir. Farklı PR konsantrasyonlarını içeren TMA duyarlı indikatörlerde en belirgin renk dönüşümü %1 PR içeren indikatörlerde gözlemlenmiştir. Farklı BTB konsantrasyonlarını içeren TMA duyarlı indikatörlerde tüm boya konsantrasyonlarında renk değişimi gözlemlenmiştir. Literatürde yer alan simülasyon çalışmalarında TVB-N’i temsilen TMA metaboliti kullanılmış ve metabolit varlığında

indikatörlerin renk dönüşümü için tavuk etinin bozulma aralığı olarak bildirilen %15-20 TVB-N konsantrasyonları baz alınmıştır (Rukchon ve ark., 2014; Lee ve ark., 2019a; Lee ve ark., 2019b). Bu çalışmada ise hem PR hem de BTB bazlı indikatörler için literatürde tavuk etinin bozulma aralığı olarak bildirilen %15-20 TVB-N konsantrasyonunda bir renk değişimi gözlenmemiştir (Chun ve ark., 2014; Morsy ve ark., 2016; Lee ve ark., 2019a; Lee ve Shin, 2019; Kim ve ark., 2022). %0,5 ve %1,5 BTB içeren indikatörlerde %20-25 TMA aralığında, %1 BTB içerenlerde ise %25-30 TMA aralığında bir renk geçişi bulunmasına rağmen bazı metabolit konsantrasyonlarında indikatörler başlangıç renginde kalmıştır bu nedenle renk dönüşümleri artan metabolit konsantrasyonları ile ilişkilendirilememiştir.

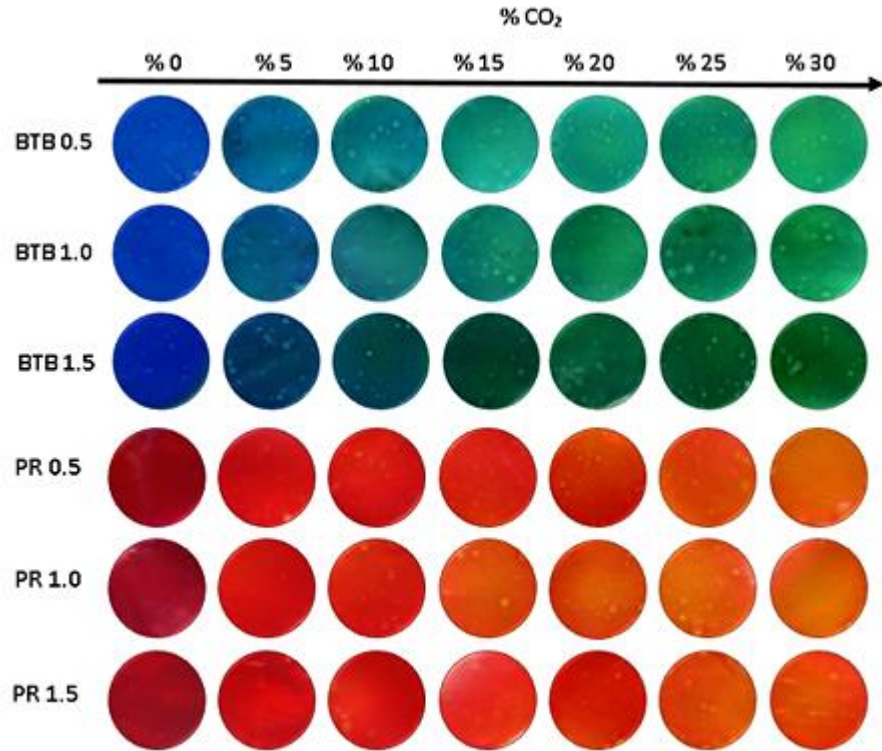


Şekil 4.3. Farklı boya konsantrasyonları ile HCl doping solüsyonu içeren TMA duyarlı tazelik indikatörleri.

Farklı BTB konsantrasyonlarını içeren CO₂ duyarlı tazelik indikatörlerinin simülasyon sonuçlarına göre, %1 ve %1,5 boya içeren indikatörlerde belirgin bir renk dönüşümü gözlenmiştir. Literatürde CO₂ metaboliti için %10-15 ve %15-20 konsantrasyonları bozulma aralıkları olarak bildirilmiştir (Rukchon ve ark., 2014; Lee ve ark., 2019b; Choi ve ark., 2023). Bu bağlamda değerlendirme yapıldığında %0,5 boya içeren BTB indikatörlerinde %10-15 CO₂ maviden açık yeşile renk dönüşümü gözlenmesine rağmen %15-20 CO₂ aralığında herhangi bir değişim bulunmamaktadır.

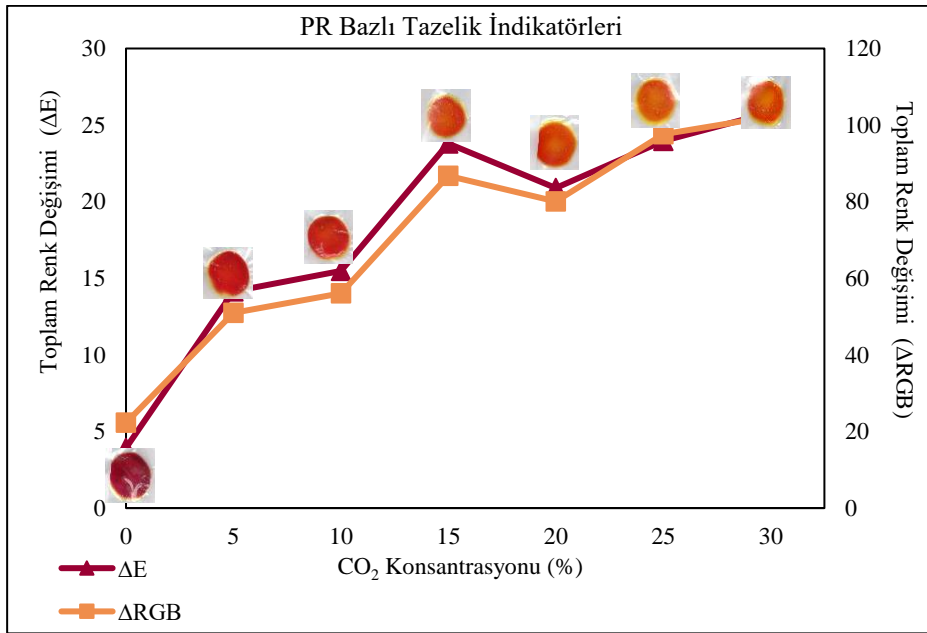
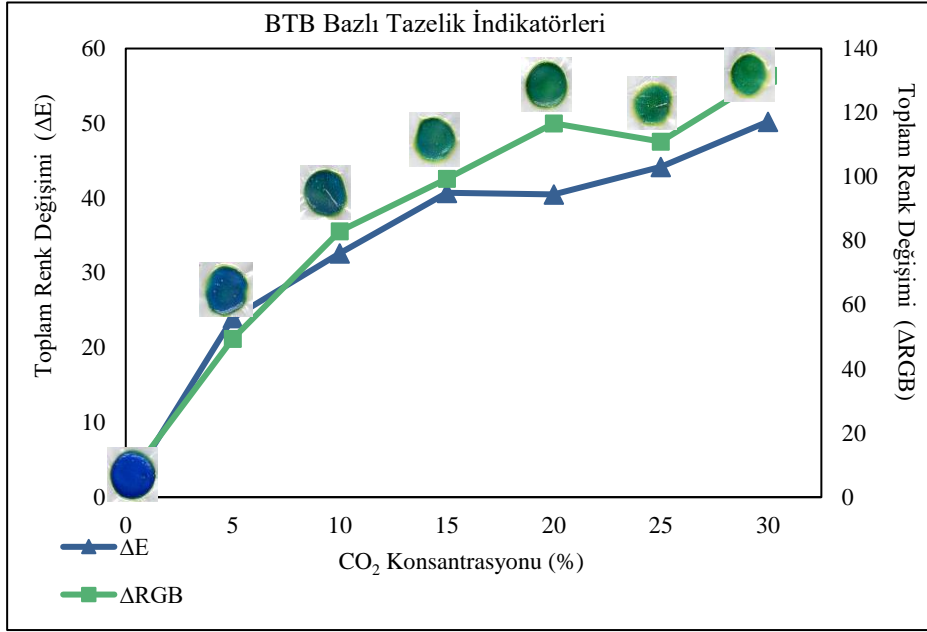
%1 boya içeren BTB indikatörlerinin %10-15 CO₂ aralığında maviden açık yeşile ve %15-20 CO₂ aralığında açık yeşilden koyu yeşile elde edilen belirgin renk dönüşümlerinin, bozulmanın farklı seviyelerinin belirlenmesinde umut verici olduğu görülmüştür. Ayrıca, %1,5 boya içeren indikatörlerde %10-15 CO₂ aralığında koyu maviden koyu yeşile bir renk dönüşümü bulunsa da daha yüksek CO₂ konsantrasyonlarında çıplak gözle ayırt edilebilecek bir renk dönüşümü bulunmamaktadır.

Farklı PR konsantrasyonlarını içeren tazelik indikatörlerinde mordan turuncu-sarıya bir renk dönüşümü gözlenmesine rağmen yalnızca %1 boya içeren indikatörlerde kırmızıdan turuncu-sarıya %10-15 CO₂ konsantrasyonlarında bozulma aralığını temsil edebilecek bir renk değişimi gözlenmiştir.



Şekil 4.4. Farklı boya konsantrasyonları ile NaOH doping solüsyonu içeren CO₂ duyarlı tazelik indikatörleri.

Artan CO₂ konsantrasyonu ile %1 boya içeren CO₂ duyarlı indikatörlerin renk değişimi arasındaki ilişki Şekil 4.5’de verilmiştir. Metabolit konsantrasyonu ile renk değişim değeri arasındaki pozitif korelasyon ana simülasyon denemesine öncülük etmiştir. Bundan sonraki denemelerde, BTB ve PR boyaları için daha iyi sonuç verdiği düşünülen %1 boya konsantrasyonunun kullanılmasına karar verilmiştir.

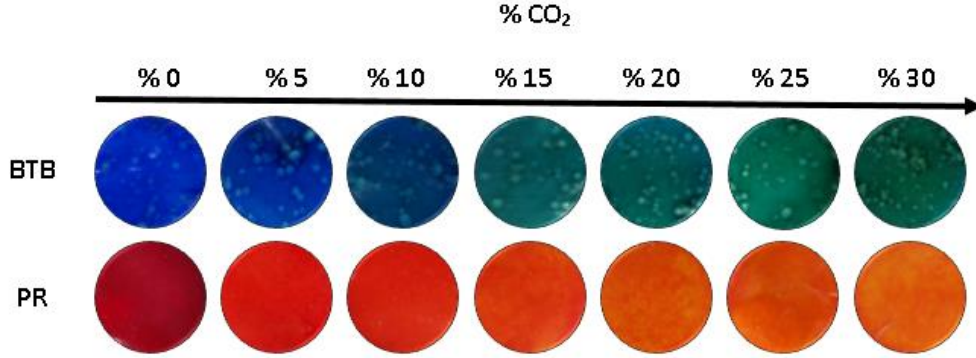


Şekil 4.5. Simülasyon çalışmasında artan CO₂ oranına bağlı olarak BTB ve PR indikatörlerinin toplam renk değişimi.

4.1.3. BTB ve PR içeren tazelik indikatörlerinin (dopingli) tekrarlanabilirlik çalışması

4.1.2 başlığı altında değerlendirilen BTB ve PR içeren dopingli tazelik indikatörlerinin CO₂ varlığındaki renk dönüşümü, tekrarlanabilirlik açısından incelenmiştir. Gerçekleştirilen CO₂ simülasyonu çalışmasında 25°C'de 24 saatlik simülasyona ek olarak, tavuk eti depolama şartlarını içeren 4°C'de 8 günlük simülasyon çalışması da yürütülmüştür.

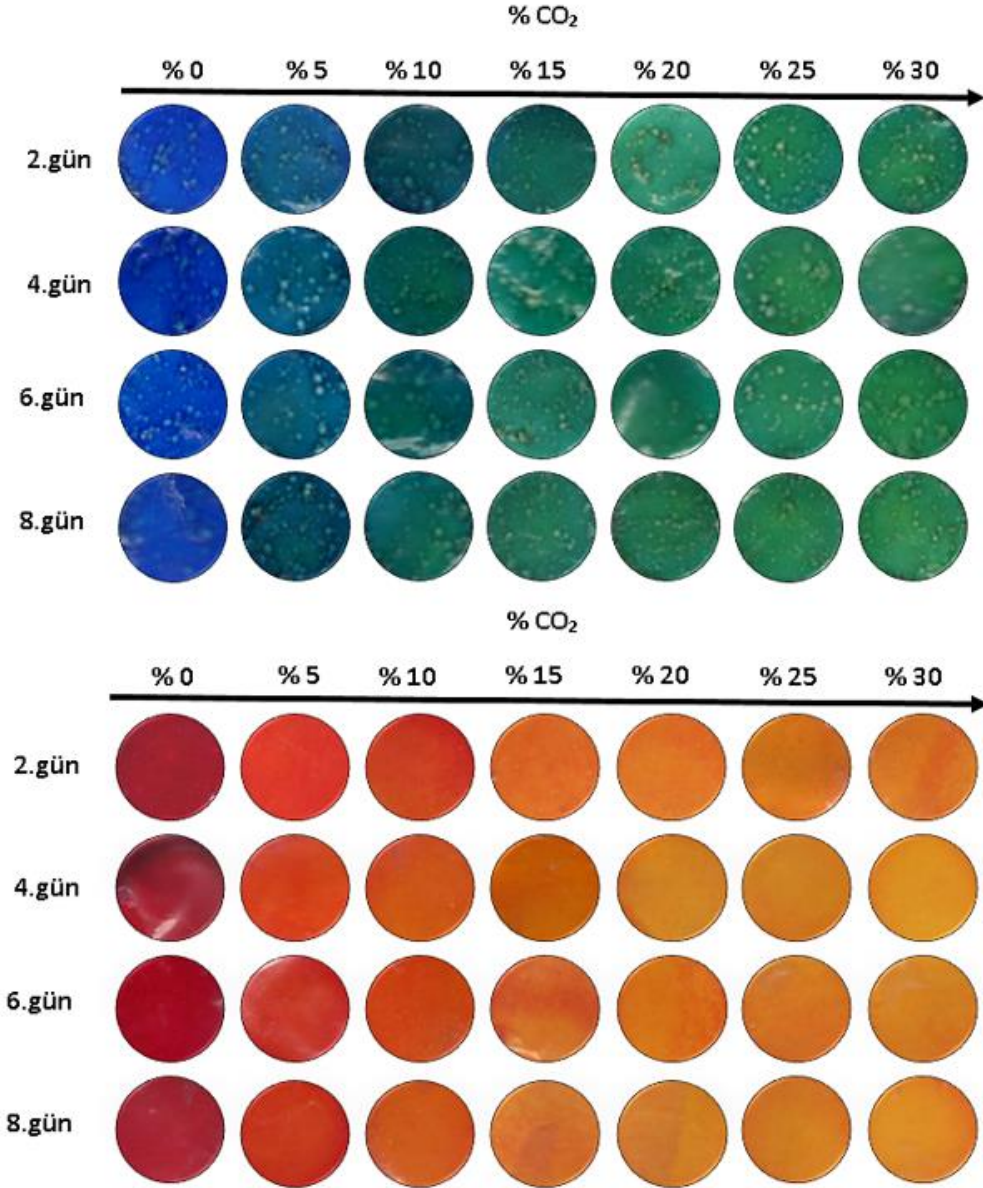
Depolama süresince tazelik indikatörlerinde meydana gelen renk dönüşümleri Şekil 4.6 (25°C’de 24 saat) ve Şekil 4.7’de (4°C’de 8 gün) verilmiştir.



Şekil 4.6. 25°C’de 24 saatlik depolama sonunda BTB ve PR içeren dopingli tazelik indikatörlerinin CO₂ konsantrasyonlarına bağlı olarak renk değişimi.

