

**DOĞAL ANTİMİKROBİYEL MADDE İÇEREN
BİYOBOZUNUR FİLMLEİN ÜRETİMİ**

ECE EROL

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Prof. Dr. K. NAZAN TURHAN**

**MERSİN
TEMMUZ – 2012**

Ece Erol tarafından Prof. Dr. K. Nazan TURHAN danışmanlığında hazırlanan “Doğal Antimikrobiyel Madde İçeren Biyobozunur Filmlerin Üretimi” başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. H. İbrahim EKİZ

Prof. Dr. Mahir TURHAN

Prof. Dr. K. Nazan TURHAN

Prof. Dr. A. Murat GİZİR

Doç. Dr. T. Koray PALAZOĞLU

İmza











Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 04/19/2012 tarih ve 2012/16/461 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. A. Murat GİZİR
Enstitü Müdürü



DOĞAL ANTİMİKROBİYEL MADDE İÇEREN BİYOBOZUNUR FİLMLERİN ÜRETİMİ

ECE EROL

ÖZ

Bu çalışmada antimikrobiyel madde olarak propolis özütü içeren polihidroksibütirat (PHB) ve metil selüloz (MS) esaslı antimikrobiyel filmler üretilmiştir. Yapılan çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiştir.

Birinci aşamada PHB polimerinden su buharı geçirgenliği düşük, gerilim direnci yüksek filmler üretilmesi ve uygun film formülasyonuna propolis özütü ilave edilmesi amaçlanmıştır. Propolis özütü (%1,2, a/h) içeren antimikrobiyel PHB filmlerinin hazırlanmasında % 10 (a/h) PHB ve % 15 (a/a) PEG 300 film formülasyonu kullanılmıştır. Oluşturulan antimikrobiyel filmin, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* üzerine antimikrobiyel etkisi incelenmiştir. Propolis özütü içeren antimikrobiyel film, *S. aureus* ve *B. subtilis* üzerine antimikrobiyel etki göstermemiştir. Bu nedenle çalışmanın ikinci aşamasında propolis özütü içeren MS esaslı filmler üretilmiştir.

İkinci aşamada MS (3 g) esaslı filmlere artan miktarlarda eklenen propolis özütünün (%0-6, a/h) filmlerin su buharı geçirgenliği, mekanik ve antimikrobiyel özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Film içerisindeki özüt miktarının artmasıyla su buharı geçirgenliği ve uzama değerlerinde azalma, gerilim direncinde artma görülmüştür.

Propolis özütü içeren MS filmler *S. aureus* üzerine etki göstermiş ve film yapısında özüt miktarı arttıkça mikroorganizma üzerine gösterdiği etki de artmıştır.

Propolis özütü % 4,5 (a/h) olan MS filmler *S. aureus* ile aşılınmış salam dilimlerine uygulanmıştır. *S. aureus* sayısı 14. günün sonunda 0,78 log azalmıştır. Depolama süresince mikroorganizma aşılınmamış salamda *S. aureus*'a rastlanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Propolis özütü, metil selüloz, polihidroksibütirat, biyobozunur antimikrobiyel film, salam

Danışman: Prof. Dr. K. Nazan TURHAN, Mersin Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı (İzmir Ekonomi Üniversitesi, Tarımsal Teknoloji ve Gıda Bilimleri Fakültesi)

THE PRODUCTION OF BIODEGRADABLE FILMS CONTAINING NATURAL ANTIMICROBIAL AGENT

ECE EROL

ABSTRACT

In this study polyhydroxybutirat and methyl cellulose based antimicrobial films containing propolis extract as an antimicrobial agent are produced. The study was materialized in two stages.

On the first stage, low water vapour permeability, high tensile strength films were tried to be improved from PHB polymer and propolis extract was added to the suitable film formulation. At the preparation of propolis extract (% 1,2, w/v) containing antimicrobial PHB films, the film formulation; % 10 (w/v) PHB and % 15 (w/w) PEG 300, was used. The antimicrobial effect of antimicrobial film on *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* was investigated. Propolis containing PHB based film did not show antimicrobial effects on *S. aureus* ve *B. Subitlis*. So, on the second part of the study, propolis extract (% 0-6, a/h) containing methyl cellulose (% 3, w/v) based films were produced.

On the second stage, the effect of the amount of propolis extract (0-6 %, w/v) on the water vapour permeability (WVP), the mechanical and the antimicrobial properties of the methyl cellulose (3 g) based films were investigated. As the concentration of extract increased in methyl cellulose based films, the water vapour permeability and percent elongation decreased whereas the tensile strength increased percent elongation decreased.

The MC films containing propolis extract (4,5 %, w/v) were applied onto the salami slices inoculated with *S. aureus*. The level of *S. aureus* decreased 0,78 log at the end of the 14th days. *S. aureus* growth was not observed on the non-inoculated salami slices during storage time.

Key words: Propolis extract, methyl cellulose, polyhydroxybutirat, biodegradable antimicrobial film, salami

Advisor: Prof. Dr. K. Nazan TURHAN, Mersin University, Department of Food Engineering (Izmir University of Economics, Faculty of Agricultural Technology and Food Science)

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca çalışmalarımın her aşamasında bilgileriyle beni yönlendiren ve bana her konuda yardımcı olan değerli tez hocam Prof. Dr. K. Nazan TURHAN'a en içten saygılarımı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmalarımday sundukları imkanlardan ve yardımlardan dolayı Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne ve Bölüm Başkanı Prof. Dr. H. İbrahim EKİZ'e,

Lisans ve Yüksek lisans öğrenimim boyunca desteğini ve yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Mahir TURHAN'a,

Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerine,

Tez yazımım boyunca dostluklarını ve sevgilerini esirgemeyen bölüm arkadaşlarıma,

Tez çalışmamday bilgisini esirgemeyen Yük. Gıda Mühendisi Özge ERDOHAN'a,

Yüksek Lisans çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Yük. Gıda Mühendisi Belgizar ÇAM'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Her zaman yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Murat HAKKIBİLEN'e,

Her zaman yanımda olan ve sevgilerini her daim hissettiğim canım anneme, canım babama, biricik abime; Mersin'de yaşadığım süre boyunca aile sıcaklığını hissettiren anneanneme ve teyzelerime sonsuz sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. AMBALAJ ve AMBALAJIN ÖNEMİ	3
2.2. AKTİF AMBALAJLAMA	4
2.2.1. Antimikrobiyel Madde İçeren Ambalajlar	4
2.3. BİYOBOZUNUR AMBALAJLAR ve FİMLER	7
2.3.1. Biyobozunur Polimerler	10
2.3.1.1. PHB ve özellikleri	12
2.3.1.2. Metil selüloz ve özellikleri	15
2.4. ANTİMİKROBİYEL MADDELER ve ETKİ MEKANİZMASI	16
2.4.1. Yapay Antimikrobiyel Maddeler	17
2.4.2. Doğal Antimikrobiyel Maddeler	17
2.4.2.1. Propolis ve özellikleri	18
2.5. AMBALAJ MADDELERİNİN ÖZELLİKLERİNİN ÖNEMİ	20
2.5.1. Geçirgenlik Özellikleri	21
2.5.2. Mekanik Özellikleri	24
2.5.3. Termal Özellikleri	25
2.6. ETİL ALKOL ve POLİETİLEN GLİKOL	26
2.7. ETİN ve ET ÜRÜNÜ OLAN SALAMIN ÖZELLİKLERİ ve ANTİMİKROBİYEL FİMLERİN GIDAYA UYGULANMASI	27

3. MATERYAL ve YÖNTEM	31
3.1. PROPOLİS ÖZÜTÜNÜN HAZIRLANMASI	31
3.2. POLİHİDROKSİ BÜTİRAT FİMLERİNİN HAZIRLANMASI	31
3.3. METİL SELÜLOZ FİMLERİN HAZIRLANMASI	32
3.4. FİMLERİN FİZİKSEL, YAPISAL ve ANTİMİKROBİYEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ	33
3.4.1. Su Buharı Geçirgenliğinin Belirlenmesi	33
3.4.2. Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi	34
3.4.3. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi	35
3.4.4. Antimikrobiyel Aktivitenin Belirlenmesi	35
3.5. ANTİMİKROBİYEL METİL SELÜLOZ FİMLERİN SALAMA UYGULANMASI	36
3.5.1. Salam Dilimi Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizi	36
3.5.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> sayısının belirlenmesi	37
3.5.1.2. Toplam aerobik canlı sayısının belirlenmesi	37
3.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	37
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	38
4.1. FİMLERİNİN GÖRSEL ÖZELLİKLERİ	38
4.1.1. PHB Filmler	38
4.1.2. MS Filmler	38
4.2. SU BUHARI GEÇİRGENLİĞİ, YAPISAL ve MEKANİK ÖZELLİKLER	39
4.2.1. PHB Filmler	39
4.2.2. PHB Filmlerinin Antimikrobiyel Özellikleri	43
4.2.3. Metil Selüloz Filmler	44
4.2.3.1. Filmlerin yapısal özellikleri	46
4.2.3.2. Filmlerin antimikrobiyel özellikleri	49
4.3. FİMLERİN SALAM DİLİMLERİNE UYGULANMASI	50
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. PHB ve PP polimerlerine ait bazı özellikler	14
Çizelge 3.1. Örneklerin kodlanması	36
Çizelge 4.1. Gliserol miktarının su buharı geçirgenliğine, gerilme direncine ve uzamaya etkisi	40
Çizelge 4.2. Etanol miktarının su buharı geçirgenliğine, gerilme direncine ve uzamaya etkisi	41
Çizelge 4.3. PEG 300 miktarının su buharı geçirgenliğine, gerilme direncine ve uzamaya etkisi	42
Çizelge 4.4. Propolisin etanolik özütünün antimikrobiyel etkisi	44
Çizelge 4.5. Propolis özüt miktarının MS filmlerin özelliklerine etkisi	45
Çizelge 4.6. Selülozun yapısında bulunan temel gruplar ve ilgili spektral bölgeler	46
Çizelge 4.7. Propolis özüt miktarının MS filmlerinin antimikrobiyel etkinliği üzerine etkisi	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Antimikrobiyel gıda ambalajlama sistemleri ve antimikrobiyel maddelerin gıdaya difüzyonu	7
Şekil 2.2. Biyobuzunur polimerlerin degradasyonu	9
Şekil 2.3. Biyobuzunur polimerlerin şematik gösterimi	11
Şekil 2.4. Polihidroksibütiratın kimyasal yapısı (a): 3-hidroksibütirat asit, (b): poli 3-hidroksibütirat	12
Şekil 2.5. Metilselüloz'un yapısı	15
Şekil 2.6. A: Hasat edilmiş propolis, B: Kurutulmuş propolis, C: Kovan içerisinde propolis	19
Şekil 2.7. Gerilim-uzama eğrisi	24
Şekil 3.1. SBG analizi için hazırlanan deney sistemi	33
Şekil 3.2. Mekanik ölçüm için hazırlanan örnekler	34
Şekil 3.3. Tekstür cihazı ve cihazın iki çenesi arasına yerleştirilen film	34
Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda propolis özütü içeren MS filmlerinin infrared spektrumu	48
Şekil 4.2. Dış ambalaja yapışan MS filmi	51
Şekil 4.3. Depolama süresince <i>S. aureus</i> aşılınmış salam dilimlerindeki mikrobiyel değişim	52

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ΔP	: Gazların kısmi basınç farkı (kPa)
A	: Film alanı (m^2)
ASTM	: American standart test methods
ATCC	: American type culture collection
a_w	: Su aktivitesi
BN	: Bağlı nem (%)
C	: Su buharı veya oksijenin konsantrasyonu (g/m^3),
D	: Difüzyon katsayısı (m^2/s),
E	: Elastik modülü
FDA	: Gıda ve ilaç idaresi
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
GRAS	: Tüketimi sakıncalı olmayan maddeler
J	: Su buharı veya oksijenin kütleli akışı ($g/m^2.s$),
k.o.b	: Koloni oluşturan birim
MS	: Metil selüloz
P	: Kısmi basınç (Pa)
PE	: Polietilen
PEG	: Polietilen glikol
PHA	: Polihidroksialkonat
PHB	: Polihidroksibütirat
PLA	: Polilaktikasit
S	: Gazın katıdaki çözünürlüğü ($g/m^3.Pa$),
SBG	: Su buharı geçirgenliği
UV	: Ultraviyole
x	: Film kalınlığı (m)

1. GİRİŞ

Ambalaj gıda sanayisinde, içine konulan gıdaların, tüketiciye bozulmadan, en düşük maliyetle güvenilir bir şekilde ulaştırılmasını sağlayan, içindeki ürünü koruyan, dayanıklılığını arttıran, ürünün tanıtılmasını kolaylaştıran, yükleme, boşaltma, stoklama açısından kullanım kolaylığı sağlayan bir araç olarak tanımlanmaktadır [Üçüncü, 2007]. Gıdalar depolama süresince fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişime uğrarlar. Gıdaların uygun ambalaj materyalleri ile paketlenmesiyle, meydana gelen bu değişimler sonucu oluşan bozulmalar azaltılabilir ve gıdanın raf ömrü uzatılabilir.

Son yıllarda tüketici isteklerinde ve pazar eğilimlerinde meydana gelen değişimler ambalajlama tekniklerinin değişmesine ve aktif ambalajlamanın gelişmesine neden olmuştur [Cha ve Chinnan, 2004]. Aktif ambalajlama yöntemlerinden olan antimikrobiyel ambalajlar, ambalaj materyaline ilave edilen antimikrobiyel maddelerin gıdaya kontrollü bir şekilde salınımını sağlayarak, gıda ve ambalaj malzemesinde bulunan mikroorganizmaların gelişmelerini belirli düzeyde veya tamamen engelleyerek, ürünün daha uzun süre ve daha etkin bir şekilde korunmasını sağlayan sistemlerdir [Üçüncü, 2007]. Antimikrobiyel ambalajlarda kullanılan doğal antimikrobiyel maddelerin, kimyasal antimikrobiyel maddeler gibi pek çok farklı türdeki mikroorganizmaya karşı etki göstermesi, toksikolojik etkilerinin olmaması ya da kimyasal antimikrobiyel maddelere göre düşük olması, tüketicilerin doğala yakın katkısız gıda isteklerini karşılaması açısından bu maddelerin kullanımı her geçen gün daha önem kazanmaktadır.

Antimikrobiyel ambalajlamanın en yeni ve gelişmekte olan şekli, gıda yüzeyinde görülen mikrobiyel gelişmenin kontrol altına alınmasında ambalaj materyali ile antimikrobiyel ajanların birlikte kullanılmasıdır. Bu sistemde, ambalaj materyaline eklenen antimikrobiyel maddeler gıdalardaki antimikrobiyel etkilerini temas noktasında gösterirler. Bu da özellikle çeşitli şekillerde vakum ile paketlenmiş taze kırmızı et, kanatlı ve balık etleri ile bazı süt ürünlerinin ambalajlanmasında kullanılabilir bir uygulamadır. Bu sistemlerde, plastik filmler, kâğıt esaslı ambalajlar ve diğer bazı gıda ambalaj materyalleri, uygulandığı gıdada risk oluşturan

mikroorganizmalara karşı etkili olabilecek bir ya da birkaç antimikrobiyel bileşiğin taşıyıcısı olarak görev yaparlar [Karagöz ve Candoğan, 2007].

Plastiklerin kullanımı dünyada her geçen gün artmaktadır. Yaygın olarak kullanılan plastiklerin doğada parçalanma özelliği olmadığından dolayı çevre sorunlarına neden olmaktadır. Bu plastiklerin doğada degrade olmaması biyobozunur polimerlere olan ilgiyi arttırmıştır. Biyobozunur ambalajların üretilmesi ve daha fazla kullanılması çevrenin korunması açısından son derece önemlidir. Biyobozunur polimerler, yenilenebilirdir ve günümüzde, geçmişe göre daha ucuzdur. Biyobozunur plastikler birçok farklı kaynaktan ve materyalden elde edilebilir [Berkesch, 2012].

Çalışmada biyobozunur özellikte olan polihidroksibütirat ve metil selüloz polimerleri kullanılmıştır. Kullanılan polimerlerin özelliklerini iyileştirmek için suda, kloroformda ve etanolde çözünebilen, toksik özellikte olmayan gliserol ya da polietilen glikol film çözeltilisine ilave edilmiş ve mekanik özellikleri yüksek, biyobozunur filmler üretilmiştir. Filmlere antimikrobiyel aktivite kazandırmak amacı ile arıların kovanlarını dış etkilerden korumak için salgıladıkları doğal bir antimikrobiyel madde olan propolis kullanılmıştır. Hazırlanan filmlerin fiziksel ve yapısal özellikleri incelenerek optimum özellikteki metil selüloz film kompozisyonuna % 4,5 (a/h) oranında antimikrobiyel madde eklenmiş ve bu filmler dilimlenmiş salama uygulanarak *Staphylococcus aureus* üzerine antimikrobiyel etkinliği belirlenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. AMBALAJ VE AMBALAJIN ÖNEMİ

Ambalajın, hammaddenin temininden işlenmesi için fabrikaya taşınması sürecinde, gıdanın fabrikada işlenmesinden sonra tüketiciye hijyenik bir şekilde ulaşmasında ve tüketicinin aldığı malı hijyenik şartlarda saklamasında önemli bir rolü vardır. Ambalaj gıdayı ışık, oksijen, nem, mikrop ve toz gibi çevresel etkilerden korur. Ambalaj gıda işlemede uzun yıllardır aktif olarak rol oynamaktadır. Gıdaların ambalajlanması ilk olarak ham materyallerle başlamasına rağmen antik zamanlarda bile ambalajın kullanıldığının işaretleri görülmektedir. Yapılan araştırmalara göre şarap, hayvan derisinde depolanmaya ve saklanmaya başlanmıştır [Alvarez ve Pascall, 2011].

Dünyada yaşayan insan sayısının günden güne artması ambalaj materyallerinin de gelişmesine neden olmuştur. 1700'lü yıllarda sanayi devriminin başlaması, gıda ambalajlamanın hızla gelişmesini sağlamıştır. Çünkü yeni endüstriyel dallar açılmış, çalışan işçi sayısı artmış, gıdaların depolanması ve ulaşımı talepler arasına girmiştir. Hazır gıda (et suyu preparatları, kuru kek karışımları gibi gıdalar) endüstrisi de gıda ambalajlama endüstrisini hızlı ve belirgin bir şekilde etkilemiştir [Alvarez ve Pascall, 2011]. Gıda ambalajlarının gıda ürünlerini dış etkenlerden korumasının yanı sıra önemli rollerinden biri de gıdanın besinsel bilgilerini ve bileşenlerini tüketiciye iletmesidir. Gıda ambalajlamasında hedef düşük ücretle ambalajlanmış ürünleri, tüketiciye güvenli bir şekilde ulaştırmaktır [Marsh ve Bugusu, 2007].