Simülasyon çalışmasının sonuçlarına göre BTB içeren indikatörlerde %10-15 CO₂ aralığında koyu maviden açık yeşile bir renk dönüşümü gözlenmiştir. PR içeren indikatörlerde ise %10-15 CO₂ aralığında çok hafif, %15-20 CO₂ aralığında ise daha belirgin bir renk dönüşümü gözlemlenmiştir. Şekil 4.6’ da da görüleceği üzere BTB içeren indikatörün yapısında bulunan baloncukların, metil selüloz bağlayıcısının fazla karışması sonucu ortamdaki nemi yapısına hapsedmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle, daha sonra üretilen indikatörlerde bu durum dikkate alınarak metil selüloz bağlayıcısı uygun sıcaklıktaki saf su içinde daha yavaş bir karıştırma hızında çözündürülmüştür. Bir önceki ön simülasyon denemesi ile kıyaslandığında renk dönüşümü bakımından minimal değişikliklerin gözlenmesi, indikatörlerin tekrarlanabilir sonuçlar sunduğunu göstermektedir. Toplam renk değişim değerleri ile tazelik indikatörlerinin görselleri arasındaki ilişki incelendiğinde, ΔE ve ΔRGB değerleri %5-10 ve %10-15 aralıklarında kademeli olarak artarken indikatörlerde de belirli bir renk dönüşümü tespit edilmiştir. BTB içeren indikatörlerde sırasıyla koyu maviden turkuaza ve yeşile renk değişimi gözlenirken, PR içeren indikatörlerde mordan kırmızı-turuncuya ve sarıya renk değişimi gözlenmiştir.

4°C’ de 8 gün olarak gerçekleştirilen çalışma sonucunda, depolamanın 2. gününde her iki tazelik indikatörü için de gıda bozulma aralığı olarak belirtilen %10-15 CO₂ aralığında belirgin bir renk dönüşümü bulunmaktadır. Şekil 4.7’den de görüleceği üzere BTB indikatörlerinde koyu maviden koyu yeşile renk değişimi, PR indikatörlerinde ise kırmızimsı turuncudan turuncu-sarıya renk değişimi gözlenmiştir.



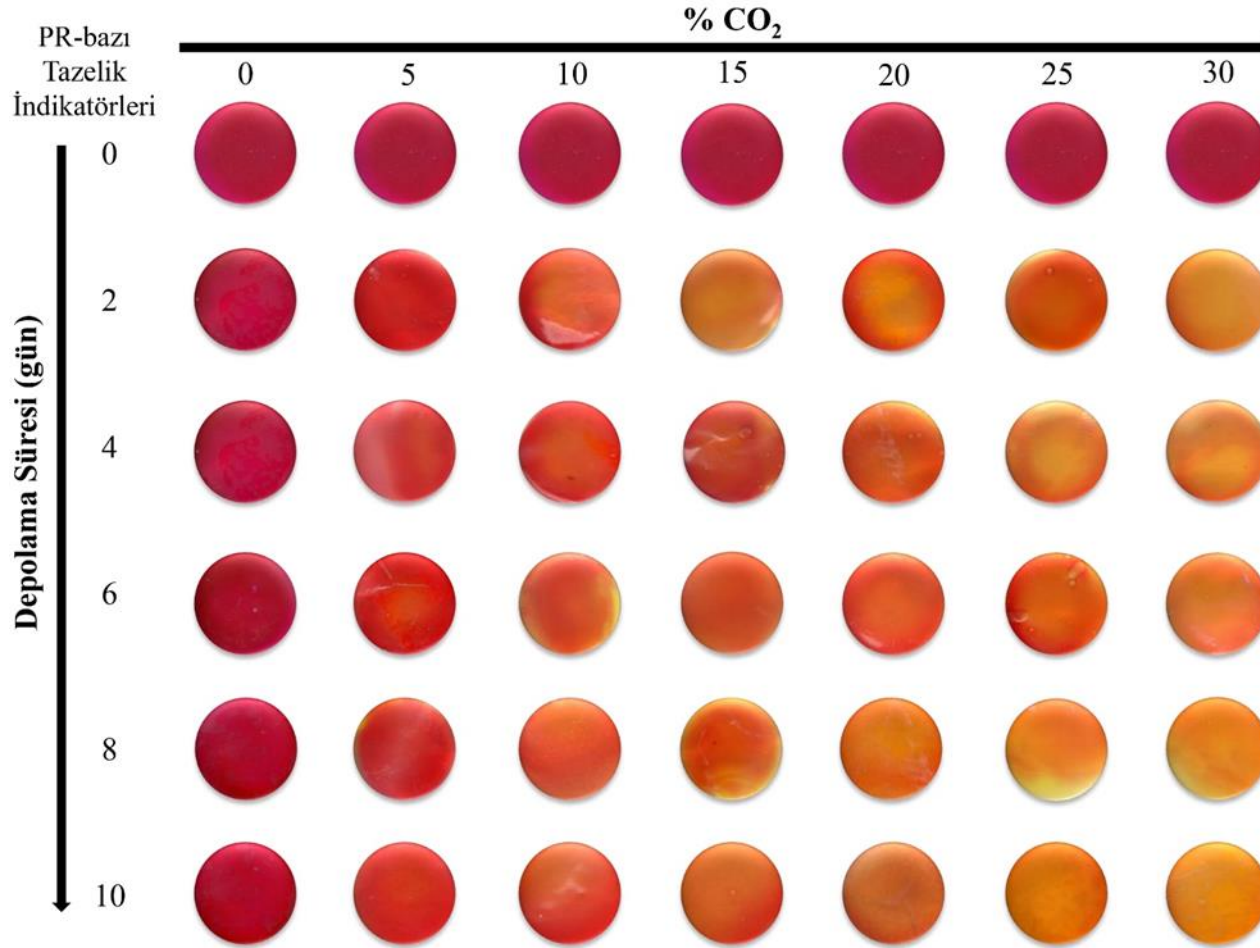
Şekil 4.7. 4°C’ de 8 günlük depolama sonunda BTB ve PR içeren dopingli tazelik indikatörlerinin CO₂ konsantrasyonlarına bağlı olarak renk değişimi.

BTB indikatörlerinde depolamanın 4. gününde %15-20 aralığındaki koyu yeşilden açık yeşile renk geçişi, depolamanın 2. gününde de gözlenmiş olup diğer depolama günlerinde çıplak gözle ayırt edilebilecek bir değişim bulunmamaktadır. Bunun nedeni, gazların düşük sıcaklıklarda çözünürlüğünün artması ile ambalaj içinde yer alan metabolitin boyalara hızlıca ulaşmasıdır. Bu nedenle boyalar depolamanın ilk günlerinde hızlıca doygunluk seviyesine ulaşmış ve renk dönüşümü depolamanın ilerleyen günlerinde daha yavaş seyretmiştir (Zhang ve Lim, 2018; Obaidi ve ark., 2022). Depolamanın 4. gününde PR içeren indikatörlerde %15-20 CO₂ aralığındaki turuncudan sarıya belirgin bir renk değişimi gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar

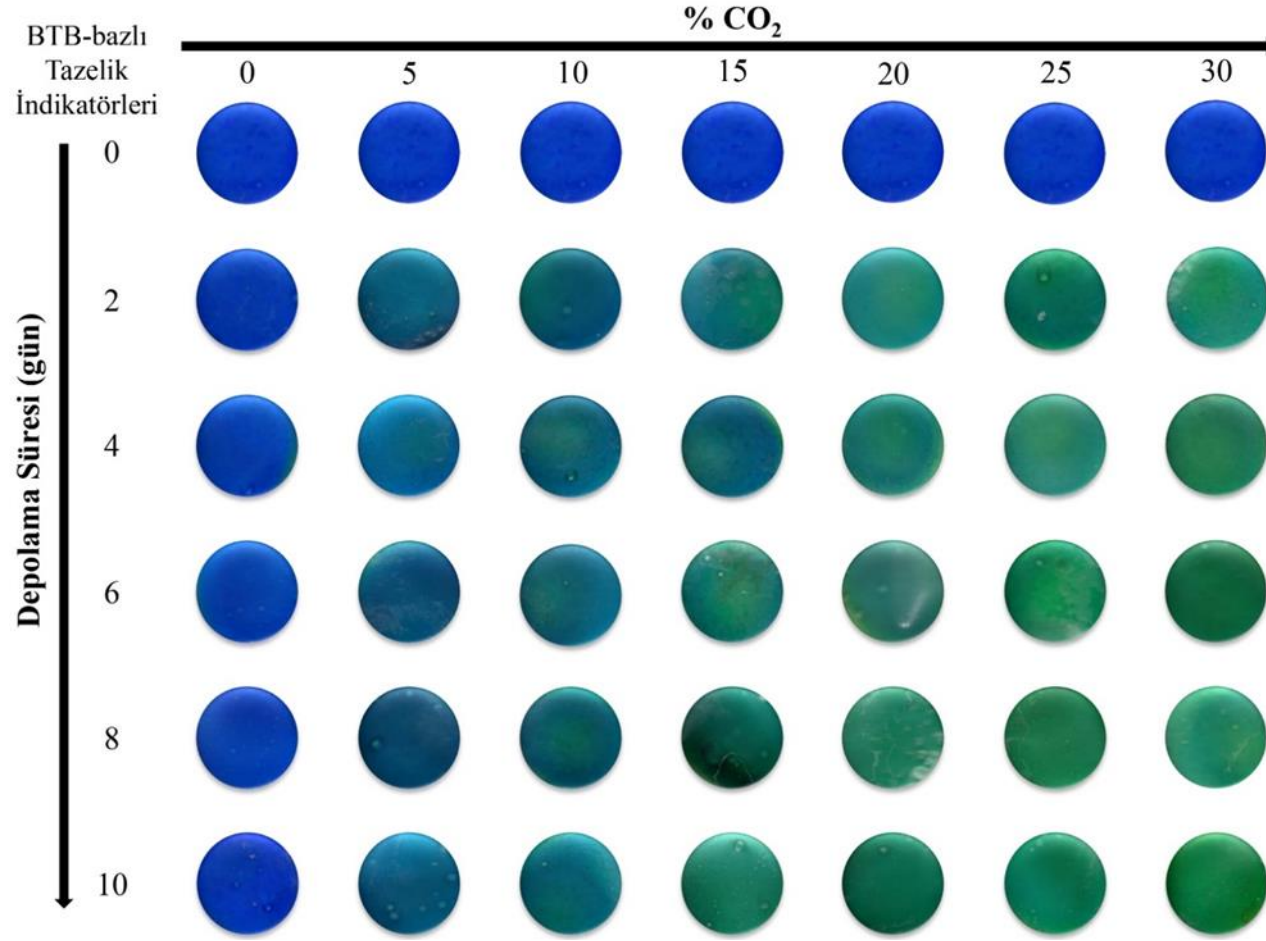
değerlendirildiğinde %1 oranında BTB ve PR boyalarını içeren dopingli tazelik indikatörlerinin, gıda validasyon çalışmasında değerlendirilme potansiyeli bulunmaktadır.

4.2. Simülasyon-Ana Deneme Çalışması

Gıda validasyon çalışması ile aynı koşulları sağlamak için 4°C'de 10 gün boyunca farklı CO₂ konsantrasyonlarına maruz kalan PR ve BTB bazlı tazelik göstergelerinin depolama süresince renk değişimleri Şekil 4. 8 ve Şekil 4.9'da gösterilmektedir. Her iki kolorimetrik tazelik indikatörü de CO₂ konsantrasyonundaki artışla kademeli bir renk değişimi göstermiştir. Soğukta depolama süresince %0-%30 CO₂ konsantrasyonları aralığında PR bazlı tazelik indikatörlerinde açık mordan turuncuya, BTB bazlı tazelik indikatörlerinde koyu maviden (lacivert) yeşile doğru renk değişimi gözlenmiştir. PR bazlı indikatörlerinin başlangıçtaki açık mor rengi, depolamanın 2. gününde %5 CO₂ konsantrasyonunda kırmızıya dönmeye başlamış ve CO₂ konsantrasyonunun %5'ten %30'a çıkmasıyla rengi kademeli olarak turuncudan sarımsı-turuncuya dönmüştür. BTB bazlı indikatörlerde, koyu mavi başlangıç renginin %5-10 CO₂ konsantrasyonu aralığında turkuaza döndüğü gözlenmiştir. CO₂ konsantrasyonunun %10'dan %15'e artmasıyla turkuazdan koyu yeşile doğru kademeli bir renk değişimi gözlenen BTB bazlı indikatörler, %15- 30 CO₂ aralığında koyu yeşilden açık yeşile renk dönüşümü göstermiştir.



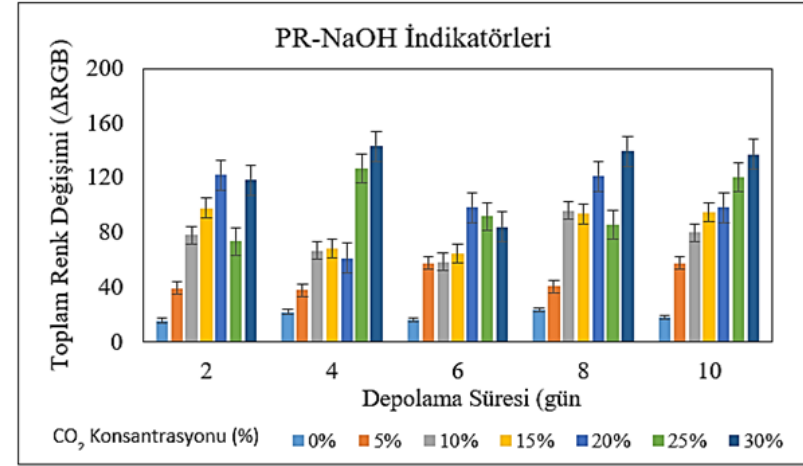
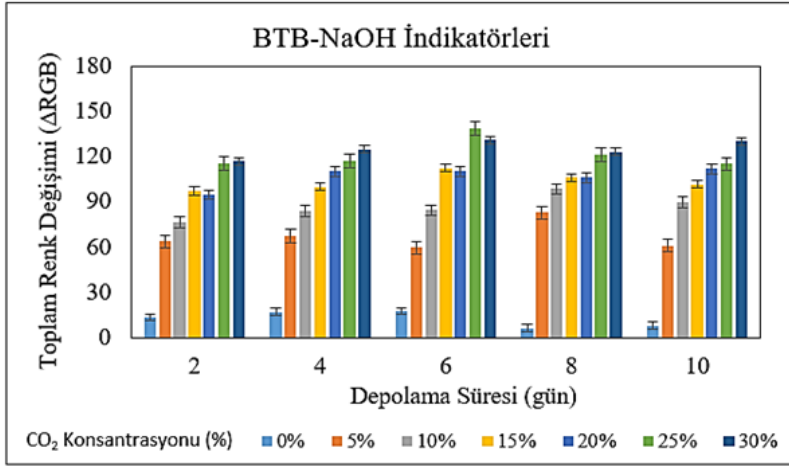
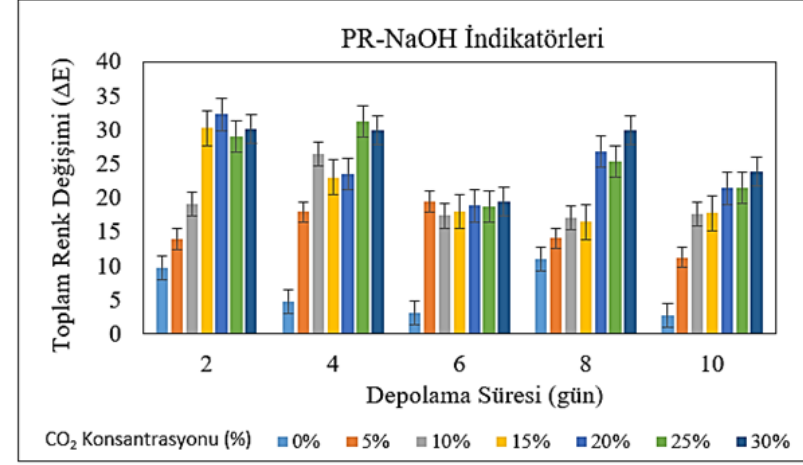
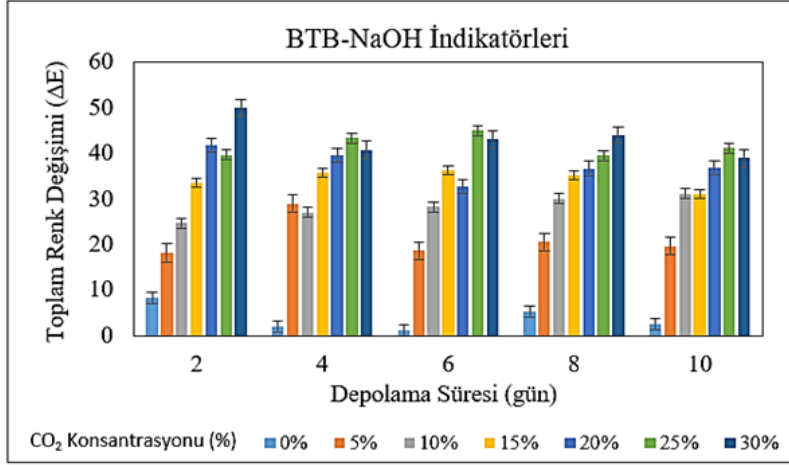
Şekil 4.8. 4°C’de 10 günlük depolama süresince PR içeren tazelik indikatörlerinin (dopingli) CO₂ konsantrasyonlarına bağlı olarak renk değişimi.



Şekil 4.9. 4°C’de 10 günlük depolama süresince BTB içeren tazelik indikatörlerinin (dopingli) CO₂ konsantrasyonlarına bağlı olarak renk değişimi

Genel olarak, PR ve BTB bazlı indikatörlerden elde edilen renk değişimlerinin CO₂ konsantrasyonundaki artışla kademeli olarak arttığı ve depolama sonunda indikatörlerin başlangıçtaki renklerinin gözle görülür bir şekilde değiştigi söylenebilir. Şekil 4.9'dan da görüldüğü gibi her iki boya için de hem ΔE hem de ΔRGB sonuçları, CO₂ konsantrasyonundaki artışla birlikte kademeli bir artış göstermiştir. Tazelik indikatörlerinin toplam renk değişimi değerleri dikkate alındığında, ΔRGB değerlerinin indikatörlerin renk değişimi görsellerini daha doğru bir şekilde yansıttığı tespit edilmiştir.

CO₂ konsantrasyonundaki artışla birlikte her iki tazelik indikatörünün de toplam renk değişimi değerleri (ΔE ve ΔRGB) artmasına rağmen 10 günlük simülasyon çalışmasında BTB bazlı tazelik indikatörlerinde gözlenen renk değişimi, PR bazlı indikatörlere kıyasla daha nettir. Şekil 4.10 incelendiğinde BTB bazlı tazelik indikatörlerinden elde edilen her iki renk değerinin de artan depolama süresi ve CO₂ konsantrasyonu ile kademeli olarak arttığı görülmektedir. Bununla birlikte, farklı depolama günlerinde veya farklı CO₂ konsantrasyonlarında PR bazlı tazelik indikatörlerinin görsellerine yansıyan renk dalgalanmalarının, toplam renk değişimi değerleri ile tutarlı olduğu tespit edilmiştir. Obaidi ve ark. (2022) tarafından geliştirilen PR ve BTB bazlı indikatörlerde, 4°C ve 25°C'de 24 saatlik simülasyon sırasında artan CO₂ konsantrasyonlarına karşı benzer renk değişimleri tespit etmişlerdir. Ancak literatürden farklı olarak bu çalışma, gıda bozulması sırasında artan CO₂ konsantrasyonu ile indikatörün renk değişimini ve gerçek gıda muhafaza koşullarını temsil etmek amacıyla 4°C'de 10 gün olarak yürütülmüştür.



Şekil 4.10. CO₂ simülasyonu süresince (4°C'de 10 gün) BTB ve PR bazlı tazelik indikatörlerinin toplam renk değişimi

4.3. Gıda Validasyonu

Simülasyon çalışmaları sonucunda, %1 BTB ve PR boyalarını içeren (dopingli) CO₂ duyarlı kolorimetrik tazelik indikatörleri ile çalışılmasına karar verilmiştir ve indikatörlerin etkinliği gıda validasyonu ile test edilmiştir. Üretim yöntemi 3.2. başlığı altında açıklanan şekilde üretimi gerçekleştirilen kolorimetrik tazelik indikatörleri, PA/PE ambalajların iç yüzeyine tutturulduktan sonra 200 g kemiksiz tavuk göğüs eti ambalajlara yerleştirilmiştir. Tavuk göğüs etleri MAP cihazı yardımıyla hava atmosferi (%80 N₂, %20 O₂) ve %100 N₂ atmosferi altında ambalajlanmıştır. Ambalajlı tavuk göğüslerini içeren ambalajlar +4°C’ de 10 gün süreyle depolanmış ve depolama süresince kalite parametrelerindeki değişimler izlenmiştir. BTB ve PR içeren kolorimetrik tazelik indikatörlerinin tavuk etinin bozulma sürecindeki renk değişimleri incelenmiştir.

4.3.1. Tepe boşluğu gaz kompozisyonu

Depolama süresince tavuk etini içeren ambalajların tepe boşluğu CO₂ ve O₂ (%) kompozisyonlarındaki değişimler Tablo 4.1’de verilmiştir. Hava atmosferi altında ambalajlanan grup için % O₂ konsantrasyonunda, depolama süresince önemli ölçüde azalma görülmektedir ($p \leq 0.05$). Bu azalma, bozulmaya neden olan mikroorganizmalar tarafından oksijenin kullanılması ile ilişkilendirilebilir. %100 N₂ altında ambalajlanan grupta, % O₂ konsantrasyonu depolama boyunca neredeyse sabit düzeyde ($p > 0.05$) ve oksijen oranı %0,07’nin altında kalmıştır. Depolama süresince her iki atmosferdede CO₂ konsantrasyonunun kademeli ve önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir ($p \leq 0,05$).

Tablo 4.1. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince tepe boşluğundaki % CO₂ ve O₂ oranları.

Atmosfer	Gaz (%)	Depolama süresi (gün)					
		0	2	4	6	8	10
Hava	CO ₂	0,00±0,00 ^A	4,75±0,54 ^B	6,38±0,70 ^C	12,89±2,32 ^D	15,59±0,60 ^E	15,33±1,20 ^E
	O ₂	20,90±0,00 ^A	17,36±0,62 ^B	16,04±1,08 ^C	6,15±4,21 ^D	0,25±0,35 ^E	0,16±0,15 ^E
%100 N ₂	CO ₂	0,00±0,00 ^A	4,25±0,27 ^B	4,88±0,48 ^B	5,64±0,32 ^B	7,03±1,55 ^{BC}	8,98±0,91 ^C
	O ₂	0,00±0,00 ^A	0,08±0,14 ^A	00,00±0,00 ^A	0,01±0,03 ^A	0,04±0,05 ^A	0,07±0,12 ^A

(A-E): Depolama süresince aynı satırdaki farklı harflere sahip ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p \leq 0,05$).

Hava atmosferi grubunda CO₂ konsantrasyonu depolamanın başlangıcında %0 CO₂ iken depolamanın 4. ve 6. gününde sırasıyla %6,38 ve %12,89 olarak ölçülmüştür. %100 N₂ ile ambalajlanan grupta ise CO₂ konsantrasyonu kademeli olarak artmış olup depolamanın 10. gününde %8.98'e ulaşmıştır. Ancak, %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan grupta CO₂ konsantrasyonunda kademeli bir artış olmasına rağmen maksimum CO₂ konsantrasyonu, hava atmosferi grubundaki kadar yüksek değildir. Ambalaj atmosferinde oksijenin bulunmaması, N₂ gazının koruyucu etkisini ortaya çıkarmış ve tavuk etinin bozulmasını yavaşlatmıştır. Mikrobiyolojik bozulma ile CO₂ oluşumu arasında iyi bir korelasyon olduğu için tavuk göğsü içeren paketlerin CO₂ konsantrasyonunun bozulma indekslerinden biri olduğu bildirilmektedir (Rukchon ve ark., 2014).

Rukchon ve ark. (2014) derisiz tavuk göğsü için bozulma aralığı olarak %10-15 CO₂ konsantrasyonlarını, Lee ve ark. (2019b) ise kimyasal bir bozulma indeksi olarak %20 CO₂ konsantrasyonunu bildirmişlerdir. Rukchon ve ark. (2014) 4°C'de depolanan tavuk göğsü etlerinin bulunduğu paketteki CO₂ konsantrasyonunun depolamanın 6. gününde %11,3'e yükseldiğini rapor etmişlerdir. Bu CO₂ konsantrasyonu seviyesinde örneklerin bozulmaya başladığını bildirmişlerdir. Choi ve ark. (2023) 10°C'de muhafaza edilen tavuk göğsü paketlerinde depolamanın 3. gününde CO₂ düzeyinin %15,38 olduğunu tespit etmişler ve bu sonuçların raf ömrünü sınırlayan mikrobiyolojik sonuçlarla korelasyon içinde olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, Lu ve ark. (2022), 4°C'de depolanan tavuk etinin CO₂ seviyesini depolamanın 3. gününde %13,8 olarak bildirmiştir. Literatür verilerine göre, hava atmosferi grubunda depolamanın 6. gününde CO₂ konsantrasyonu bozulma sınırına ulaşmıştır. Literatürde %100 N₂ atmosferinde gerçekleştirilen bir çalışma bulunmadığı için kıyaslama yapılamamıştır.

4.3.2. pH

Hava ve %100 N₂ atmosferlerinde ambalajlanmış tavuk göğüslerinin depolanması süresince pH değerlerindeki değişimler Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Tablo 4.2'den de görüldüğü gibi, taze tavuk göğsü etlerinin pH değeri depolama başlangıcında 6,12 olarak ölçülmüştür ve bu değer depolama süresince hava atmosferi grubunda 5,86-6,20 aralığında, %100 N₂ atmosferi grubunda ise 5,91-6,12 aralığında değişmektedir.

Hava atmosferi ile ambalajlanan grupta depolamanın 4. gününde pH değeri 5,86'ya düşmüştür ve bu azalma tavuk göğüslerinin başlangıç pH değerine göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Ancak bu değer 4. günden sonra yükselme eğilimine girmiş ve depolamanın 8. gününde 6,20 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.2. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince pH değerleri

Ambalaj Atmosferi	Depolama Süresi (gün)					
	0	2	4	6	8	10
Hava	6,12±0,04 ^{DC}	5,91±0,05 ^{AB}	5,86±0,03 ^A	5,95±0,01 ^{ABC}	6,20±0,00 ^D	5,97±0,01 ^{ABC}
% 100 N ₂	6,12±0,04 ^{DC}	5,91±0,05 ^{AB}	5,97±0,06 ^{ABC}	5,93±0,01 ^{ABC}	6,06±0,03 ^{BCD}	6,05±0,03 ^{BCD}

(A-D): Depolama süresince aynı satır ve sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p \leq 0,05$).

Benzer şekilde %100 N₂ altında ambalajlanan tavuk etinde depolamanın 6. gününde pH değeri 5,93'e düşmüş ve depolamanın 10. gününde 6,04'e yükselmiştir. pH düşüşü, mikrobiyal üreme sonucu laktik asit oluşumu ile açıklanabilir. Depolama süresince artan laktik asit miktarı, pH değerinin düşmesine neden olmuş olabilir. Ayrıca bu günlerden sonra pH değerindeki artış, mikrobiyal floranın proteolitik enzim aktiviteleri ile açıklanabilir. Proteolitik enzimler proteinleri ve amino asitleri parçalayarak ürünlerin tat, koku, görünüm gibi duyuşsal parametrelerini olumsuz olarak etkileyen putrefikasyon sürecine neden olmaktadır (Farber, 1991; Patsias ve diğeri, 2008; Talukder ve Mendiratta, 2017). Protein parçalanması sonucu oluşan azotlu bileşikler pH'da artışa neden olmaktadır.

Beauclercq ve ark. (2022) tavuk göğüs eti için 5,7 ile 6,1 arasındaki pH değerlerinin normal pH aralığı olduğunu bildirmiştir. Ayrıca literatürdeki bilgiler baz alındığında taze tavuk göğüs etinin pH değerleri 5,50-6,0 arasında (Kim ve ark., 2022; Lee ve ark., 2019a; Kuswandi ve ark., 2013; Obaidi ve ark., 2022) ve bozulmuş tavuk göğüs etinin pH değerinin 6,2 ile 6,6 arasında değiştiği bildirilmiştir (Kuswandi ve ark., 2013; Kim ve ark., 2017; Kim ve ark., 2022). Mevcut çalışmada, her iki atmosfer grubunda da depolama süresince tavuk göğüs etinin pH değerlerinde bazı dalgalanmalar görölse de bunlar normal pH aralığıda ölçülmüştür.

4.3.3. Toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) konsantrasyonu

Hava ve %100 N₂ atmosferlerinde ambalajlanan tavuk göğüs etlerinin depolama süresince TVB-N konsantrasyonlarındaki değişimler Tablo 4.3' de verilmiştir. Depolama süresince her iki atmosfer grubunda da tavuk göğüs etinin TVB-N değerlerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış gözlemlenmiştir ($p \leq 0.05$). Hava atmosferi altında ambalajlanan taze tavuk etinde (0. gün) TVB-N konsantrasyonu 7.67 mg/100 g iken, depolamanın 4. gününde 19.44 mg/100 g, 6. gününde ise 28.72 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüslerinde TVB-N konsantrasyonu ise depolamanın 4. gününde 11,51 mg/ 100 g, 6. gününde 19,35 mg/ 100 g ve 8. gününde 21,90 mg/ 100 g olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.3. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince TVB-N değerleri.

Ambalaj Atmosferi	Depolama Süresi (gün)					
	0	2	4	6	8	10
Hava	7,67±2,10 ^A	9,32±1,73 ^{AB}	19,44±0,32 ^{BCD}	28,72±0,39 ^D	27,66±1,39 ^D	29,38±0,87 ^D
%100 N ₂	7,67±2,10 ^A	11,24±3,78 ^{ABC}	11,51±2,45 ^{ABC}	19,34±1,30 ^{BCD}	21,91±2,47 ^{CD}	20,54±0,80 ^{CD}

(A-D): Depolama süresince aynı satır ve sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p \leq 0,05$).

Literatürde, tavuk göğüs etindeki bozulma ile ilişkisi olan metabolitler arasında TVB-N'nin önemli bir yere sahip olduğu ve TVB-N değerlerindeki artışın tavuk etinde tazeliğin kaybına neden olduğu rapor edilmiştir (Rukchon ve ark., 2014; Lee ve ark., 2019a; Kim ve ark., 2022). Literatürde tavuk göğüs eti için TVB-N bozulma limiti 20 mg/100 g olarak belirtilmiştir ve 4°C' de hava atmosferinde ambalajlanan tavuk göğsü etlerinde bu değere genellikle depolamanın 6. gününde ulaşıldığı bildirilmiştir (Kim ve ark., 2017; Lee ve diğerleri, 2019a, 2019b; Kim ve diğerleri, 2022; Obaidi ve diğerleri, 2022). Bu çalışmada hava atmosferi altında ambalajlanan örneklerde TVB-N değeri depolamanın 4.gününde 19.44 mg/100 g, %100 N₂ atmosferi altında ambalajlanan örneklerde ise depolamanın 6. gününde 19.35 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. TVB-N değeri hava atmosferi grubunda depolamanın 6. gününde 28,72 mg/100 g olarak, %100 N₂ atmosferi grubunda ise depolamanın 8. gününde 21,9 mg/100 g olarak ölçülmüştür. Bu değerler, literatürde bildirilen 20 mg/100 g olan TVB-N bozulma sınırının üzerine çıktığını göstermektedir.