Gıdaların ambalajlanması ile ambalaj; ürününün bozulmasını geciktirir, gıdayı korur, gıdanın kalitesini ve güvenliğini artırır. Ambalaj gıdayı kimyasal, biyolojik ve fiziksel olmak üzere üç şekilde korur. Kimyasal korumada çevresel etkiler olarak adlandırabileceğimiz gaza maruz kalma (oksijen), nem kaybı (artması ya da azalması) ya da ışık (kızıl ötesi, görünür veya UV) gibi faktörler ile gıdanın bozulmasını sağlayan etkenler en aza indirilir. Biyolojik korumada ise ambalaj; mikroorganizmalara, böceklere, kemirgenlere ve diğer hayvanlara karşı bariyer özellik göstererek gıdayı bozulmalara ve hastalıklara karşı korur. Fiziksel korumada

ise ambalaj gıdayı mekanik tehlikelere, taşıma sırasındaki sarsılmalara karşı koruduğu gibi gıdanın şeklinin korumasında ve gıdanın ezilmesini önlemede fayda sağlar [Marsh ve Bugusu, 2007].

Geleneksel gıda ambalajları gıdayı dış etkenlerden korumak için tasarlanmıştır. Son zamanlarda ise ambalaja birçok yenilik ilave edilmiştir. Bunlardan biri de aktif ambalajlamadır [Dainellia vd., 2008].

2.2. AKTİF AMBALAJLAMA

Gıda ürünlerinde güvenliği sağlama ve kayıpları en aza indirme uygun metot ve uygun ambalajın seçilmesi ile sağlanabilir. Son yıllarda müşterilerin talepleri doğrultusunda yeni gıda ambalajlama sistemleri gelişmektedir. Günümüzde market anlayışı ve hazır gıda tüketiminin artması, ambalajın fonksiyonlarını arttırmıştır. Daha güvenli ve uzun raf ömrüne sahip gıdayı tüketiciye ulaştırabilmek için ambalajlama endüstrisinde değişiklikler olmuştur. Geleneksel sistemlerle ambalajlanmış gıdanın raf ömrünü uzatmak sınırlıdır. Raf ömrünü uzatmak, kaliteyi, güvenliği ve paketlenmiş gıdanın bütünlüğünü sağlamak için yenilikçi aktif ve akıllı ambalaj tasarımları geliştirilmeye başlanmıştır. Aktif ambalajlama gıdanın raf ömrünü uzatma, gıda güvenliğini sağlama, duyuşal özelliğini geliştirme gibi koşulları sağlayan ambalajlar olarak tanımlanmaktadır [Dainellia vd., 2008, Ozdemir ve Floros, 2004]. Aktif ambalajlama gıdaların raf ömrünü uzatırken hem de besinsel kaliteyi korur. Patojen ya da bozulma yapan mikroorganizmaların gelişimini inhibe eder ve böylece gıdanın güvenliğini artırır. Aktif ambalajlamanın önemli örnekleri arasında oksijen tutucular, CO₂ emiciler, nem tutucular, etilen/etanol tutucular, zaman sıcaklık indikatörleri ve antimikrobiyel madde içeren ambalajlar yer almaktadır [Ozdemir ve Floros, 2004].

2.2.1. Antimikrobiyel Madde İçeren Ambalajlar

Gıdalarda mikrobiyel gelişmenin önlenmesi, oksijenin ortamdan uzaklaştırılması ile sağlanabildiği gibi, aktif ambalajlama olarak tanımlanan antimikrobiyel madde içeren ambalajlardan antimikrobiyel maddelerin gıdaya

salınımı ile de engellenebilir veya geciktirilebilir. Antimikrobiyel madde olarak nisin, potasyum sorbat, sodyum benzoat, benzoik asit, sorbik asit vb. bileşikler kullanılmaktadır [De Kruijf vd., 2002].

Mikrobiyel kontaminasyon gıdanın raf ömrünün azalmasına ve gıda kaynaklı hastalıkların artmasına neden olur. Geleneksel metotlarda gıdanın mikrobiyel kaynaklı bozulmaya karşı korunması ısı işlem, kurutma, dondurma, ışınlama, tuz / antimikrobiyel madde ekleme ve modifiye atmosferde ambalajlama gibi uygulamalarla sağlanır. Ancak bu gıda tekniklerinin bazıları et ve yemeğe hazır gıda ürünlerine uygulanamamaktadır. Antimikrobiyel ambalajlama özellikle ette gelecek vaat eden aktif bir gıda ambalajlama sistemidir.

Proses öncesi el değmesi nedeni ile et ürünlerinin yüzeyinde özellikle mikrobiyel kontaminasyon olmaktadır. Bu ürünlerin güvenliğinin ve bozulmasının önlenmesi için antimikrobiyel spreler ya da daldırma işlemi uygulanmaktadır. Gıdanın yüzeyine antimikrobiyel maddelerin doğrudan uygulanmasının yararları sınırlıdır. Çünkü aktif maddeler gıda yüzeyinden gıdanın iç kısmına hızlıca difüze olur. Antimikrobiyel madde içeren ambalajlanmış filmlerin kullanımı ile ambalaj materyalinden gıdanın yüzeyine bu maddelerin salınımı yavaş olduğundan gıdanın korunmasında daha fazla etkinlik sağlanmaktadır. Eğer bir antimikrobiyel madde saklama periyodu boyunca ambalajdan kontrollü ve yavaş salınırsa aktivite depolama, taşıma ve gıda dağıtımını sürelerince uzatılabilir [Quintavalla ve Vicini, 2002].

Gıda kalitesi ve güvenliği gıda endüstrisinde temel endişe nedenlerinden biridir. Antimikrobiyel ambalajlamanın gıda güvenliğini sağlamada ve raf ömrünü uzatmada belirgin bir etkisi vardır. Ambalaj materyaline antimikrobiyel maddelerin ilavesi, hedef mikroorganizmanın lag fazını uzatır, popülasyonun gelişimini ve gelişme hızını azaltır ya da temas ettiği yüzeyde mikroorganizmayı inaktif ederek mikrobiyel kontaminasyonu kontrol eder. Gıda ambalajlamasında antimikrobiyel maddelerin kullanımı ile mikrobiyel popülasyon kontrol altına alınarak gıda daha güvenilir hale getirilir [Quintavalla ve Vicini, 2002; Pérez-Pérez vd., 2001; Appendinia ve Hotchkiss, 2002].

Yenilebilir ambalajlar ve kaplamalar; polisakkaritlerden, proteinlerden ve lipitlerden hazırlanabilir. Bu ambalajların, biyobozunurluk, yenilebilirlik,

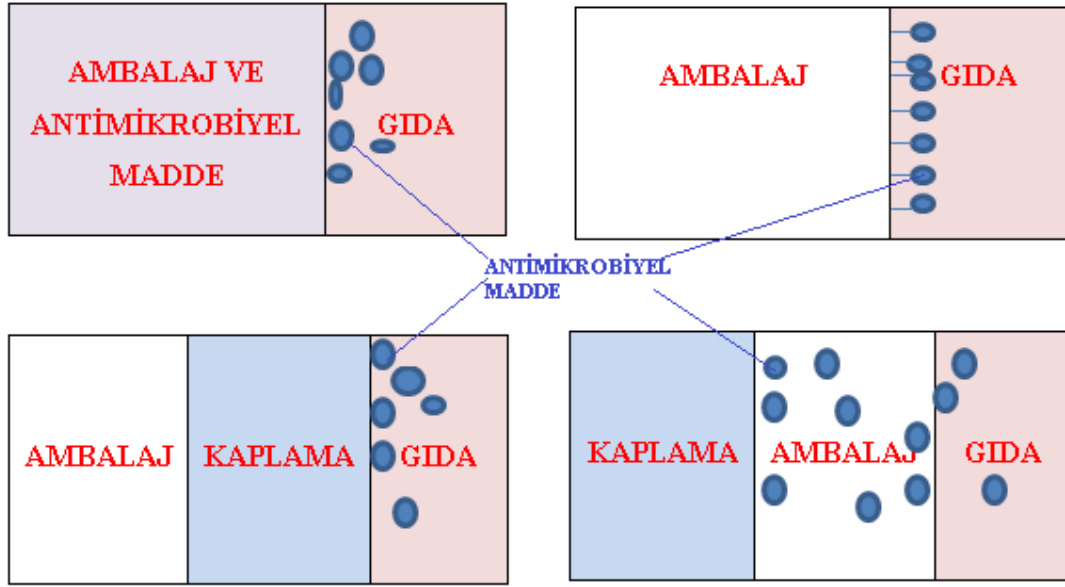
biyoyuurluluk, görünüm ve bariyer özellikleri gibi birçok avantajı vardır. Gıda kontaminasyonlarını ve kalite kayıplarını kontrol etmek için, yenilebilir kaplamalar ve biyobozunur ambalajlar gıda proseslerinde son zamanlarda kullanılmaktadır. Çevreye olan zararları minimum düzeyde olduğu için yenilebilir kaplamalara ve biyobozunur ambalajlara artan bir ilgi vardır [Pérez-Pérez vd., 2001].

Antimikrobiyel maddeler polimer içerisine eklendiğinde materyal gıdadaki mikrobiyel gelişmeyi önler ya da kısıtlar. Bu uygulama gıdanın raf ömrünü arttırmak için kullanılır. Antimikrobiyel maddeler sadece film içerisine değil, gıda taşıyıcılarına, mutfak eşyalarına da ilave edilerek kullanılabilir. Son zamanlarda film materyali olarak, biyobozunur polimerler ya da yenilebilir kaplamalar kullanılmaktadır. Yenilebilir film ya da kaplamalarda gıda koruyucusu olarak doğal antimikrobiyel maddelerin kullanımı ile ilgili yapılan araştırmalar giderek artmaktadır. Çoğu gıda ambalajlama sistemleri tepe boşluğundan, gıdadan ve ambalaj materyalinden oluşur [Han, 2000].

Antimikrobiyel ambalaj,

- ✓ Uçucu antimikrobiyel madde içeren poşet pedlerin eklenmesi ile,
- ✓ Polimer içerisine doğrudan uçucu ya da uçucu olmayan antimikrobiyel maddelerin eklenmesi ile,
- ✓ Polimer üzerine antimikrobiyel maddelerin kaplanması ya da adsorplanması ile,
- ✓ İyon ya da kovalent bağlar tarafından polimerlere antimikrobiyel maddelerin immobilizasyonu ile,
- ✓ Doğal olarak yapısında antimikrobiyel madde olan polimerlerin kullanımı ile oluşturulan ambalajlar olarak beş grup altında toplanabilmektedir [Appendinia ve Hotchkiss, 2002].

Gıda ambalajından antimikrobiyel maddelerin migrasyon oranı ve difüzyon hızının kontrolü oldukça önemlidir. Antimikrobiyel gıda ambalajlama sistemleri ve antimikrobiyel maddelerin gıdaya difüzyonu Şekil 2.1 de gösterilmiştir [Han, 2000].



Şekil 2.1. Antimikrobiyel gıda ambalajlama sistemleri ve antimikrobiyel maddelerin gıdaya difüzyonu

Ambalaj materyalinin antimikrobiyel aktivitesi mikrobiyolojik deneyler ile ölçülür. Önce hedef mikroorganizma gıda örneği içerisine karıştırılır ya da gıda yüzeyine inoküle edilir. Sonra antimikrobiyel madde içeren ambalaj ile gıda örneği kaplanır. Daha sonra inkübasyon ile mikroorganizmanın gelişimi ölçülür. Referans olarak ambalajsız örnek ya da antimikrobiyel madde içermeyen ambalaj kullanılır [Han, 2000].

2.3. BİYOBOZUNUR AMBALAJLAR ve FİLMER

Plastikler, tüm dünyada her geçen gün artan bir şekilde kullanılmaktadır. İçme bardakları, tabaklar, atılabilir kaşık ve çatalardan, otomobil ve motorsikletlere kadar plastiğin kullanım alanı günlük yaşamımızda birçok yerde görülmektedir. Yaygın olarak kullanılan plastiklerin çevrede bozulma yani degrades olabilmeye özelliği olmadığından dolayı çevre sorunlarına neden olmaktadır. Bir yılda atılan çöplerin yaklaşık % 20'sini plastikler oluşturmaktadır [Berkesch, 2012].

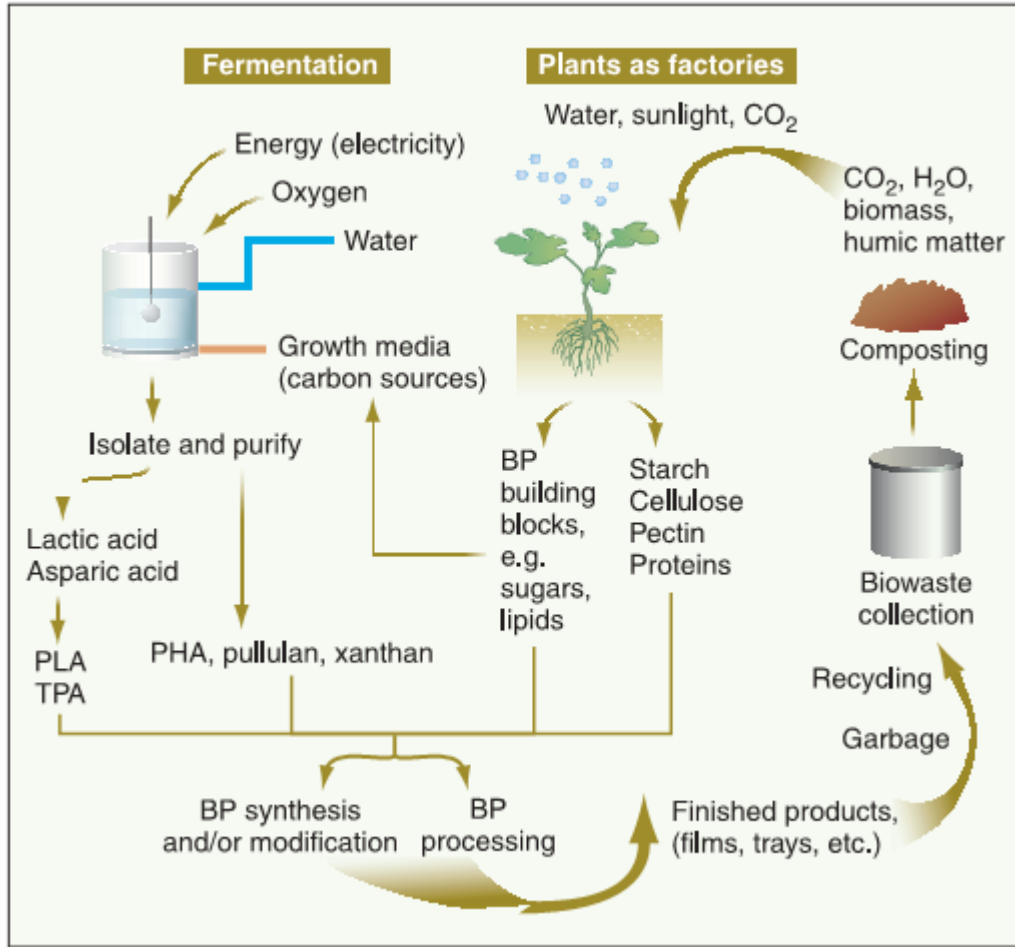
Biyobozunur ambalajların üretilmesi ve daha fazla kullanılması, çevrenin korunması açısından son derece önemlidir. Biyobozunur plastiklere, 1970'lerde çıkan yağ krizi sonucunda ilgi duyulmaya başlanmıştır. Yağ ücretlerinin artması

biyobozunur materyallerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. 1980'lerde biyobozunur filmler, levhalar, kalıp oluşturulan malzemeler geliştirilmiştir ve böylelikle çevreye duyarlı malzemeler gittikçe popüler olmaya başlamıştır. Biyobozunur polimerlerin, kullanılan plastiklerden daha ekonomik ve yenilenebilir bir kaynak olduğunu kanıtlamıştır. Biyobozunur plastikler birçok farklı kaynaktan ve materyalden elde edilebilir. Örneğin; nişasta esaslı polisakkaritler ağırlıklı olarak buğday, patates, pirinç ve mısırdan hasat edilir. Nişasta elde etmek için daha çok mısır kullanılır ve elde edilen nişasta daha ucuzdur. Nişasta esaslı plastikler, yemek araç-gereçleri, tabak, bardak vb. olarak kullanılmaktadır. Nişasta, biyoplastik olarak doğrudan işlenebilir, fakat nişasta suda çözündüğü için neme maruz kaldığında kabarır ve deforme olur. Bu yüzden de kullanımı sınırlıdır. Nişasta esaslı plastikler geleneksel plastiklere benzerdir ve saf selüloz olduğu için biyobozunurdur [Berkesch, 2012].

Biyobuzunur materyaller birçok ülkede yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu materyaller çevreye yönelik sorunların ortadan kaldırılmasında yardımcı olmaktadır. Biyobozunur ambalajların kullanılmasının iki önemli sebebi vardır. Birincisi atık çöp sıkıntısının giderek büyüyen bir sorun olması, ikincisi ise çevreye karşı sorumlu olunmasıdır [Berkesch, 2012].

Plastik materyallerin teknolojiadaki avantajları ve global popülasyondaki artış ile plastik, endüstride ve yaşamın her alanında geniş uygulama alanı bulmuştur. Son zamanlarda gıda ambalajlama alanında son eğilim biyobozunur ambalajların kullanımı ve geliştirilmesidir [Tokiwa vd., 2009, Muratore vd., 2005]. Çoğu geleneksel plastik örneğin polietilen, polipropilen, polistiren, polivinil klorür ve polietilen tereferat biyobozunur değildir ve bu plastiklerin kullanımı çevre kirliliğine neden olmaktadır. Bu sorunun üstesinden gelmek için bozunabilirliği yüksek plastikler üretilmiştir [Tokiwa vd., 2009]. Biyobozunur plastikler, geleneksel plastiklerin ve petrokimyasal bazlı plastiklerin yerine kullanılabilir, çevre sorunları için umut veren ve çevre dostu olan plastiklerdir. Bu plastikler yararlı metabolitlere (monomer ve oligomer), mikroorganizma ve enzimler tarafından dönüştürülmekte ve biyoçözünür olduğundan dolayı çevreye atıldığında hiçbir şekilde çevre problemlerine neden olmamaktadırlar [Tokiwa vd., 2009, Muratore vd., 2005].