4.3.4. Trimetilamin (TMA) konsantrasyonu

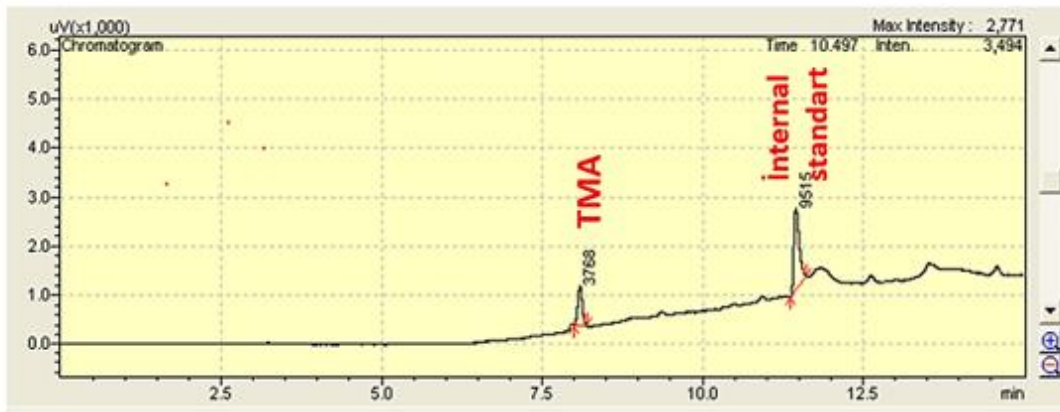
Hava ve %100 N₂ atmosferlerinde ambalajlanan tavuk göğüs etlerinin depolanma süresince TMA konsantrasyonlarında meydana gelen değişim Tablo 4.4' te gösterilmiştir. TMA kalibrasyon eğrisi ve GC' de elde edilen bir kromatogram örneği Şekil 4.11 ve Şekil 4.12' de verilmiştir. Tavuk göğsündeki TMA konsantrasyonları, hava atmosferi altında ambalajlanan grupta 1,25 ila 2,98 mg/100 g arasında, %100 N₂ atmosferi altında ambalajlanan grupta ise 0,68 ila 2,47 mg/100 g arasındadır.

Tablo 4.4. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince TMA değerleri (mg/100g).

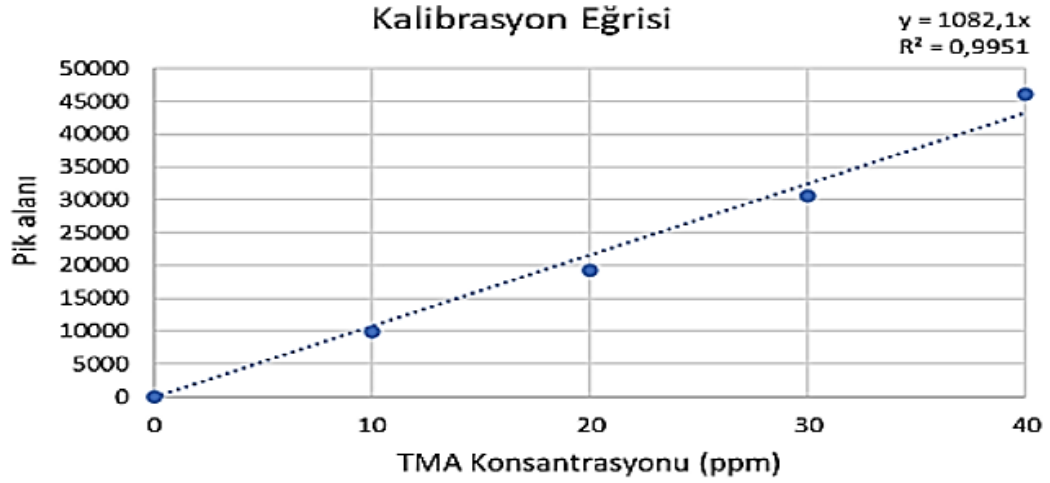
Ambalaj Atmosferi	Depolama Süresi (gün)					
	0	2	4	6	8	10
Hava	1,36±0,00 ^A	1,26±0,09 ^A	1,60±0,07 ^A	2,05±0,54 ^A	2,69±0,25 ^A	2,98±1,18 ^A
%100 N ₂	0,68±0,00 ^A	1,87±0,91 ^A	2,47±0,19 ^A	1,24±0,21 ^A	1,95±0,10 ^A	2,05±0,72 ^A

(A): Depolama süresince aynı satır ve sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p \leq 0,05$).

Balamatsia ve ark. (2006), aerobik olarak muhafaza edilen taze tavuk etinde TMA kabul sınır değerinin 2,5 ve 2,6 mg N/100 g olduğunu bildirmiştir. Mevcut çalışmada hava atmosferi altında ambalajlanan grubun TMA konsantrasyonu, depolamanın 6. ve 8. günlerinde sırasıyla 2.04 mg/100 g ve 2.68 mg/100 g değerlerine ulaşmıştır. %100 N₂ atmosferi altında ambalajlanan gruplarda ise depolamanın 4., 6. ve 8. günlerinde TMA konsantrasyonları sırasıyla 2.47, 1.24 ve 1.95 mg/100 g olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.11. TMA kromatogram örneği.



Şekil 4.12. TMA kalibrasyon eğrisi.

Genel olarak tavuk etlerinin TMA konsantrasyonları depolama süresince artış göstermiş olmasına rağmen bu artış, depolama süresince grupların hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ayrıca tavuk göğsünün TMA düzeylerinde belirlenen artış ile diğer bozulma parametreleri arasında bir korelasyon bulunamamıştır. Depolama sırasında amonyak, DMA, MA gibi oluşan farklı uçucu amin bileşiklerinin daha yüksek konsantrasyonda olduğu veya TMA'nın bu bileşiklere ayrışması nedeniyle daha düşük konsantrasyonda tespit edildiği söylenebilir.

4.3.5. Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) ve *Pseudomonas spp.* sayısı

Hava ve %100 N₂ atmosferlerinde ambalajlanan tavuk göğüs etlerinde, depolanma süresince TMAB ve *Pseudomonas spp.* yükleri Tablo 4.5' te yer almaktadır. Tavuk göğüs etinin başlangıç TMAB yükü 3,38 log kob/g olarak belirlenmiştir. TMAB yükü, depolama süresince önemli düzeyde artarak hava atmosferi altında ambalajlanan grupta depolamanın 4. ve 6. günlerinde sırasıyla 5,10 ve 6,64 log kob/g değerlerine ulaşmıştır ($p \leq 0,05$). Benzer şekilde %100 N₂ atmosferi altında ambalajlanan tavuk göğüslerinin TMAB yükü, depolama süresince önemli düzeyde artmış ve depolamanın 6. ve 8. günlerinde sırasıyla 6.16 ve 6.62 log kob/g olarak belirlenmiştir ($p \leq 0,05$).

Her iki atmosferdede depolama süresince *Pseudomonas spp.* yüklerinde önemli düzeyde artış tespit edilmiştir ($p \leq 0,05$). Başlangıç *Pseudomonas spp.* yükü (3,62 log kob/g) depolama süresince artarak hava atmosferi grubunda depolamanın 4. ve 6. gününde sırasıyla 6,21 ve 7,40 log kob/g değerlerine ulaşmıştır ($p \leq 0,05$). %100 N₂

atmosferi altında ambalajlanan grupta ise *Pseudomonas spp.* yükü, depolamanın 6. ve 8. günlerinde sırasıyla 5.96 ve 6.88 log kob/g'a yükselmiştir.

Tablo 4.5. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince TMAB ve *Pseudomonas spp.* sayıları.

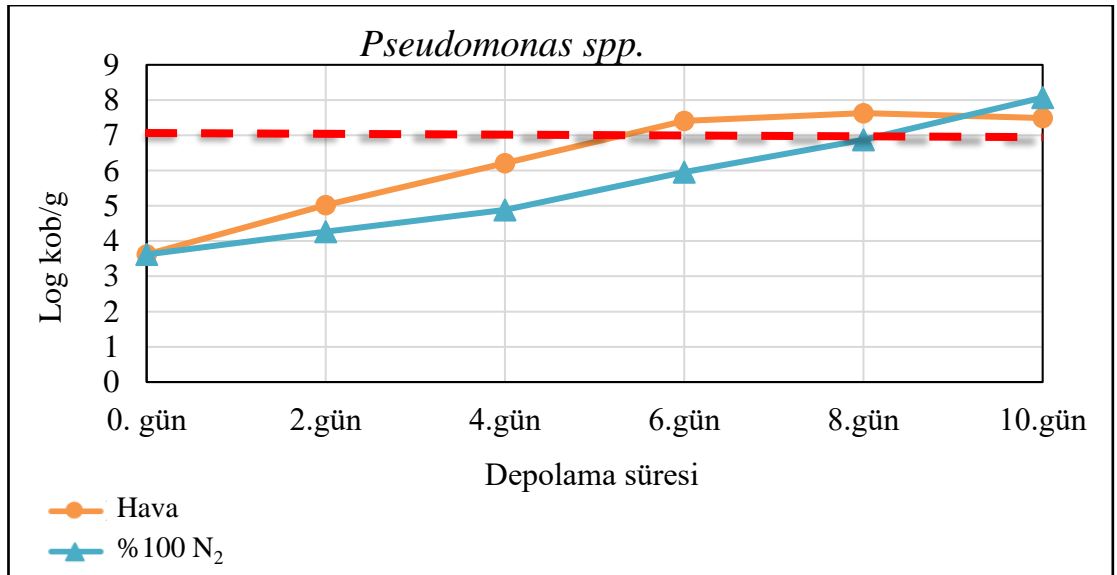
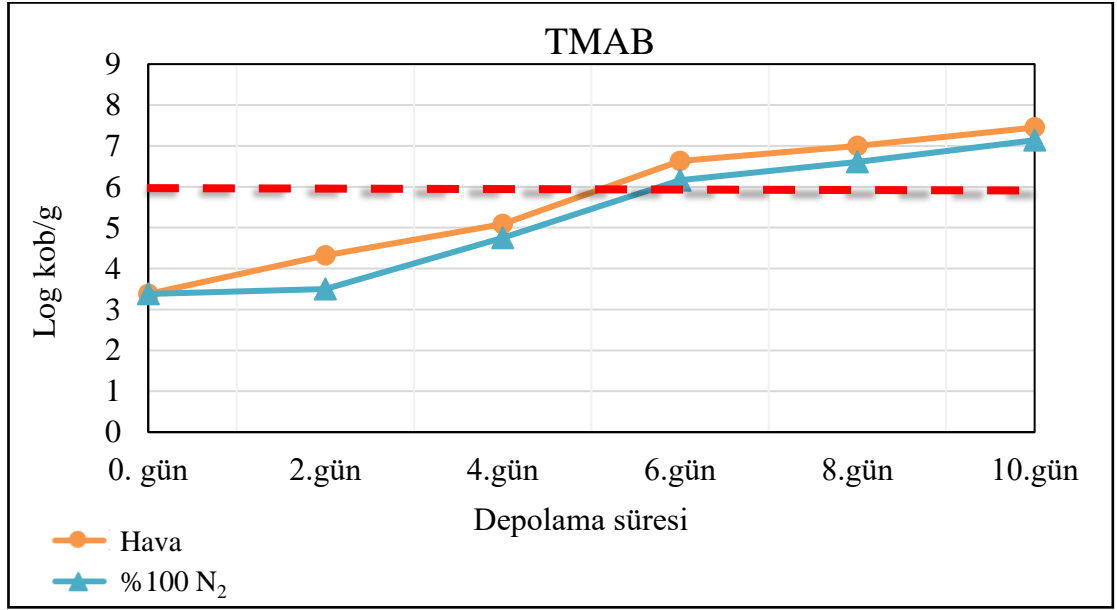
Atmosfer	Depolama Süresi (gün)					
	0	2	4	6	8	10
Hava						
TMAB	3,38±0,22 ^A	4,32±0,27 ^{AB}	5,10±0,15 ^{BC}	6,64±0,25 ^{DE}	7,00±0,35 ^{DE}	7,45±0,15 ^E
<i>Pseudomonas spp.</i>	3,62±0,07 ^A	5,03±0,15 ^{AB}	6,21±0,16 ^{BCD}	7,40±0,36 ^{DE}	7,63±0,37 ^E	7,50±0,01 ^{DE}
%100 N ₂						
TMAB	3,38±0,22 ^A	3,50±0,21 ^A	4,74±0,26 ^B	6,16±0,15 ^{CD}	6,62±0,09 ^{DE}	7,14±0,04 ^{DE}
<i>Pseudomonas spp.</i>	3,62±0,07 ^A	4,28±0,07 ^A	4,88±0,46 ^{AB}	5,96±0,27 ^{BC}	6,88±0,40 ^{CDE}	8,08±0,09 ^E

(A-E): Depolama süresince aynı satır ve sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p \leq 0,05$).

Literatürde TMAB ve *Pseudomonas spp.* kanatlı etinde bozulmayı gösteren mikroorganizmalar olarak kabul edilmiştir (Balamatsia ve ark., 2007; Rukchon ve ark., 2014; Lee ve ark., 2019b). Bu mikroorganizmalar, taze tavuk göğüs etinde genellikle başlangıçta 3-4,7 log kob/g düzeyinde bulunmuş olup depolama süresince artarak ürünün bozulmasına neden olmuştur. Aerobik olarak depolanan tavuk göğüs etinde TMAB ve *Pseudomonas* için bozulma sınır değerleri sırasıyla 6 ve 7 log kob/g olarak kabul edilmiş ve bu sınırdan sonraki değerlerde ürünler bozulmuş olarak değerlendirilmiştir (Rukchon ve ark., 2014; Kim ve ark., 2017; Lee ve ark., 2019; Franco ve diğerleri, 2021; Kim ve diğerleri, 2022). Bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde Lee ve ark. (2019b) tarafından yapılan araştırmada 4°C'de aerobik olarak muhafaza edilen tavuk göğüslerinde depolamanın 6. gününde TMAB ve *Pseudomonas spp.* yüklerinin bozulma sınırlarını aştığı bildirilmiştir. Tavuk göğüslerindeki *Pseudomonas spp.* yükünün 7.00 log kob/g üzerine çıkması Rukchon ve ark. (2014) tarafından bozulmanın ilk belirtisi olarak bildirilmiştir. Çalışmada 4°C'de depolanan tavuk örneklerindeki *Pseudomonas spp.* seviyesinin 7,00 log kob/g üzerine çıkması nedeniyle raf ömrü 6,12 gün ile sınırlandırılmıştır (Rukchon ve ark., 2014).

Bu bilgilere göre mevcut çalışmada Şekil 4.13'ten de görüleceği üzere, hava atmosferi altında ambalajlanan tavuk göğüs etlerinin TMAB ve *Pseudomonas spp.* yükleri, depolamanın 4. gününde bozulma sınırına ulaşmamışken depolamanın 6. gününde bozulma sınırını aşmıştır.

%100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğsünde, TMAB seviyeleri depolamanın 6. gününde hala kabul edilebilir düzeyde iken depolamanın 8. gününde bozulma sınırını aşmıştır. Ayrıca %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüslerinde, *Pseudomonas spp.* yükleri, depolamanın 8. gününde hala kabul edilebilir en yüksek sınır değerinin altında olup (6,88 log kob/g) bu değer depolamanın 10.gününde aşılmıştır.



Şekil 4.13. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğsünde mikrobiyolojik sayım sonuçları.

Bununla birlikte, hava atmosferi altında ambalajlanan ve soğukta depolanan tavuk etlerinin bozulmasında TMAB ve *Pseudomonas spp.* önemli bir rol oynarken, %100 N₂ (MAP) altında ambalajlanan tavuk etlerinin bozulmasında laktik asit bakterileri ve

Enterobactereceae türlerinin baskın flora olduğu bilinmektedir (Balamatsia ve ark., 2006; Patsias ve ark., 2008; Höll ve ark., 2016).

4.3.6. Duyusal değerlendirme

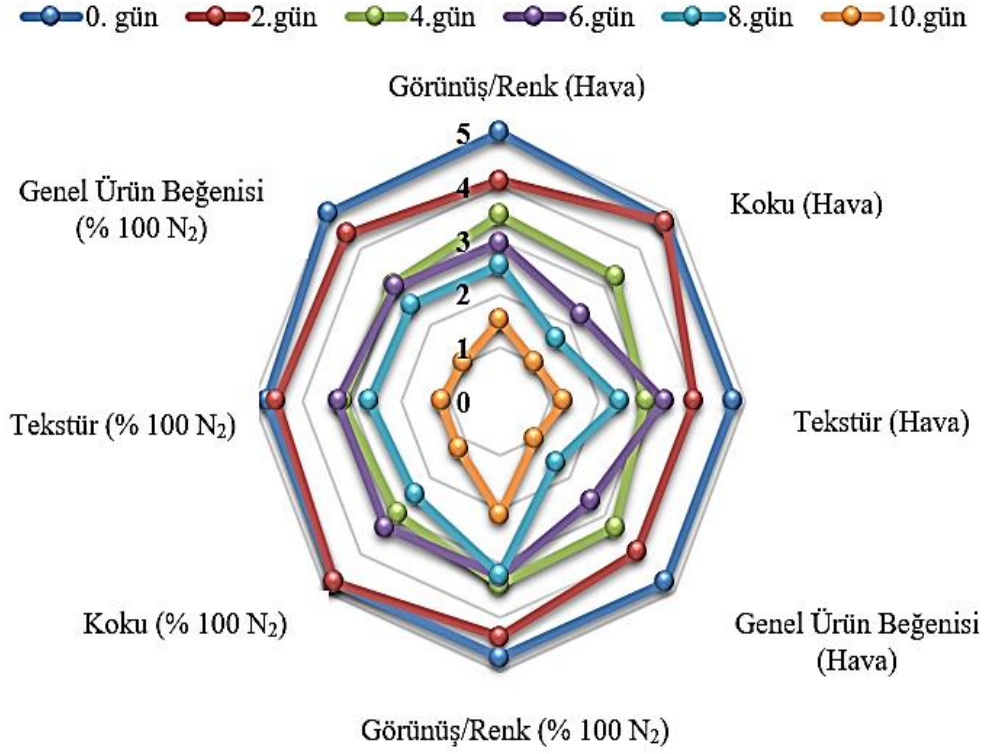
Tavuk göğüslerinin 4°C' de 10 gün süreyle muhafazası sırasında duyusal parametrelerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.6 'da verilmiştir. Tavuk göğüs etlerinin duyusal kalite parametrelerinin kabul edilebilirlik puanları, depolama süresince her iki atmosferde ambalajlanan grupta da önemli düzeyde azalmıştır ($p \leq 0,05$). Hava atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüs etlerinin dış görünüş-renk (3,45), koku, (3,30) tekstür (2,95) ve genel beğeni (3,30) puanları depolamanın 4. gününde kabul edilebilir bulunmuştur.

Tablo 4.6. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince duyusal kalitesindeki değişimler.

Kriter	Grup	Depolama süresi (gün)					
		0.gün	2.gün	4.gün	6.gün	8.gün	10.gün
Renk	Hava	5,00±0,00 ^A	4,1±0,30 ^{ABCD}	3,45±0,35 ^{ABC}	2,95±0,50 ^{CDEF}	2,55±1,00 ^{DEF}	1,51±0,40 ^F
	N ₂	4,75±0,05 ^{AB}	4,35±0,05 ^{ABC}	3,4±0,40 ^{ABCDE}	3,25±0,35 ^{BCDE}	3,20±0,40 ^{BCDE}	2,10±0,30 ^{EF}
Koku	Hava	4,75±0,15 ^A	4,75±0,05 ^A	3,30±0,00 ^B	2,30±0,00 ^D	1,65±0,05 ^E	1,00±0,00 ^F
	N ₂	4,75±0,15 ^A	4,75±0,05 ^A	2,95±0,15 ^{BC}	3,30±0,10 ^B	2,45±0,05 ^{CD}	1,20±0,20 ^{EF}
Tekstür	Hava	4,75±0,15 ^A	3,95±0,15 ^{BC}	2,95±0,05 ^{DE}	3,35±0,05 ^{CD}	2,45±0,25 ^E	1,30±0,00 ^F
	N ₂	4,75±0,15 ^A	4,55±0,25 ^{AB}	3,20±0,10 ^{DE}	3,30±0,00 ^{CD}	2,65±0,15 ^{DE}	1,20±0,10 ^F
Genel Beğeni	Hava	4,75±0,15 ^{AB}	3,95±0,05 ^{BC}	3,30±0,10 ^{CD}	2,60±0,30 ^D	1,60±0,20 ^{EF}	1,00±0,03 ^F
	N ₂	4,95±0,05 ^A	4,40±0,20 ^{AB}	3,10±0,10 ^{CD}	3,00±0,30 ^{CD}	2,55±0,25 ^{DE}	1,05±0,05 ^F

(A-F): Depolama süresince aynı satır ve sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p \leq 0,05$).

Hava atmosferinde depolamanın 6. gününde ise yalnızca tekstür değeri 3 puanın üzerinde kalmış olup diğer parametrelerin kabul edilebilir (3 puan) puanın altında olduğu gözlemlenmiştir. Depolama süresince duyusal değişimlerin her iki atmosfer için karşılaştırıldığı grafik Şekil 4.14'te gösterilmektedir. %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğsünde dış görünüş-renk, koku, tekstür ve genel beğeni puanları depolamanın 6. gününde kabul edilebilir limitin üzerinde bulunmuştur. Depolamanın 8. gününde ise koku, tekstür ve genel kabul puanları sırasıyla 2,45, 2,65 ve 2,55 olarak tespit edilmiş ve kabul edilebilir sınırın altında bulunmuştur.



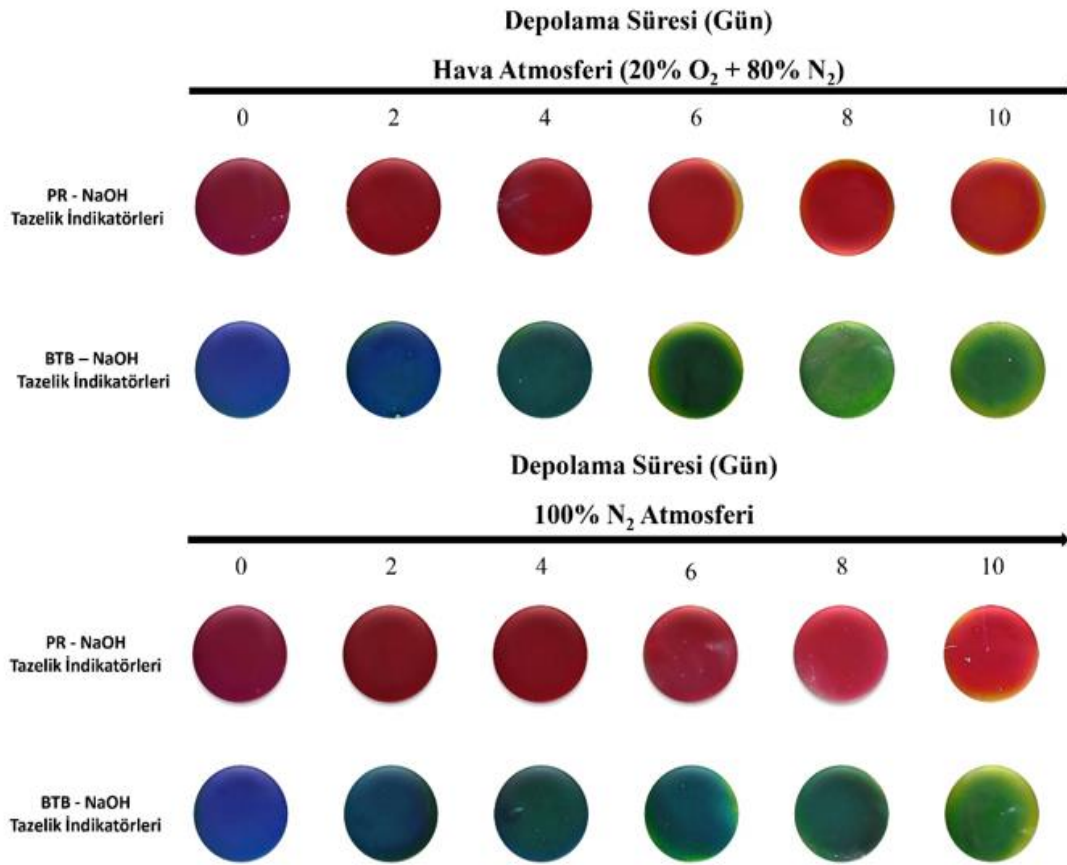
Şekil 4.14. Depolama süresince duyusal özelliklere ait örümcek ağı grafiği.

Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüs etlerinin raf ömrü CO₂, TVB-N, mikrobiyolojik ve duyusal analiz sonuçları ile uyumlu olarak sırasıyla 4 ve 6 gün olarak belirlenmiştir.

4.3.7. Gıda validasyonu çalışmasında kolorimetrik tazelik indikatörlerinin renk değişimi

Hava ve %100 N₂ atmosferlerinde depolama süresince belirlenen tazelik indikatörlerinin renk değerleri Tablo 4.7, Tablo 4.8, Tablo 4.9 ve Tablo 4.10'da yer almaktadır. Hava ve %100 N₂ atmosferlerinde ambalajlanan tavuk göğüs etinin bozulma süreçleri izlenmiş olup tazelik indikatörlerinin renk değişimi ve ambajlı tavuk göğüsü görselleri Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de verilmiştir. Her iki tazelik indikatörü ve her iki ambalaj atmosferi için de ΔE ve ΔRGB değerleri, artan CO₂ miktarıyla birlikte kademeli olarak artış göstermiştir. PR bazlı tazelik indikatörlerinin ΔE değerleri hava atmosferi grubunda 0'dan 25,26'ya yükselirken %100 N₂ atmosferi grubunda 0'dan 20,71'e artış göstermiştir. PR bazlı tazelik indikatörlerinin ΔRGB değerleri hava atmosferi grubunda 0'dan 0'a 87,35'e yükselirken, %100 N₂ atmosferi grubunda 0'dan 56,70'e artış göstermiştir. BTB bazlı tazelik indikatörlerinde ise her iki atmosfer grubunda depolama süresi boyunca daha

yüksek toplam renk değişimi tespit edilmiştir. BTB bazlı tazelik indikatörlerinin ΔE değerleri hava atmosferi grubunda 0'dan 39,95'e, %100 N₂ atmosferi grubunda 0'dan 32,97'ye yükselmiştir. ΔRGB değerleri hava atmosferi grubunda 0'dan 115,87'ye yükselirken %100 N₂ atmosferi grubunda 0'dan 89,09'a artış göstermiştir. Her iki atmosferde de depolamanın 2. gününde PR bazlı indikatörlerin rengi mordan (başlangıç rengi) koyu kırmızıya dönmüştür. PR bazlı indikatörler depolamanın 6. ve 8. günlerinde açık kırmızı-turuncuya dönerken depolamanın 10. gününde kırmızısı-turuncuya doğru bir renk dönüşümü gözlenmiştir.

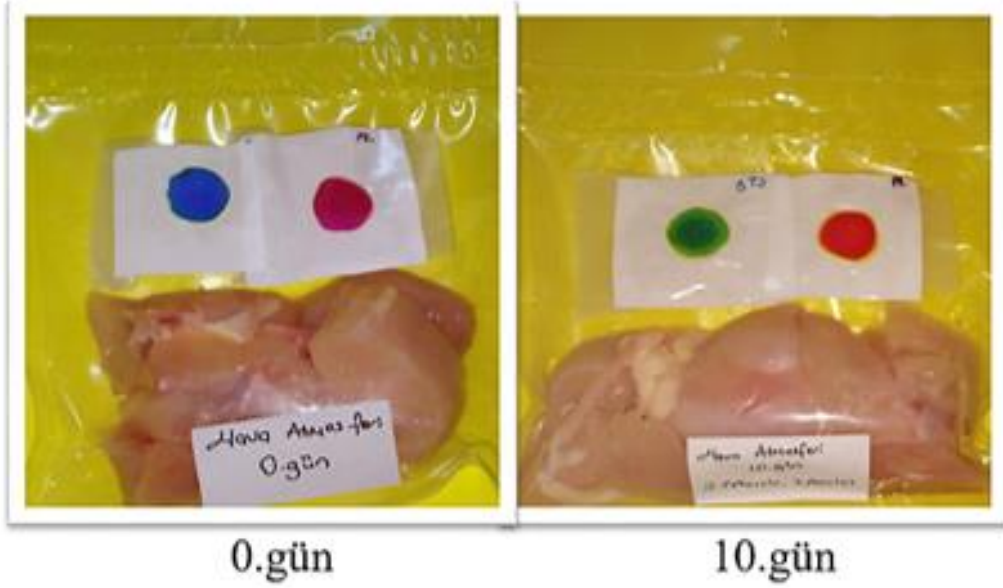


Şekil 4.15. Tavuk göğüs etlerinin hava ve %100 N₂ atmosferinde depolanması sürecinde tazelik indikatörlerinin renk değişimi.

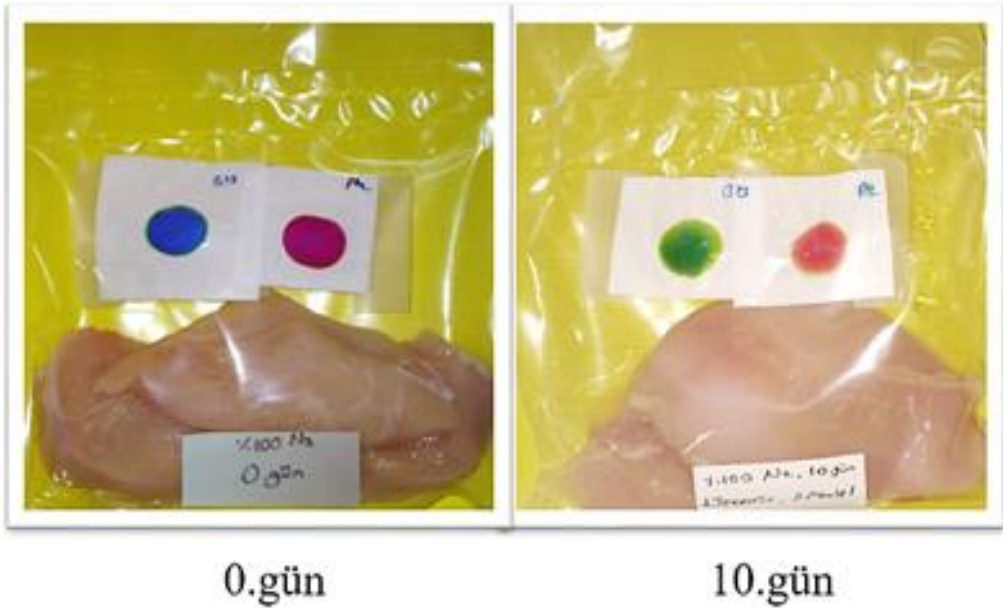
Her iki atmosferde de depolamanın 2. gününde BTB bazlı tazelik indikatörlerinin renklerinin koyu maviden turkuaza döndüğü gözlenmiştir. Depolamanın 2. gününden sonra turkuaz rengi yeşile dönmeye başlamıştır. Hava atmosferi grubunda 4. günde, %100 N₂ grubunda ise 6. günde koyu yeşil renk gözlenmiştir. Hava atmosferinde ambalajlanan BTB bazlı indikatörlerin rengi, depolamanın 6. gününde açık yeşil tonda ve depolamanın 8. gününde açık yeşil olarak gözlenmiştir. %100 N₂ atmosferi

grubunda depolamanın 8. gününde indikatörlerin rengi biraz daha belirgin bir yeşil iken depolamanın 10. gününde hava atmosferi grubundaki gibi açık yeşile dönmüştür. %100 N₂ atmosferi gruplarında rengin daha yavaş değişmesinin nedeni, N₂ gazının inert ve koruyucu etkisi nedeniyle mikrobiyal gelişmenin baskılanması ile CO₂ üretiminin yavaşlamasına bağlanmaktadır (Salinas ve ark, 2012; Racionero ve ark., 2017).