Biyobozunur polimerler bakteri, mantar ve alg gibi mikroorganizmaların enzimatik aktivitelerinden dolayı biyoaktif çevrede degrades olurlar. Polimer zincirleri, kimyasal hidroliz gibi enzimatik olmayan proseslerle de bozulabilir. Biyobozunur polimerler, atmosferdeki CO₂'yi kullanan bitkilerden üretilir. Şekil 2.2 de gösterildiği gibi biyodegradasyon sonucunda polimer CO₂, CH₄, su, biyokütle, humus ve diğer doğal maddelere dönüşür. Biyobozunur polimerler ayrıca doğal biyolojik işlemlerle geri dönüştürülmektedir [Gross ve Kalra, 2002].



Şekil 2.2. Biyobozunur polimerlerin degradesyonu

2.3.1. Biyobozunur Polimerler

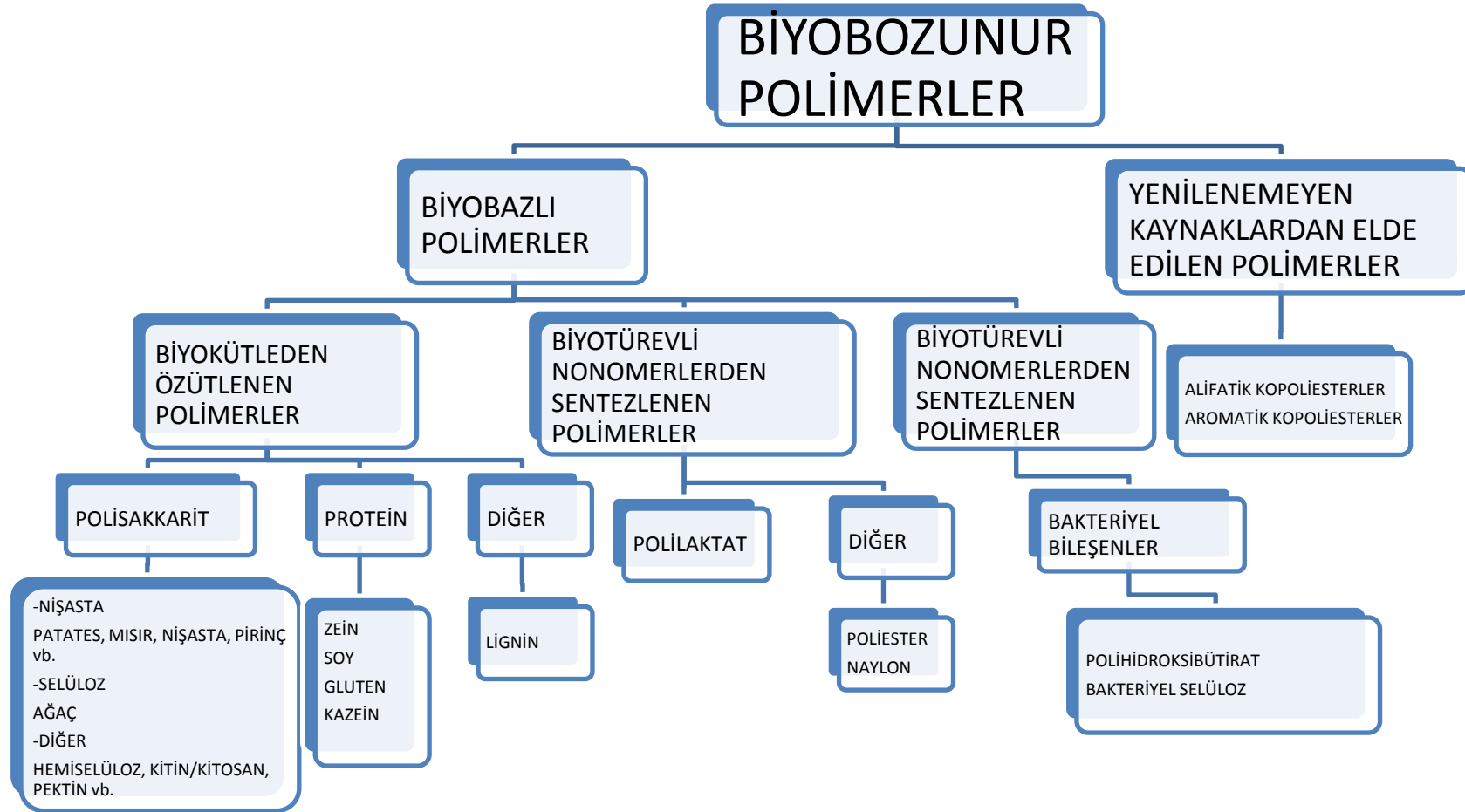
Biyobozunur polimerler birincil nesil, ikincil nesil ve üçüncü nesil polimerler olarak sınıflandırılmaktadır.

Birinci nesil polimerler; ticari biyobozunur polimerler, alçak yoğunluklu polietilen ile birlikte % 5-20 nişasta ve pro-oksitatif ve oto-oksitatif katkı maddelerinden oluşmaktadır. Bu maddeler ekstrüzyon işlemi sırasında karıştırılır. Nişasta granülleri homojen bir şekilde alçak yoğunluklu polietilen içerisine karıştırılır. Bu işlem sırasında nişastanın mikrobiyel bozunumu ile düşük yoğunluklu polietilenin özelliklerinde kayıplar yaşanır ve düşük yoğunluklu polietilen oksijen ile kimyasal bozunuma uğrar. Birincil nesil biyobozunur polimerlerin topraktaki bozunumu 3-5 yıl kadar sürdüğü için biyobozunur olarak değerlendirilmemektedir.

İkinci nesil polimerler; etilen akrilikasit, polivinil alkol ve vinil asetat gibi hidrofilik kopolimer ilave edilmiş düşük yoğunluklu polietilen ve jelatinize edilmiş nişastadan meydana gelmektedir. Bu materyal içindeki nişastanın bozunumu 40 gün sürerken, filmin tümünün bozulması için en az 2-3 yıla ihtiyaç vardır.

Üçüncü nesil biyobozunur polimerler ise; tamamen biyobazlı materyallerdir ve biyokütleden doğrudan doğruya ekstrakte edilen polimerler, biyokütle monomerlerinden klasik kimyasal sentez ile üretilebilen polimerler ve doğal ya da genetik olarak modifiye edilmiş organizmalar tarafından doğrudan üretilen polimerler olmak üzere üçe ayrılır [Üçüncü, 2007].

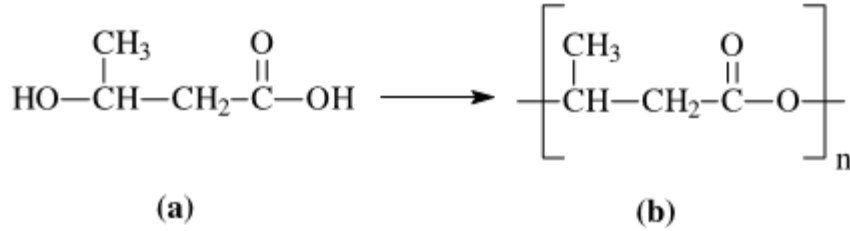
Şekil 2.3 te biyobozunur polimerlerin şematik olarak gösterimi verilmiştir. Biyobozunur polimerler; biyobozunur polimerler ve yenilenemeyen kaynaklardan elde edilen polimerler olarak ikiye ayrılmıştır [Kosior, 2006].



Şekil 2.3. Biyobozunur polimerlerin şematik gösterimi

2.3.1.1. PHB ve özellikleri

Mikrobiyel poliestерlerden olan polihidroksialkonatlar (PHA), yenilenebilir kaynaklardan elde edilen kristal yapısının yanı sıra zayıf mekanik özelliklere sahip termoplastik biyopolimerdir [Üçüncü, 2007]. PHA, enerji depolayan granüller ve hücre içi karbonlardan bakteriler tarafından sentezlenmiş hücre içi biyopolimerdir [Barud vd., 2011]. PHA, sukroz, nişasta gibi yenilenebilir kaynaklardan ya da metan, mineral yağı ve kömür gibi fosil kaynaklardan üretilmektedir [Üçüncü, 2007]. Polihidroksibütirat (PHB), PHA kadar iyi bilinen biyobozunur bir polimerdir [Bucci vd., 2005]. Söz konusu polimerler β -hidroksialkanoik asitin homo veya kopolimerlerini içeren lineer alifatik poliestерlerdendir. β -hidroksialkanoik asit, birçok gram pozitif ve gram negatif bakteri tarafından şeker fermentasyonu ile üretilmektedir (Şekil 2.4). Fermentasyon sonucu, 3-hidroksibütirat (3HB), 3-hidroksivalerat (3HV) ya da düzensiz kopolimer olan poli (3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksivalerat P(3HB-3HV)) elde edilir. P(3HB-3HV), P(3HB) den daha az sert ve daha çok kırılğan yapı gösteren bir polimerdir [Üçüncü, 2007].



Şekil 2.4. Polihidroksibütiratın kimyasal yapısı (a): 3-hidroksibütirat asit, (b): poli 3-hidroksibütirat

İlk kez, Lemoigne tarafından, 1920’li yıllarda, topraktan izole edilen *Bacillus megaterium* bakterisinde rastlanılan 3-hidroksibütirik asit, poli-3-hidroksibütirat homopoliesteri olarak tanımlamıştır. Sonraki 30 yılda PHB polimerine olan ilgi giderek artmış ve 1958 yılında Macrae ve Wilkinson, *Bacillus* hücresi içinde PHB sentezi ve parçalanmasını yönlendiren hücre içi şartları ve mekanizmasını araştırmışlardır. Biyoparçalanabilir, termoplastik bir polimer olan PHB’nin, petrol türevli plastiklerin yerini almak için ticari olarak üretim çalışmaları, 1960’lı yıllarda başlamış, ancak ilk endüstriyel üretimi 1970’li yıllarda gerçekleşmiştir. Üretilen ilk ticari ürün BIOPOL adıyla patent almıştır. Bu yıllarda

İngiltere’de Imperial Kimya Endüstrisi birçok bakteriyel türü, potansiyel PHB üretimi açısından incelenmiş ve endüstriyel üretimde, hücre kuru ağırlığının % 90’ı üzerinde PHB biriktiren *Alcaligenes eutrophus* bakterisini kullanmaya başlamıştır. Daha sonraki yıllarda *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Hydrogenomonas*, *Chromatium*, *Bacillus* ve genetik olarak modifiye edilmiş bakteri cinsleriyle üretime devam edilmiştir [Üçüncü, 2007; Yılmaz ve Beyatlı, 2003].

PHB polimerinin molekül ağırlığı, özellikle bakterinin türüne bağlı olmakla birlikte, büyüme koşulları ve hücrenin yaşam döngüsündeki yerine göre de değişebilir. PHB polimerinin molekül ağırlığı 60.000–2.000.000 Da arasında değişiklik göstermektedir. Karbon kaynağı olarak metanol kullanıldığında *Methylobacterium extorquens* bakterisinde $0,6 \times 10^6$ Da, *Alcaligenes eutrophus* bakterisinde, $1,1 \times 10^6$ Da; süksinat kullanıldığında ise *M. Extorquens* bakterisinde $1,7 \times 10^6$ Da ve *A. Eutrophus* bakterisinde $1,6 \times 10^6$ Da moleküler ağırlığında PHB polimerleri elde edilmiştir [Reddy vd, 2003].

Polihidroksibütirat, polipropilen (PP) gibi petrol türevli polimerlerle benzer özellikler gösterir [Yılmaz ve Beyatlı, 2003; Reddy vd, 2003]. PHB, biyouyumlu, biyobozunur ve termoplastik bir polimerdir. Günümüzde biyobozunur olmayan polietilen ve polipropilenle PHB’nin yer değiştirmesi, PHB’nin plastiğe benzer davranışlarından dolayıdır [Barud vd., 2011]. Çizelge 2.1.’de PHB polimerine ait bazı özellikler polipropilen polimeri ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Kırılgan bir polimer olan PHB yüksek erime sıcaklığına (157-188°C) sahiptir. PHB termoplastik özelliğinden dolayı preslenip şekil verilebilir. PHB’nin, UV ışınlarına dirençli olduğu ancak, asit ve baz uygulamalarına karşı zayıf dirence sahip olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, polimerin su buharı ve gaz geçirgenliğinin düşük olması, hidrolitik parçalanmaya karşı dirençli olması PHB’nin kullanım olanaklarını genişletmektedir [Yılmaz ve Beyatlı, 2003; Reddy vd, 2003].

Çizelge 2.1. PHB ve PP polimerlerine ait bazı özellikler

Özellik	PP	PHB
Erime Sıcaklığı (°C)	176	175
Camsı Geçiş Sıcaklığı (°C)	-10	5-10
Kristalinite	70	80
Yoğunluk (g/cm ³)	0,91	1,25
Gerilim (MPa)	38	40
Uzama (%)	400	6

Polihidroksibütirat polimerinin en önemli özelliklerinden biri toprak ve deniz sedimentlerinde bulunan bakteri ve mantarlar tarafından toksik ürünler meydana getirmeksizin tamamen parçalanabilmesidir. Mikroorganizmalar plastik yüzeyinde gelişmeye başladığında ve polimeri hidroksil asit monomerik birimlere parçalayan enzimler salgılandığında bozunma başlamaktadır. PHB polimeri, aerobik koşullarda karbondioksit ve suya kadar parçalanırken anaerobik ortamda karbondioksit ve metan gazı oluşturmaktadır. PHB'nin parçalanma süresi anaerobik koşullarda birkaç aydan birkaç yıla kadar sürebilir. Polimerin parçalanmasında, bakteri, mantar, hidroliz, oksidasyon, güneş ışığı gibi faktörler etki etmektedir [Üçüncü, 2007; Reddy vd, 2003].

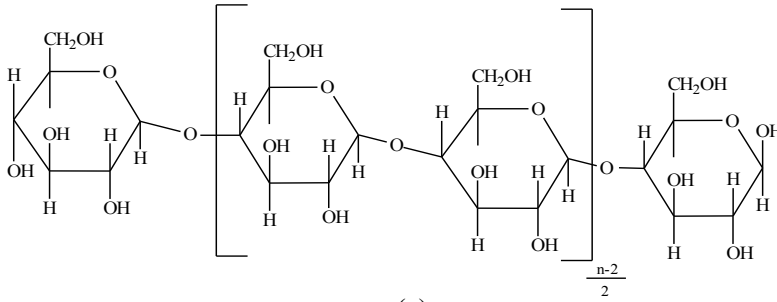
Polihidroksibütirat, kolay şekil alma ve biyobozunur özellikleri nedeniyle daha çok ambalaj malzemesi olarak kullanılmaktadır. Özellikle PHB ve kopolimer poli- β -hidroksibütirat-kopolihidroksivalerat P(HB-HV), gıda ve kozmetik alanında ambalaj üretiminde geniş kullanım alanlarına sahiptir. PHB filmlerin; poşet, torba, gıda muhafazasında kullanılmak üzere tepsi, meşrubat şişeleri ve karton süt kutularının iç yüzey kaplamalarında kullanılabilirliğine ilişkin çalışmalar sürmektedir [Reddy vd, 2003].

Biyoteknolojik yöntemlerle üretilen PHB, yüksek üretim maliyetinden dolayı düşük ya da yüksek molekül ağırlıklı başka polimerlerle birlikte kullanılarak hem plastik maliyeti düşürülmekte hem de bazı fiziksel özellikleri geliştirilmektedir [Reddy vd, 2003]. Kırılgan bir yapı gösteren PHB, polietilen oksit, polivinil fenol, polivinil alkol, kitin, kitosan ve nişasta gibi polimerlerle kullanılarak ve

plastikleştirici ilave edilerek kırılgnlık özelliği giderilmeye çalışılmaktadır [Ikejima ve Inoue, 2000].

2.3.1.2. Metil selüloz ve özellikleri

Selüloz, β 1-4 bağları ile bağlanmış D-glukopiranoz birimlerinin suda çözünmeyen dallanmış yapıdaki polimer bileşikleridir (şekil 2.5). Molekül ağırlığı kaynağına göre ortalama 1 000 000 g/mol'dür. Çok sayıda hidrojen bağı içeren ve bundan dolayı kararlı bir yapıya sahip olan kristal yapı, enzim ve kimyasal maddelere karşı dirençlidir. Bu bölgenin suya ilgisinin az olması, selülozlu gıdaların sert bir tekstürel yapı göstermelerine neden olur [Ayana, 2007].



şekil 2.5. Metil selüloz'un yapısı

Metil selüloz beyaz, kokusuz, tatsız ve toksik olmayan bir katıdır. Ayrıca metil selüloz, FDA (Gıda ve İlaç İdaresi) tarafından onaylanan ve GRAS (Tüketimi Sakıncalı Olmayan Maddeler) listesinde yer alan bir maddedir (21 CFR No: 182.1480) [Krochta ve Mulder-Johnston, 1997]. Ticari olarak farklı molekül ağırlıklarında toz veya tanecik halinde üretilir. Metil selüloz, selüloz enzimleri tarafından kolayca hidroliz edilemez ve mikrobiyal bozunmaya karşı bir dereceye kadar dirençlidir. Substitüsyon derecesi (SD) "yerdeğiştiren hidroksil grubu/monomerik birim" sayısı olarak tanımlanır. Metil selüloz'un çözünlüğü substitüsyon derecesi ile değişir ve substitüsyon derecesi azaldıkça artar [Turhan, 1999].

Kimyasal modifikasyonlara uğratılmış selüloz türevleri gıdaların yapısını hidrofil özelliklerini ve fonksiyonel kalitesini olumlu yönde etkilemekte ve çeşitli

tipteki selüloz modifikasyonları gıda endüstrisinde katkı maddeleri olarak ve başka amaçlarla kullanılmaktadır. Bunlar arasında karboksimetilselüloz, metil selüloz hidroksipropil metilselüloz, hidroksipropil selüloz sayılabilir [Turhan, 1999].