Hava Atmosferinde Ambalajlanan Tavuk Göğüs Etlerinin Bozulma Süreçleri (4°C, 10 gün)

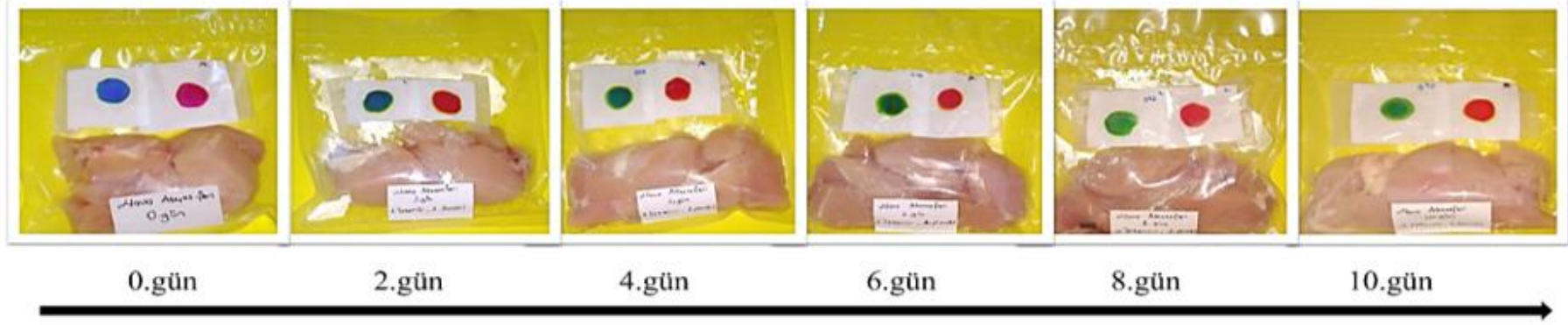


%100 N₂ Atmosferinde Ambalajlanan Tavuk Göğüs Etlerinin Bozulma Süreçleri (4°C, 10 gün)



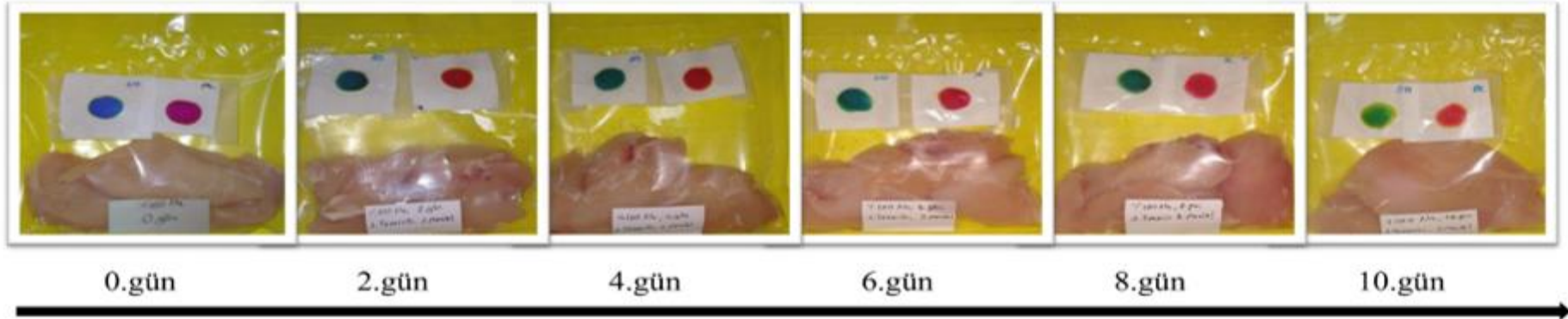
Şekil 4.16. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüslerinin depolamanın ilk ve son günlerindeki görselleri.

Hava Atmosferinde Ambalajlanan Tavuk Göğsünün Bozulma Süreçleri (4°C, 10 gün)

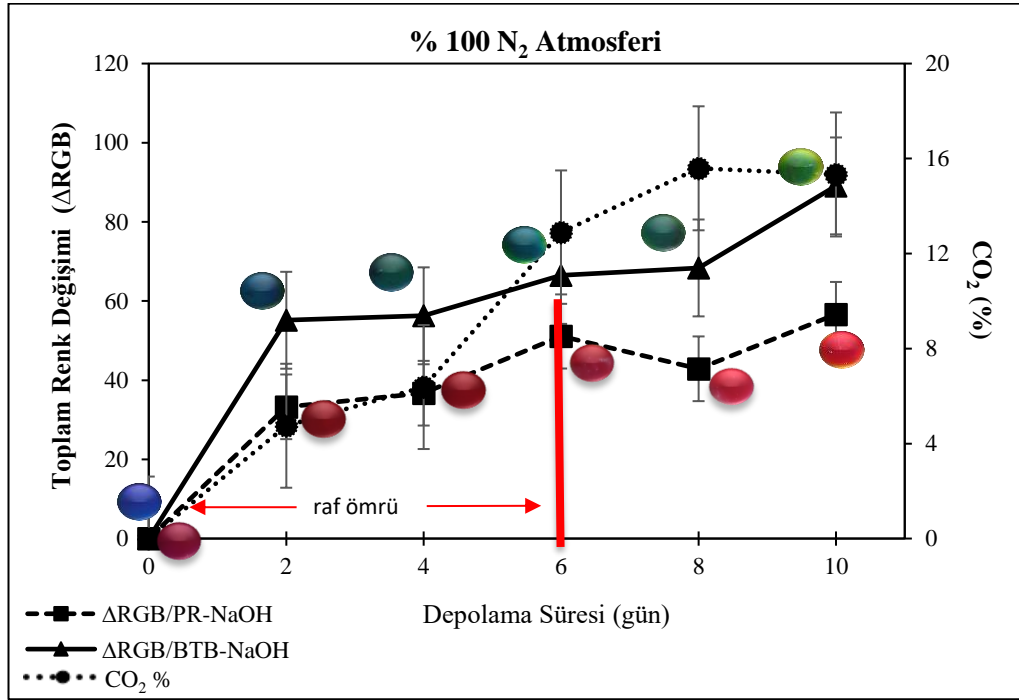
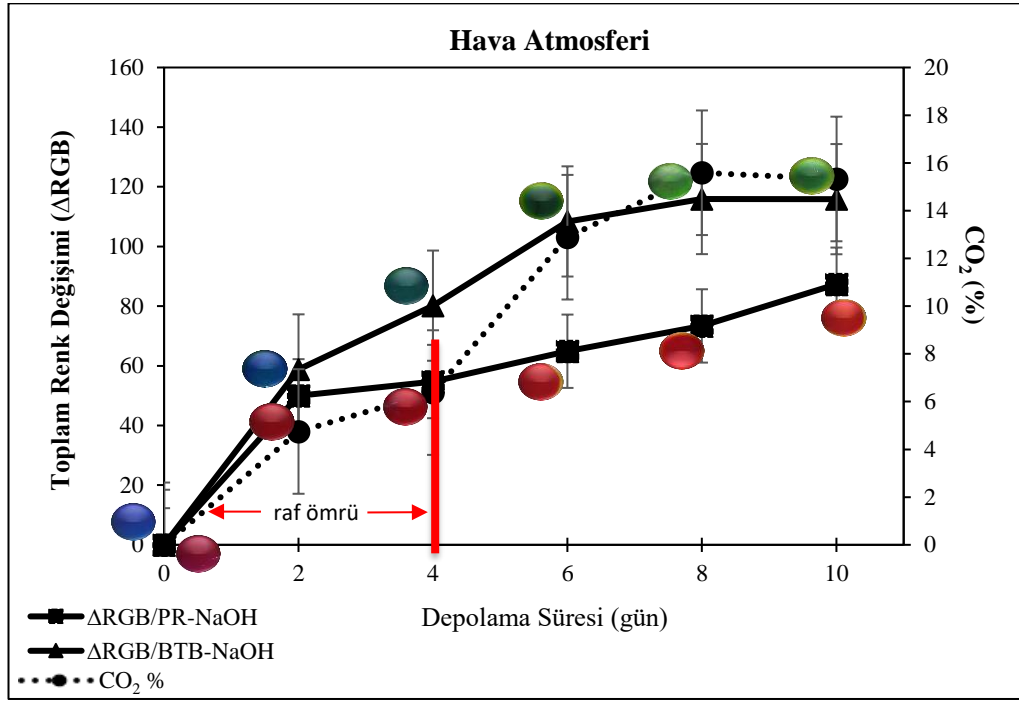


Şekil 4.17. Hava atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüslerinin depolama süresince (4°C, 10 gün) görselleri.

%100 N₂ Atmosferinde Ambalajlanan Tavuk Göğsünün Bozulma Süreçleri (4°C, 10 gün)



Şekil 4.18. %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüslerinin depolama süresince (4°C, 10 gün) görselleri.



Şekil 4.19. Depolama süresince artan CO₂ metaboliti ile indikatörlerin toplam renk farkı arasındaki ilişki.

Depolama süresince artan CO₂ konsantrasyonu ile tazelik indikatörlerinin renk dönüşümü arasındaki ilişkiyi, ΔRGB değerlerinin daha iyi yansıttığı tespit edilmiştir. Depolama süresince artan CO₂ metaboliti ile indikatörlerin toplam renk farkı arasındaki ilişki Şekil 4.18’de gösterilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi, BTB

bazlı tazelik indikatörlerinin ΔRGB değerleri, PR bazlı tazelik indikatörlere göre CO_2 konsantrasyonları ile çok daha iyi bir korelasyon göstermiştir. Her iki atmosfer için de depolama süresince CO_2 konsantrasyonundaki artışın PR bazlı indikatörlerin gözle görülebilir renk değişimlerine fazla etkisi olmamıştır. PR bazlı indikatörlerin rengi depolama süresince mor ile koyu kırmızı arasında değişmiş olsa da hem hava hem de %100 N_2 atmosfer gruplarında raf ömrü boyunca gözlenen renk geçişleri yeteri kadar net olmamıştır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, BTB bazlı pH duyarlı kolorimetrik tazelik indikatörlerinde gözlemlenen 3 aşamalı renk değişimi her iki atmosferde de PR bazlı indikatörlere göre daha belirgindir. BTB bazlı tazelik indikatörlerinde ölçülen toplam renk değişimi değerleri ve çıplak gözle ayırt edilebilen renk dönüşümleri, depolama süresince kademeli olarak artan CO_2 konsantrasyonu ile ilişkili bulunmuştur.

Tablo 4.7. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince PR bazlı tazelik indikatörlerindeki L, a*, b* ve ΔE değerleri.

Atmosfer	Renk Değerleri	Depolama Süresi (Gün)					
		0	2	4	6	8	10
Hava	L	66,15±0,00 ^{AB}	65,37±1,02 ^{AB}	63,11±1,17 ^{AB}	65,95±1,24 ^{AB}	63,47±1,01 ^{AB}	63,64±0,58 ^{AB}
	a*	21,92±0,00 ^{AB}	23,16±0,46 ^{AB}	28,21±0,45 ^{ABCD}	28,98±4,52 ^{BCD}	33,90±1,11 ^{CD}	36,14±2,60 ^D
	b*	-13,84±0,00 ^A	-1,84±1,13 ^C	0,10±0,21 ^{CD}	0,94±1,81 ^{CD}	3,90±0,82 ^{DE}	6,65±2,15 ^E
	ΔE	0,00±0,00 ^A	11,62±3,71 ^A	16,97±0,04 ^{AB}	16,94±4,51 ^{AB}	22,99±1,04 ^{AB}	25,26±1,84 ^B
100 % N ₂	L	66,96±0,00 ^A	61,61±0,55 ^{AB}	59,60±1,50 ^B	60,57±0,51 ^{AB}	62,54±3,10 ^{AB}	59,82±1,67 ^{AB}
	a*	18,30±0,00 ^A	24,56±2,80 ^{ABC}	28,44±2,23 ^{ABCD}	30,97±0,54 ^{BCD}	30,62±0,69 ^{BCD}	34,59±0,00 ^{CD}
	b*	-7,62±0,00 ^B	-0,88±0,15 ^C	-0,07±0,38 ^{CD}	0,42±0,30 ^{CD}	0,85±0,01 ^{CD}	3,70±0,95 ^{DE}
	ΔE	0,00±0,00 ^A	12,31±1,20 ^A	15,96±2,11 ^{AB}	17,12±0,22 ^{AB}	16,44±1,57 ^{AB}	20,71±0,41 ^{AB}

(A-E): Depolama süresince aynı satır ve sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p \leq 0,05$).

L* (L= 0 siyah, L= 100 beyaz), a* (-a= yeşillik, +a= kırmızılık), b* (-b=mavilik, +b= sarılık), ΔE (toplam renk değişimi)

Tablo 4.8. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince BTB bazlı tazelik indikatörlerindeki L, a*,b* ve ΔE değerleri.

Atmosfer	Renk Değerleri	Depolama Süresi (Gün)					
		0	2	4	6	8	10
Hava	L	66,67±0,00 ^A	66,39±0,04 ^A	62,63±2,28 ^A	61,91±0,21 ^A	66,03±1,70 ^A	65,73±1,50 ^A
	a*	7,55±0,00 ^A	-1,83±0,31 ^B	-7,13±2,56 ^{BCD}	-6,46±1,50 ^{BC}	-11,75±0,82 ^{CD}	-13,93±0,29 ^D
	b*	-36,92±0,00	-20,77±1,09 ^{BC}	-17,63±0,06 ^{CDE}	-12,08±0,42 ^{CDE}	-5,48±0,72 ^E	-4,58±5,68 ^E
	ΔE	0,00±0,00 ^A	18,66±3,71 ^{AB}	25,39±1,90 ^{ABCD}	28,03±7,61 ^{ABCD}	37,36±6,43 ^{CD}	39,95±7,24 ^D
100 % N ₂	L	66,37±0,00 ^A	64,16±0,90 ^A	63,27±1,47 ^A	62,13±1,49 ^A	56,26±5,66 ^A	62,51±0,18 ^A
	a*	5,63±0,00 ^A	-1,52±0,70 ^B	-2,68±1,38 ^B	-2,92±0,77 ^B	-2,89±1,63 ^B	-10,38±1,98 ^{CD}
	b*	-33,45±0,00 ^{AB}	-20,15±1,69 ^{BC}	-19,11±1,72 ^{CD}	-17,23±0,49 ^{CDE}	-16,64±1,06 ^{CDE}	-7,28±4,90 ^{DE}
	ΔE	0,00±0,00 ^A	15,41±3,09 ^A	16,70±1,95 ^A	18,96±1,85 ^{AB}	24,19±0,30 ^{ABC}	32,97±2,70 ^{BCD}

(A-E): Depolama süresince aynı satır ve sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p \leq 0,05$).

L* (L= 0 siyah, L= 100 beyaz), a* (-a= yeşillik, +a= kırmızılık), b* (-b=mavilik, +b= sarılık), ΔE (toplam renk değişimi)

Tablo 4.9. Hava ve %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince PR bazlı tazelik indikatörlerindeki R, G, B ve ΔRGB değerleri.