Metil selüloz iyonik olmayan soğuk suda çözünen bir eterdir. Çözünmesi iki basamaklı bir işlem şeklinde düşünülebilir. Bunlar dağılma ve hidrasyondur. Metil selüloz partiküllerinin tam çözünmemesi, "balıkgözü" olarak adlandırılan dış yüzeyi şişmiş kümeciklerin oluşumuna neden olur. Bu oluşumun engellenmesi için dört farklı yöntem önerilmektedir. İlk yöntemde, oda sıcaklığında çok iyi karıştırılan suyun oluşturduğu girdaba MS ilave edilir. Ekleme hızı, partiküllerin su içinde ayrılmasına ve her birinin yüzeyinin ıslanmasına izin verecek kadar yavaş olmalıdır. Karıştırma tüm partiküller çözünen ve mevcut jel yapı giderilene kadar devam eder. İkinci yöntem kuru karıştırma yöntemidir. Formülasyonda yer alan herhangi bir inert veya iyonik olmayan çözünen madde ile MS'nin kuru karıştırılması etkili bir yöntemdir. Üçüncü yöntem ise gliserin, etanol veya propilen glikol gibi su ile karışan, ancak MS için çözücü olmayan bir maddede MS'nin dağılmasını ve sonra bu karışımın suya ilavesini içerir. Dördüncü yöntemde ise mekanik bir karıştırıcı kullanılarak MS'nin dağılımını sağlanır [Turhan, 1999].

2.4. ANTİMİKROBİYEL MADDELER ve ETKİ MEKANİZMASI

Antimikrobiyel film ve kaplamaların üretiminde kimyasal ve doğal antimikrobiyel maddeler kullanılmaktadır. Kimyasal antimikrobiyel maddeler, gıda ile birlikte tüketildiğinden kullanımlarına birtakım sınırlamalar getirilmiştir. Getirilen sınırlamalar ile birlikte, sınırlı miktarda antimikrobiyel madde, yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılmaya başlanmıştır. Doğal antimikrobiyel maddeler, kimyasal antimikrobiyel maddelerde olduğu gibi sınırlı miktarlarda kullanılmamaktadır. Doğal antimikrobiyel maddeler antimikrobiyel etkiyi sağladıkları kritik miktar ve üzerinde kullanıldıklarında etkili bir antimikrobiyel aktiviteye sahiptirler. Ancak, yüksek miktarlarda doğal antimikrobiyel madde kullanımı tat ve renk değişimlerine neden olmakta, bu da gıdanın kendine özgü tadının ve renginin baskılanmasına ve gıdanın tüketici tarafından tercih edilmemesine sebep olmaktadır [Ayana ve Turhan, 2010].

2.4.1. Yapay Antimikrobiyel Maddeler

Asetik, benzoik, laktik, sitrik, malik, tartarik, propiyonik, formik ve sorbik asitler gibi zayıf organik asitler ve sodyum benzoat, potasyum sorbat, propiyonat gibi organik asit tuzları gıdalarda en yaygın olarak kullanılan kimyasal koruyuculardır. Bunların bir kısmı fermente ürünlerde ve bitkilerde doğal olarak bulunmasına rağmen birçoğu kimyasal olarak sentezlenmektedir [Ayana, 2007].

Zayıf organik asitler; en fazla ve yaygın olarak kullanılan klasik koruma ajanlarıdır. Bu asitler bakteriyel ve fungal hücrelerin büyümesini inhibe ederler. Solüsyonlarda zayıf asitlerin koruması; ayrılmış ve ayrışmamış durumlar arasındaki pH'ya bağlı olarak etki gösterirler. Zayıf organik asit koruyucuları için en iyi inhibitör aktivitesi düşük pH'dır. Çünkü düşük pH'da hücrelere zarar verme yeteneğine sahiptirler [Cha ve Chinnan, 2010].

2.4.2. Doğal Antimikrobiyel Maddeler

Kimyasal koruyucular, gıda ile birlikte tüketildiğinden kullanımlarına sınırlamalar getirilmiştir ve doğal antimikrobiyel maddelerin kullanımına olan eğilim artmıştır [Ayana, 2007]. Doğal antimikrobiyel maddelere örnek olarak enzim, bakteriosin, esansiyel yağlar, baharat yağları ve lipitler vb. örnek olarak gösterilebilir.

Tek bir peptit proteininden meydana gelen lizozim enzimi, gram (+)/(-) mikroorganizmaların hücre duvarlarının ana bileşeni olan peptidoglukonda bulunan N-asetilglukaz amin ve N-asetilmumarik asit arasındaki beta 1-4 glikodik bağlara karşı enzimatik aktivite gösterir [Cha ve Chinnan, 2010].

Bir bakteriosin olan nisin antimikrobiyel madde olarak 1960'lardan beri gıdalarda kullanılmaktadır. Nisin bir asit bakterisi olan *Lactococcus lactis* tarafından üretilmektedir. Nisinin antimikrobiyel aktivitesi, laktik asit bakterilerine ve diğer gr(+) organizmalara karşı çok daha fazladır [Cha ve Chinnan, 2010].

Esansiyel yağlar ve diğer bileşenlerinin antimikrobiyel ajan olarak kullanımları, doğal ve zararsız olduklarından dolayı giderek artmaktadır [Cha ve Chinnan, 2010].

Baharatlar ve otlar ise gıdalarda ve sofralarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmalar farklı bitki türlerinin ve özütlerinin antimikrobiyel özelliklerinin olduğunu göstermiştir. Sarımsak, soğan, tarçın, hardal, karabiber, kekik, ada çayı, biberiye, anason, tarçın, kırmızıbiber, kereviz, dereotu, mercan köşk gibi doğal olan ve sofralara her gün giren bu ürünlerin gıdaya lezzet katmanın yanı sıra antimikrobiyel etkinlikleri ile de dikkat çekmektedir [Nasar-Abbas ve Halkman, 2004].

2.4.2.1. Propolis ve özellikleri

Propolis (bee glue), çeşitli bitki kaynaklarından bal arıları tarafından toplanmış reçine maddeleri için verilen genel bir isimdir. Propolis kelimesi Yunanca pro eki ve şehir anlamına gelen polisten gelmektedir. Bal arıları (*Apis mellifera* L.) yaprak tomurcuğundan ve ağaçların kabuklarındaki çatlaklardan reçineleri mandibula denilen organları ile toplarlar. Bu reçineleri çiğneyip tükürük enzimlerini yapıya ekleyerek kısmen sindirilmiş maddeyi balmumu ile karıştırarak propolis denilen maddeyi üretirler (Şekil 2.6). Propolis dışarıdan gelecek etkilere karşı kovana korumak, iç duvarları pürüzsüzleştirmek ve bal peteklerini kovana sabitleştirmek için bal arıları tarafından kullanılır [Burdock, 1998]. Propolis yapısında az da olsa polen içermesine rağmen arının diğer ürünleri olan polen, arı yemi ya da arı sütü değildir. Rengi ise açık sarı ile koyu kahverengi arasındadır. Ham propolisin kompozisyonu toplandığı bölgeye ve çiçek türüne göre değişmektedir. Genelde kompozisyonu % 50 reçine ve bitkisel bileşen, % 30 vaks, % 10 esansiyel ve aromatik yağlar, % 5 polen ve % 5 çeşitli diğer maddeler ve organik birikintilerdir [Burdock, 1998, Kolegeropoulos vd., 2009].

Propolis, arıcılar tarafından bal kovandan alındıktan sonra sonbahar aylarında toplanır. Kovandan alınan propolis eğer çok mumsu ise soğuk suyun altına konur ve yapıdan mum uzaklaştırılır. Arta kalan propolis paslanmaz çelik tepsinin içinde havada kurutulur. Eğer propolis mumsu değilse, doğrudan % 95 etil alkolde çözdürülür, filtrasyon yapılır ve ortamda kalan diğer arı parçaları, mum ve yabancı maddeler uzaklaştırılır [Burdock, 1998].



Şekil 2.6. A: Hasat edilmiş propolis, B: Kurutulmuş propolis, C: Kovan içerisinde propolis [Choudhari vd., 2012]

Propolisin; antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan, lokal-anestetik, anti-inflamatuvar, hepatoprotektif, immunostimülan ve sitostatik gibi bir çok biyolojik özelliği vardır. Propolisin antimikrobiyel aktivitesinin yapısında bulundurduğu flavoneidlerden, aromatik asitlerden ve esterlerden sorumlu olduğu, mekanizmasının ise reçinede bulunan bu bileşenler arasındaki etkileşime bağlı olduğu düşünülmektedir [Kartal vd., 2003].

Kartal ve ark. (2003), Türkiye'nin iki farklı bölgesinden (Ankara (Kazan) ve Muğla (Marmaris)) temin etmiş oldukları propolis örneklerini; % 30, 50, 70 ve 96 (h/h) oranlarda 100 ml etanol içerisinde, propolis oranı % 5 (a/h) olacak şekilde çözdürerek propolis özütleri hazırlamışlardır. Özütlerin *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*,

Corynebacterium diphtheriae, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Branhamella catarrhalis*, *Candida albicans* üzerine antimikrobiyel etkinliğini belirlemişlerdir. İki propolis örneğinin farklı etanolik özütleri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* üzerine antimikrobiyel etki göstermiştir. Kazan propolis örneğinin farklı etanolik özütleri ayrıca *Corynebacterium diphtheria*, *Branhamella catarrhalis*, *Candida albicans* üzerine de antimikrobiyel etki göstermiştir. Kazan propolis örneğinin % 70-96 (h/h) etanolik özütünün, % 30-50 (h/h) etanolik özütüne göre daha fazla antimikrobiyel etki gösterdiği ve Kazan propolis örneklerinin, Marmaris propolis örneklerine göre daha güçlü antimikrobiyel etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Silici ve Kutluca (2005), tarafından yapılan çalışmada farklı bal arısı türlerinin (*Apis mellifera caucasica*, *Apis mellifera anatolica*, *Apis mellifera carnica*) yapmış olduğu propolis etanolik özütünün (% 30, a/h) *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* üzerine antimikrobiyel etkinliği incelenmiştir. Üç farklı bal arısı türünden elde edilmiş propolis etanolik özütünün dört mikroorganizma üzerinde de antimikrobiyel etkinliğinin olduğu belirlenmiştir. *Apis mellifera caucasica* türünden elde edilmiş propolis etanolik özütünün; *Apis mellifera anatolica* ve *Apis mellifera caucasica* türlerinden elde edilmiş propolis etanolik özütlerinden daha güçlü antimikrobiyel etkisi olduğu görülmüştür.