Atmosfer	Renk Değerleri	Depolama Süresi (Gün)					
		0	2	4	6	8	10
Hava	R	182,32±0,00 ^{AB}	196,03±3,45 ^{ABC}	216,38±7,74 ^{BC}	215,71±10,10 ^{BC}	223,53±3,41 ^C	229,92±3,58 ^C
	G	14,42±0,00 ^A	11,71±4,60 ^A	31,60±9,69 ^{AB}	24,32±8,28 ^{AB}	21,48±5,88 ^{AB}	41,55±1,53 ^B
	B	75,63±0,00 ^A	22,46±9,17 ^B	43,29±13,30 ^{AB}	26,20±12,50 ^B	22,57±2,73 ^B	21,20±4,45 ^B
	ΔRGB	0,00±0,00 ^A	49,90±13,50 ^A	54,74±8,90 ^A	64,90±12,80 ^A	73,38±4,35 ^A	87,35±3,62 ^A
100 % N ₂	R	177,68±0,00 ^A	196,58±3,47 ^{ABC}	201,91±12,40 ^{ABC}	201,98±4,45 ^{ABC}	207,91±7,55 ^{ABC}	223,83±9,47 ^C
	G	17,90±0,00 ^{AB}	16,50±2,91 ^{AB}	16,56±0,10 ^{AB}	13,88±3,22 ^A	24,43±3,10 ^{AB}	29,18±0,37 ^{AB}
	B	54,09±0,00 ^{AB}	23,25±2,95 ^B	25,09±2,68 ^B	21,76±3,40 ^B	33,30±2,83 ^B	22,83±9,92 ^B
	ΔRGB	0,00±0,00 ^A	33,28±5,54 ^A	36,70±10,04 ^A	51,10±12,10 ^A	42,89±5,35 ^A	56,70±12,90 ^A

(A-E): Depolama süresince aynı satır ve sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p \leq 0,05$).

R (Kırmızılık), G (Yeşillik), B (Mavilik), ΔRGB (toplam renk değişimi)

Tablo 4.10. Hava ve % 100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk etinin depolama süresince BTB bazlı tazelik indikatörlerindeki R, G, B ve ΔRGB değerleri.

Atmosfer	Renk Değerleri	Depolama Süresi (Gün)					
		0	2	4	6	8	10
Hava	R	1,77±0,00 ^A	1,77±0,22 ^A	3,99±0,83 ^A	11,74±4,03 ^A	4,65±1,52 ^A	11,34±7,02 ^A
	G	64,37±0,00 ^{ABC}	60,91±0,47 ^{AB}	79,89±2,92 ^{ABCD}	99,59±5,67 ^D	89,73±5,02 ^{CD}	98,92±10,20 ^D
	B	187,97±0,00 ^A	126,01±3,40 ^B	111,04±5,70 ^{BC}	90,82±8,51 ^{CD}	79,06±1,08 ^D	80,72±4,34 ^D
	ΔRGB	0,00±0,00 ^A	59,79±1,11 ^{BC}	80,17±5,51 ^{BCD}	108,40±6,73 ^{DE}	115,94±7,01 ^E	115,87±3,42 ^E
100 % N ₂	R	1,50±0,00 ^A	5,35±3,59 ^A	2,61±0,03 ^A	5,42±2,08 ^A	4,81±0,49 ^A	9,14±2,92 ^A
	G	57,58±0,00 ^A	61,74±1,33 ^{AB}	71,53±2,12 ^{ABC}	66,90±0,41 ^{ABC}	56,71±3,44 ^A	85,84±9,29 ^{BCD}
	B	178,18±0,00 ^A	125,05±3,49 ^B	125,58±3,09 ^B	113,28±3,24 ^{BC}	102,75±1,15 ^{BCD}	101,07±9,05 ^{BCD}
	ΔRGB	0,00±0,00 ^A	55,15±4,59 ^B	56,27±3,40 ^B	66,47±4,69 ^{BC}	68,37±8,77 ^{BC}	89,09±9,41 ^{CDE}

(A-E): Depolama süresince aynı satır ve sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır ($p \leq 0,05$).

R (Kırmızılık), G (Yeşillik), B (Mavilik), ΔRGB (toplam renk değişimi)

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, yüksek protein değerine sahip tavuk etinin üretim, depolama, nakliye ve diğer süreçlerinde tazeliğini ve bozulma seviyesini gerçek zamanlı olarak belirleyebilecek, endüstriyel üretime uyarlanabilecek, gerçek zamanlı pH-duyarlı kolorimetrik tazelik indikatörünün geliştirilmesi ve uygulanma potansiyeli araştırılmıştır. Geliştirilen kolorimetrik tazelik indikatörünün kullanımı ile bozulmadan kaynaklı gıda kayıplarının azaltılması, gıda zehirlenmelerinin minimize edilmesi ve gıda güvenliğinin sağlanması hedeflenmiştir. Bu bağlamda, BTB (bromotimol mavisi) ve PR (fenol kırmızısı) esaslı pH boyalarını içeren metil selüloz bazlı ve 3 katmanlı olarak geliştirilen CO₂ duyarlı kolorimetrik tazelik indikatörleri başarılı bir şekilde üretilmiştir. Gerçekleştirilen ön simülasyon denemeleri sonucunda, CO₂ duyarlı %1 boya içeren dopingli tazelik indikatörlerinin ana simülasyon denemelerinde ve gıda validasyonu çalışmalarında kullanılmasına karar verilmiştir. İndikatör formülasyonlarına doping solüsyonu olarak eklenen NaOH, indikatör solüsyonlarının pH değerini arttırarak indikatörlerin başlangıç renklerinin daha belirgin hale gelmesini sağlamıştır. Böylece, gıda bozulması sonucu tazelik indikatörlerinde meydana gelen renk değişimi daha net bir şekilde gözlemlenmiştir. %0-30 CO₂ konsantrasyon aralığında gerçek gıda ambalajlama ve depolama koşulları temsil edilerek gerçekleştirilen ana simülasyon denemelerinden elde edilen indikatör renk değişim sonuçları ile gıda validasyonunda hava atmosferinde (%80 N₂ + %20 O₂) ambalajlanan tavuk etinin bozulma süreçlerinde indikatörde gözlemlenen renk değişimleri oldukça benzer bulunmuştur. Ana simülasyon denemelerinde, BTB bazlı indikatörlerde %10-15 CO₂ konsantrasyonlarında gözlemlenen turkuazdan koyu yeşile renk değişimi ile hava atmosferinde ambalajlanan indikatörlerin aynı CO₂ aralığındaki renk dönüşümü ilişkili bulunmuştur. Ana simülasyon denemelerinde PR bazlı kolorimetrik tazelik indikatörlerinde tespit edilen belirgin renk değişimi, gıda validasyonu çalışmasında her iki atmosfer için de gözlenmemiştir.

Gıda validasyonu süresince (4°C'de 10 gün) her iki grupta (hava ve %100 N₂ ile ambalajlanan gruplar) ambalajın tepe boşluğundaki CO₂ konsantrasyonu (%) depolama süresince artmıştır. Literatürde bildirilen CO₂ bozulma aralığında (%10-15

CO₂), kolorimetrik tazelik indikatörlerinde çıplak gözle ayırt edilebilir bir renk dönüşümü gözlenmiştir. Toplam renk değişimi değerleri bakımından incelendiğinde hem ΔE hem de ΔRGB değerleri, tazelik indikatörlerinde gözlenen renk değişimi ile uyumlu bulunmuştur. BTB bazlı tazelik indikatörlerinin depolama süresince değişen ΔE ve ΔRGB değerleri, her iki atmosfer için de tüm kalite parametreleri (CO₂, TVB-N, TMAB, *Pseudomonas spp.* ve duyu analizi) ve tazelik indikatörü görselleri ile iyi bir korelasyon sağlamıştır ve gerçek zamanlı olarak tavuk göğüs etinin tazelik/bozulma seviyesini yansıtmıştır. Hava atmosferi altında ambalajlanan tavuk göğüslerinin depolamanın 6. gününde ölçülen CO₂ konsantrasyonu %12,89 ve TVB-N konsantrasyonu 28,72 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Her iki metabolitin de 6. günde literatürde bildirilen sınır değerlerini aştığı tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik analiz sonuçları incelendiğinde hava atmosferi altında ambalajlanan tavuk göğüslerinin depolamanın 6. günündeki TMAB ve *Pseudomonas spp.* yükleri sırasıyla 6,64 ve 7,40 log kob/g olarak belirlenmiştir ve bu değerler açısından da hava atmosferi ile ambalajlanan tavuklar 6. günde literatürde bildirilen sınır değerleri aşmıştır. % 100 N₂ atmosferi altında ambalajlanan tavuk göğüslerinin depolamanın 8. gününde ölçülen CO₂ konsantrasyonu %7,03 ve TVB-N konsantrasyonu 21,91 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Mikrobiyolojik analiz sonuçları incelendiğinde %100 N₂ atmosferi altında ambalajlanan tavuk göğüslerinin depolamanın 8. günündeki TMAB ve *Pseudomonas spp.* yükleri sırasıyla 6,62 ve 6,88 log kob/g olarak belirlenmiştir ve bu değerler açısından da literatürde bildirilen sınır değerler aşılmıştır. Tüm bu kalite parametreleri değerlendirildiğinde, hava atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüs etinin raf ömrünün 4 gün ile, %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüs etinin raf ömrünün ise 6 gün ile sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Hava atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüslerinin bozulması sonucunda başlangıçta mavi olan BTB bazlı kolorimetrik tazelik indikatörleri depolamanın 4. gününde turkuaz iken depolamanın 6. gününde koyu yeşil olarak gözlenmiştir. Bu renk değişimi, depolama süresince tavuk göğüs etlerinin kalite parametrelerindeki değişimleri ve raf ömrü sınırlamasını başarılı bir şekilde yansıtmaktadır. %100 N₂ atmosferinde ambalajlanan tavuk göğüslerinin bozulma süreçleri de benzer şekilde izlenmiş olup BTB bazlı indikatörlerin rengi depolamanın 8. gününde koyu yeşil olarak gözlenmiştir.

Tavuk göğüs etinin depolanması sırasında oluşan CO₂ metabolitinin tespiti için BTB bazlı tazelik indikatörlerinin PR bazlı tazelik indikatörlerine göre daha hassas olduğu ve gıda ambalajlama endüstrisinde kullanım potansiyelinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. PR bazlı indikatörlerdeki renk değişimleri tüketicinin tavuk etindeki bozulmayı çıplak gözle ayırt edebileceği kadar net değil iken BTB bazlı tazelik indikatörlerinde her iki atmosferde de gözlenen üç aşamalı (koyu mavi-turkuaz-yeşil) renk değişimleri, CO₂ metabolitinin bozulma aralığı (%10-15 (v/v)), mikrobiyolojik ve duyuşal değerlendirme sonuçlarıyla ilişkilendirilmiştir. Bu renk değişimi, tavuk etinin tazelik durumunu "taze, hala taze ve tüketilemez" olmak üzere görsel olarak üç farklı şekilde tüketiciye sunma avantajı sağlamaktadır. Ambalajlanmış tavuk göğüs eti için yürütölen bu çalışma, BTB bazlı kolorimetrik tazelik indikatörlerinin kullanımının üreticiler ve tüketiciler için umut verici bir gelişme olduğunu ortaya koymuştur. Geliştirilen kolorimetrik tazelik indikatörü sadece gıdanın tazeliğı hakkında bilgi vermekle kalmayıp aynı zamanda gıda güvenliğı, gıda kaybının azaltılması, izlenebilirlik ve sürdürülebilirlik gibi konular açısından da gıda ambalajlama endüstrisi için büyük bir öneme taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- Abolghasemi, M.M., Sobhi, M., & Piryaei M. (2016). Preparation of a novel green optical pH sensor based on immobilization of red grape extract on bioorganic agarose membrane. *Sensors Actuators B Chemical*, 224, 391–395. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.10.038>
- Aksan, E. (2010). Gıdaların Mikrobiyal Bozulması. O. Erkmen (Ed). *Gıda Mikrobiyolojisi*. (5. Baskı, ss. 82-123) içinde. Efil Yayınevi
- Alhashmi Alamer, F., Althagafy, K., Alsalmi, O., Aldeih, A., Alotaiby, H., Althebaiti, M., Alghamdi, H., Alotibi, N., Saeedi, A., Zabarmawi, Y. and Hawsawi, M., 2022. Review on PEDOT: PSS-Based Conductive Fabric. *ACS Omega*, 7(40), 35371-35386. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01834>
- Anukiruthika, T., Sethupathy, P., Wilson, A., Kashampur, K., Moses, J.A. & Anandharamakrishnan, C. (2020). Multilayer packaging: Advances in preparation techniques and emerging food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(3), 1156-1186. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12556>
- Baek, S., Maruthupandy, M., Lee, K., Kim, D., & Seo, J. (2018). Preparation and characterization of a poly (ether-block-amide) film-based CO₂ indicator for monitoring kimchi quality. *Reactive and Functional Polymers*, 131, 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2018.07.007>
- Balamatsia, C. C., Rogga, K., Badeka, A., Kontominas, M. G., & Savvaidis, I. N. (2006). Effect of Low-Dose Radiation on Microbiological, Chemical, and Sensory Characteristics of Chicken Meat Stored Aerobically at 4°C. *Journal of Food Protection*, 69 (5), 1126–1133. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-69.5.1126>
- Balamatsia, C. C., Paleologos, E. K., Kontominas, M. G., & Savvaidis, I. N. (2007). Correlation between microbial flora, sensory changes and biogenic amines formation in fresh chicken meat stored aerobically or under modified atmosphere packaging at 4 C: possible role of biogenic amines as spoilage indicators. *Antonie van Leeuwenhoek*, 89 (1), 9-17. <https://doi.org/10.1007/s10482-005-9003-4>
- Barbosa-Pereira, L., Otero-Pazos, P., De Quirós, A., Sendón, R., Vecino, X., Cruz, J. M., Romero-Rodríguez, M.A., Estévez, N., Maroto, J., & Paseiro-Losada, P. (2012). SPME-GC method for the determination of volatile amines as indices of freshness in fish samples. *Italian Journal of Food Science*, 24(4), 211-214.
- Baston, O., & Barna, O. (2010). Raw chicken leg and breast sensory evaluation. *Annals Food Science and Technology*, 11(1), 25-30. <http://www.afst.valahia.ro>
- Bayrakal, M. (2016). *Taze et ürünlerinin raf ömürlerinin izlenebilirliğinde biyoindikatörlerin akıllı ambalajlama sistemi içerisinde kullanımı* [Doktora tezi]. İstanbul Üniversitesi

- Beauclercq, S., Grasteau, S., Petit, A., Berger, Q., Lefèvre, A., Coustard, S., Tesseraud, S., Emond, P., Berri, C., & Duval, E. (2022). A Divergent Selection on Breast Meat Ultimate pH, a Key Factor for Chicken Meat Quality, is Associated with Different Circulating Lipid Profiles. *Frontiers in Physiology*, 13, 1-11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.935868>
- Byrne, L., Lau, K. T., & Diamond, D. (2002). Monitoring of headspace total volatile basic nitrogen from selected fish species using reflectance spectroscopic measurements of pH sensitive films. *Analyst*, 127(10), 1338–1341. <https://doi.org/10.1039/b206149j>
- Chen, H., Zhang, M., Bhandari, B., & Guo, Z. (2018). Applicability of a colorimetric indicator label for monitoring freshness of fresh-cut green bell pepper. *Postharvest Biology and Technology*, 140, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.02.011>
- Chen, H., Zhang, M., Bhandari, B., & Yang, C. (2019). Development of a novel colorimetric food package label for monitoring lean pork freshness. *LWT-Food Science and Technology*, 99, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.048>
- Chen, S., Brahma, S., Mackay, J., Cao, C. and Aliakbarian, B., (2020). The role of smart packaging system in food supply chain. *Journal of Food Science*, 85(3), 517-525. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15046>
- Choi, I., Choi, H., Lee, J., & Han, J. (2023). Novel color stability and colorimetry-enhanced intelligent CO₂ indicators by metal complexation of anthocyanins for monitoring chicken freshness. *Food Chemistry*, 404, 134534. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134534>
- Chowdhury, E.U., & Morey, A. (2019). Intelligent Packaging for Poultry Industry. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(4), 791-800. <https://doi.org/10.3382/japr/pfz098>
- Chun, H. N., Kim, B., & Shin, H. S. (2014). Evaluation of a freshness indicator for quality of fish products during storage. *Food Science and Biotechnology*, 23(5), 1719–1725. <https://doi.org/10.1007/s10068-014-0235-9>
- De Jong, A.R., Boumans, H., Slaghek, T., Van Veen, J., Rijk, R. & Van Zandvoort, M. (2005). Active and intelligent packaging for food: Is it the future?. *Food Additives and Contaminants*, 22(10), 975–979. <https://doi.org/10.1080/02652030500336254>
- Demirel, B. (2019). *Tavuk etinde bozulmayı izlemek için tazelik indikatörü geliştirilmesi* [Yüksek lisans tezi]. Hacettepe Üniversitesi
- Drago, E., Campardelli, R., Pettinato, M. and Perego, P., (2020). Innovations in smart packaging concepts for food: An extensive review. *Foods*, 9(11), 1628. <https://doi.org/10.3390/foods9111628>
- Ebrahimi, V., Nafchi, A., Bolandi, M., & Baghaei, H. (2022). Fabrication and characterization of a pH-sensitive indicator film by purple basil leaves extract to monitor the freshness of chicken fillets. *Food Packaging and Shelf Life*, 34, 100946. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100946>

- Ezati, P., Tajik, H., & Moradi, M. (2019). Fabrication and characterization of alizarin colorimetric indicator based on cellulose-chitosan to monitor the freshness of minced beef. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 285, 519–528. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.01.089>
- Ezati, P., & Rhim, J.W. (2020). pH- responsive chitosan-based film incorporated with alizarin for intelligent packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 102, 2-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105629>
- Farber, J. M. (1991). Microbiological aspects of modified atmosphere packaging technology. *Journal of Food Protection*, 54(1), 58-70.
- Franco, M.R., Cunha, L.R., & Bianchi R.F. (2021). Janus principle applied to food safety: An active two-faced indicator label for tracking meat freshness. *Sensors and Actuators: B. Chemical*, 333, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129466>
- Ghollasi-Mood, F., Mohsenzadeh, M., Hoseindokht, M. R., & Varidi, M. (2017). Quality changes of air-packaged chicken meat stored under different temperature conditions and mathematical modelling for predicting the microbial growth and shelf life. *Journal of Food Safety*, 37(3), e12331. <https://doi.org/10.1111/jfs.12331>
- Guo, J., Zhang, H., Ding, L., Hu, F., Pei, L., Liang, S., Yang, Q. & Wang, J. (2023). A visual detection films based on waterborne polyurethane for real-time monitoring of yogurt freshness. *Dyes and Pigments*, 210, 110995. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2022.110995>
- Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., ... & Devleeschauwer, B. (2015). World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLoS medicine*, 12(12), e1001923. doi: 10.1371/journal.pmed.1001923
- He, Y., Li, B., Du, J., Cao, S., Liu, M., Li, X., Ren, D., Wu, X., & Xu, D. (2022). Development of pH-responsive absorbent pad based on polyvinyl alcohol/agarose/anthocyanins for meat packaging and freshness indication. *International Journal of Biological Macromolecules*, 201, 203-215. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.171>
- Hidayat, S. H., Dirpan, A., Adiansyah, Djalal, M., Rahman, A. N. F., & Ainani, A. F. (2019). Sensitivity determination of indicator paper as smart packaging elements in monitoring meat freshness in cold temperature. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 343, 012076. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/343/1/012076>
- İbibikcan, E. (2013). *Use of boron compounds as synergistic flame retardant in low density polyethylene – ethylene vinyl acetate blends and nanocomposites* [Yüksek lisans tezi]. Orta Doğu Teknik Üniversitesi
- Kerry, J. P., O'Grady, M. N., & Hogan, S. A. (2006). Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science*, 74(1), 113–130. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.024>

- Kim, D., Lee, S., Lee, K., Baek, S., & Seo, J. (2017). Development of a pH indicator composed of high moisture- absorbing materials for real-time monitoring of chicken breast freshness. *Food Science and Biotechnology*, 26(1), 37–42. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0005-6>
- Kim, Y., Park, S., Kim, J., & Shin, H. (2022). Development of freshness indicator for monitoring chicken breast quality and freshness during storage. *Food Science and Biotechnology*, 31(3), 377-385. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01034-x>
- Klaschne, D., Corso, M., & Canan, C., (2020), Chapter 1, *Advances in Meat Processing Technologies*, (1-5), Bentham Books
- Kuswandi B., Jayus, Oktaviana R., Abdullah A., & Heng L. Y. (2013). A novel on-package sticker sensor based on methyl red for real-time monitoring of broiler chicken cut freshness. *Packaging Technology and Science*, 27, 69-81. <https://doi.org/10.1002/pts.2016>
- Kuswandi, B., & Nurfawaidi, A. (2017). On-package dual sensors label based on pH indicators for real-time monitoring of beef freshness. *Food Control*, 82, 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.06.028>
- Lee, E. J., & Shin, H. S. (2019). Development of a freshness indicator for monitoring the quality of beef during storage. *Food Science and Biotechnology*, 28(6), 1899–1906. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00633-5>
- Lee, K., Baek, S., Kim, D., & Seo, J. (2019a). A freshness indicator for monitoring chicken-breast spoilage using a Tyvek® sheet and RGB color analysis. *Food Packaging and Shelf Life*, 19, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.016>
- Lee, K., Park, H., Baek, S., Han, S., Kim, D., Chung, S., Yoon, J. Y., & Seo, J. (2019b). Colorimetric array freshness indicator and digital color processing for monitoring the freshness of packaged chicken breast. *Food Packaging and Shelf Life*, 22, 100408. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100408>
- Liu, J., Wang, H., Wang, P., Guo, M., Jiang, S., Li, X., & Jiang S. (2018). Films based on κ-carrageenan incorporated with curcumin for freshness monitoring. *Food Hydrocolloids*, 83, 134-142. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.012>
- Liu, L., Zhang, Y., Wu, H., Wang, X., & Zhuang, H. (2020). Metabolomic profiles and bacterial diversity of spoiled chicken meat treated with organic acid salts during storage. *Food Control*, 109, 106942. doi: 10.1016/j.foodcont.2019.106942
- Lu, P., Yang, Y., Liu, R., Liu, X., Ma, J., Wu, M., & Wang, S. (2022). Preparation of sugarcane bagasse nanocellulose hydrogel as a colourimetric freshness indicator for intelligent food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 249, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116831>
- Mihindukulasuriya, P., & Lim, L. T. (2021). COVID-19 and the Packaging Industry: *An Overview*. *Packaging Technology and Science*, 34(1), 3-16. doi: 10.1002/pts.2536
- Mildivanlı, Ö. (2014). *Et ve balıklarda tazelik indikatörü olarak nanobiyosensörlerin geliştirilmesi* [Yüksek lisans tezi]. Afyon Kocatepe Üniversitesi.

- Mills, A. & Skinner, G.A. (2010). Water-based colourimetric optical indicators for the detection of carbon dioxide. *Analyst*, 135(8), 1912-1917. <https://doi.org/10.1039/C000688B>
- Morozova, S. (2020). Methylcellulose fibrils: a mini review. *Polymer International*, 69(2), 125-130. <https://doi.org/10.1002/pi.5945>
- Morsy, M. K., Zor, K., Kostesha, N., Alstrøm, T. S., Heiskanen, A., El-Tanahi, H., & Emnéus, J. (2016). Development and validation of a colorimetric sensor array for fish spoilage monitoring. *Food Control*, 60, 346–352. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.038>
- Muller, P., & Schmid, M. (2019). Intelligent packaging in the food sector: A brief overview. *Foods*, 8(1), 16. <https://doi.org/10.3390/foods8010016>
- Musso, Y. S., Salgado, P. R., & Mauri, A. N. (2016). Gelatin based films capable of modifying its color against environmental pH changes. *Food Hydrocolloids*, 61, 523-530. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.013>
- Nasatto, P. L., Pignon, F., Silveira, J. L., Duarte, M. E. R., Nosedá, M. D., & Rinaudo, M. (2015). Methylcellulose, a cellulose derivative with original physical properties and extended applications. *Polymers*, 7(5), 777-803. <https://doi.org/10.3390/polym7050777>
- Nopwinyuwong, A., Trevanich, S., & Suppakul, P. (2010). Development of a novel colorimetric indicator label for monitoring freshness of intermediate-moisture dessert spoilage. *Talanta*, 81(3), 1126–1132. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.02.008>
- Ozcan, A. (2020, 12-14, Kasım). New approaches in smart packaging technologies. *In Proceedings of the 10th International Symposium on Graphic Engineering and Design, GRID*, Novi-Sad, Sırbistan
- Öksüztepe, G. & Beyazgül, P., (2015). Akıllı ambalajlama sistemleri ve gıda güvenliği. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 29(1), 67-74.
- Pacquit, A., Frisby, J., Diamond, D., Lau, K. T., Farrell, A., Quilty, B., & Diamond, D. (2007). Development of a smart packaging for the monitoring of fish spoilage. *Food Chemistry*, 102(2), 466–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.052>
- Patsias, A., Badeka, A. V., Savvaidis, I. N., & Kontominas, M. G. (2008). Combined effect of freeze chilling and MAP on quality parameters of raw chicken fillets. *Food Microbiology*, 25(4), 575-581. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.02.008>
- Rokka, M., Eerola, S., Smolander, M., Alakomi, H., & Ahvenainen, R. (2004). Monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts stored in different temperature conditions: B. Biogenic amines as quality-indicating metabolites. *Food Control*, 15(8), 601-607. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2003.10.002>
- Robertson, G. L. (2016): “Food packaging: principles and practice” (3th ed), CRC press.
- Rokbani, H., Daigle, F. & Ajji, A. (2019). Long-and short-term antibacterial properties of low-density polyethylene-based films coated with zinc oxide nanoparticles for potential use in food packaging. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 35(2), 117-134. <https://doi.org/10.1177/8756087918822677>

- Rukchon, C., Nopwinyuwong, A., Trevanich, S., Jinkarn, T., & Suppakul, P. (2014). Development of a food spoilage indicator for monitoring freshness of skinless chicken breast. *Talanta*, 130, 547–554. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.07.048>
- Ruta, B., Czakkel, O., Chusshkin, Y., Pignon, F., Zontone, F., & Rinaudo, M. (2014). Silica nanoparticles as tracers of the gelation dynamics of a natural biopolymer physical gel. *Soft Matter*, 10, 4547–4554. <https://doi.org/10.1039/C4SM00704B>
- Salinas, Y., Ros-Lis, J., Vivancos, J., Manez, R., Marcos, M.D., Aucejo, S., Herranz, N., & Lorente I. (2014). Monitoring of chicken meat freshness by means of a colorimetric sensor array. *Analyst*, 137(16), 3635–3643. <https://doi.org/10.1039/C2AN35211G>
- Sariningsih, A. K., Rostini, I., & Haetami, K. (2019). Methyl Red Indicator on Smart Packaging as a Freshness Sensor for Tilapia Fillets. *Asian Food Science Journal*, 13(4), 1–9. <https://doi.org/10.9734/afsj/2019/v13i430114>
- Schaefer, D., & Cheung, W. M. (2018). Smart Packaging: Opportunities and Challenges. *Procedia Cirp*, 72, 1022–1027. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2018.03.240>
- Sharma, S. K., Sehgal N., Kumar A., (2003). Biomolecules for Development of Biosensor and their Applications, *Current Applied Physics*, (3), 307-316. [https://doi.org/10.1016/S1567-1739\(02\)00219-5](https://doi.org/10.1016/S1567-1739(02)00219-5)
- Talukder, S., & Mendiratta, S. K. (2017). Exploring Purple Leaf Sand Cherry (*Prunus cistena*) Extracts Based Indicator to Monitor Meat Quality during Storage at 10±1° C. *International Journal of Livestock Research*, 7(8), 214-220. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20170620080312>
- Tarlak, F., & Rodríguez, F. (2022). Development and validation of a one-step modelling approach for the determination of chicken meat shelf-life based on the growth kinetics of *Pseudomonas spp.* *Food Science and Technology International*, 28(8), 672-682. <https://doi.org/10.1177/10820132211049616>
- Tosun, O. (2010). *Kütahya Seyitömer bitümlü şistinini düşük yağlıklı polietilene (DYPE) karışımının, farklı sıcaklıklarda pirolizinden elde edilen sıvı fazların karakterizasyonu* [Yüksek lisans tezi]. Ankara Üniversitesi
- Wu, L., Tang, Z., Chen, H., Ren, Z., Ding, Q., Liang, K. and Sun, Z. (2021). Mutual interaction between gut microbiota and protein/amino acid metabolism for host mucosal immunity and health. *Animal Nutrition*, 7(1), 11-16. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.11.003>
- Wüstenberg, T., (2014). *Cellulose and cellulose derivatives in the food industry: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
- Zhang, Y., & Lim, L. T. (2018). Colorimetric array indicator for NH₃ and CO₂ detection. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 255, 3216–3226. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.09.148>
- Zhang, J., Zou, X., Zhai, X., Huang, X., Jiang, C. and Holmes, M., (2019). Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness. *Food Chemistry*, 272, 306-312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.041>

- Zhang, Y., Ying, L., Wang, Z., Wang, Y., Xu, Q. and Li, C., (2021). Unexpected hydrophobic to hydrophilic transition of PET fabric treated in a deep eutectic solvent of choline chloride and oxalic acid. *Polymer*, 234, 124246. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2021.124246>
- Zia, J., Paul, U.C., Heredia-Guerrero, J.A., Athanassiou, A. and Fragouli, D., (2019). Low-density polyethylene/curcumin melt extruded composites with enhanced water vapor barrier and antioxidant properties for active food packaging. *Polymer*, 175, 137-145. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2019.05.012>

EKLER

EK A. Tavuk göğüs etinde duyusal analiz formu

EK A**Duyusal Değerlendirme Formu****Adı/Soyadı:****Tarih:**...../...../.....

RENK/DIŞ GÖRÜNÜŞ	1	2	3	4	5	685	361	421	562
	↓ Çok kötü/Solgun pembe/Yüze yde grileşme			↓ Kabul edilebilir/renkte koyulaşma/koyu pembe		↓ Beğendim-Taze/Karakteristik tavuk göğüs rengi			

KOKU	1	2	3	4	5	685	361	421	562
	↓ Çok kötü/ransit koku/bozuk tavuk kokusu			↓ Kabul edilebilir/Hafif amonyak/sülfür kokusu		↓ Karakteristik tavuk kokusu			

TEKSTÜR	1	2	3	4	5	685	361	421	562
	↓ Geri dönüş yok/yumuşak tekstür-doku			↓ Yavaş geri dönüş/yumuşama başlamış		↓ Hızlı geri dönüş/diri/dolgun tekstür			

GENEL ÜRÜN BEĞENİSİ	1	2	3	4	5	685	361	421	562
	↓ Hiç beğenmedim			↓ Kabul edilebilir		↓ Çok beğendim			

Yorum ve Düşünceler:

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : İrem Melda KARACA

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2019, Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği
- **Yükseklisans** : 2023, Sakarya Üniversite, Gıda Mühendisliği

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2022 yılında itibaren DQS Denetim ve Belgelendirme Şirketi'nde Planlama ve Müşteri İlişkileri Yönetim Uzmanı olarak çalışmaya devam etmektedir.

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

- İrem Melda Karaca, Guliz Haskaraca, Zehra Ayhan, Emre Gültekin. 2023. Development of real time-pH sensitive intelligent indicators for monitoring chickenbreast freshness/spoilage using real packaging practices. Food Research International. 173 (2023) 113261. (doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113261)

DİĞER ESERLER:

- Al Obaidi, A., Karaca, I.M., Ayhan, Z., Haskaraca, G., Gultekin, E. 2022. Fabrication and validation of CO2-sensitive indicator to monitor the freshness of poultry meat. Food Packaging and Shelf Life, 34: 1-8 (doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100930).
- AIObaidi A, Karaca I.M, Haskaraca G, Zengin H.I, Gültekin E, Ayhan Z. 2021. Fabrication and simulation of a colorimetric pH-Sensitive TVBN indicator for use in food packaging. First circulability conference in sustaniable food packaging. September 26-29, 2021. Volume 1, p. 44. Online conference, Poster.

- Karaca I.M, AlObaidi A, Haskaraca G, Zengin H.I, Gültekin E, Ayhan Z. 2021. Development of a colorimetric pH-sensitive CO₂ indicator for use in food packaging. 2nd International/ 12th national food engineering congress. November 25-27, 2021. Volume 1, p. 30. Online conference, Oral presentation.