2.5. AMBALAJ MADDELERİNİN ÖZELLİKLERİNİN ÖNEMİ

Filmler bileşen özelliklerine ve oluşturulma tekniğine göre farklı bariyer özelliklerine sahiptirler. Protein ve karbonhidrat gibi polar polimerler, düşük gaz geçirgenliği ve yüksek su buharı geçirgenliği değerleri gösterirler. Film oluşturmak için birçok teknik geliştirilmiştir. Bunların arasında koaservasyon, ısı jelleşme, çözücü uzaklaştırma ve eriyiğin katılaştırılması gibi işlemler örnek olarak gösterilebilir. Koaservasyon işleminde, iki zıt yüke sahip hidrokolloidlerin çözeltisi karıştırılarak polimer kompleksi etkileşir ve çökelti oluştur. Çözücünün uzaklaştırılması hidrokolloid filmlerin yapımında yaygın olarak kullanılan diğer bir

yöntemdir. Bu işlemde, sürekli bir yapı oluşturulur ve moleküller arası etkileşim değişik fiziksel ve kimyasal işlemlerle kararlı hale getirilir. Film çözeltilisindeki makromoleküller su, etanol ya da asetik asit gibi çözücü ortamında dispers durumundadır. Oluşturulan filmin özelliklerini iyileştirmek için plastikleştirici veya diğer katkı maddeleri eklenir [Çağrı-Mehmetoğlu, 2010].

2.5.1. Geçirgenlik Özellikleri

Gıdalar dinamik sistemlerdir ve üretiminden tüketimine kadar geçen sürede kalite kriterlerindeki değişimler depolama koşullarına ve ambalajlarına bağlıdır. Gıdaların temel bileşenlerinden olan su, gıdalarda pek çok bozulmaya neden olmaktadır. Pek çok enzimatik reaksiyonun hızı, ortamın su aktivitesine bağlıdır ve mikrobiyel gelişme hızı da ortamdaki serbest suyun bir fonksiyonudur. Bu nedenle gıdalarda koruma tekniklerinin geliştirilmesinde, gıdanın su aktivitesini düşürmek ya da mevcut suyu kontrol altında tutmak önemlidir. Gıda ambalajlamasında kullanılacak malzeme, hem çevreden gıdaya hem de gıdadan çevreye nem hareketliliğini etkin biçimde kontrol etmelidir [Erdoğan, 2005].

Su buharı dışında ambalajın oksijen, karbondioksit gibi gazları, aroma gibi uçucu bileşikler aktarım oranları da gıdanın depolama sırasındaki stabilitesini etkileyen faktörlerdir [Erdoğan, 2005]. Gıda ambalajlarının içinde bulunan oksijen, gıda da aerobik mikroorganizmaların ve küflerin gelişmesine neden olur. Ayrıca ambalaj içinde meydana gelen oksidatif reaksiyonlar gıdalarda istenmeyen kokulara ve gıdanın besinsel kalitesinde ve renginde değişikliğe neden olur. Gıda ambalajlarının içindeki nem gıdanın gevrekliğinin bozulmasına ve mikroorganizma gelişmesine destek olur [Brody vd., 2008].

Polimer matriksi boyunca gazın geçişi, ilk kez 1829'da Graham tarafından gözlenmiştir. Bu konudaki ikinci adım 1855 yılında Adolf Fick' in kendi adıyla anılan difüzyon yasasını türetmesi olmuştur. Graham, 1866'da penetrant molekülün polimer yapıdaki difüzyonu için çözünmesinin gerekli olduğunu öne sürmüştür. 1879'da Wroblewski gazın çözünürlüğünün polimer yüzeyindeki kısmi basınçla orantılı olduğunu (Henry Yasası) göstermiş ve Fick Yasası'nı da kullanarak geçirgenlik eşitliğini türetmiştir [İlter, 1989].

Ambalaj malzemesi olarak kullanılan polimer film boyunca gazların difüzyonunu açıklamak amacıyla Fick'in I. yasası kullanılır. Bu tip difüzyonun, katının yapısına bağlı olmadığı düşünülür. Difüzyonun oluşabilmesi için difüzlener gazın katı içinde çözünmesi gereklidir. Kütlesel akı derişim farkı ile orantılı olup tek boyutlu, kararlı hal difüzyonu için aşağıdaki şekilde ifade edilebilir [Geankoplis, 1983; Park ve Chinnan, 1995].

$$J = \frac{D^*(C_2 - C_1)}{x} \quad (2.1)$$

Burada,

J : su buharı veya oksijenin kütlesel akısı ($g/m^2.s$),

D : difüzyon katsayısı (m^2/s),

C : su buharı veya oksijenin konsantrasyonu (g/m^3),

x : film kalınlığıdır (m).

Film boyunca difüzlener gazın miktarı Q (g), film alanı A (m^2) ve difüzyon süresi t (s) ise kütlesel akı,

$$J = \frac{Q}{A * t} \quad (2.2)$$

şeklinde de ifade edilebilir. Bu durumda,

$$J = \frac{D^*(C_2 - C_1)}{x} = \frac{Q}{A * t} \quad (2.3)$$

olur.

Difüzyona neden olan sürücü güç Henry Yasası kullanılarak gazın kısmi basınç farkı cinsinden de ifade edilebilir.

$$C = S * p \quad (2.4)$$

Burada,

S : gazın katıdaki çözünürlüğü ($g/m^3.Pa$),

p : gazın kısmi basıncıdır (Pa).

Konsantrasyon terimi Eşitlik (2.3) de yerine konduğunda, Eşitlik (2.5) elde edilir.

$$J = \frac{D * S * (p_2 - p_1)}{x} = \frac{Q}{A * t} \quad (2.5)$$

Geçirgenlik ise P (g/m.s.Pa) ile gösterilip difüzyon katsayısı (D) ile çözünürlüğün (S) çarpımı şeklindedir.

$$P = D * S \quad (2.6)$$

Eşitlik (2.6), Eşitlik (2.5) de yerine konulduğunda Eşitlik (2.7) elde edilir.

$$\frac{P * \Delta p}{x} = \frac{Q}{A * t} \quad (2.7)$$

Bu durumda su buharı veya oksijenin geçirgenliği aşağıdaki şekilde ifade edilebilir.

$$P = \frac{Q * x}{A * t * \Delta p} \quad (2.8)$$

Eşitlik 2.8'in türetilmesiyle yapılan diğer bir varsayım da D ve S'nin penetrant konsantrasyonuna bağımlı olmadığıdır. Bu varsayım O₂, H₂, N₂ ve belli ölçüde CO₂ için doğru ise de su buharı gibi polimer ile penetrant arasında etkileşimin olduğu hallerde geçerli değildir. Varsayımlar nedeniyle türetilen eşitliğin gözeneksiz, hidrofob, su çözünürlüğü düşük, şişmeyen ve bu nedenle geçirgenliği zamanla değişmeyen polimer matrikste geçerli olacağı unutulmamalıdır [Chao ve Rizvi, 1988].

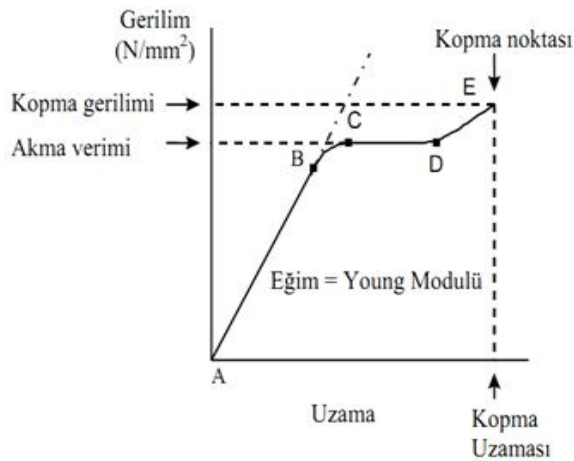
Geçirgenlik difüzyon katsayısı (D) ile çözünürlüğün (S) çarpımına eşittir. Bu nedenle bu iki parametreyi etkileyen faktörler geçirgenliği de etkileyecektir. Bu faktörler penetratın çözünürlüğü, penetrant molekülünün büyüklüğü, polimerin yapısı, kristalinite, camsı geçiş, çapraz bağ oluşumu, plastikleştiricilerin etkisi, yönlendirme, sıcaklık ve basınç olarak sıralanabilir [Chao ve Rizvi, 1988; Jasse vd., 1994; McHugh ve Krochta, 1994].

2.5.2. Mekanik Özellikleri

Bir ambalaj materyalinden beklenen özelliklerin başında, kullanılacağı yere göre belli bir darbe dayanımına sahip olması ve yapısal bütünlüğünü koruyabilmesidir. Bu nedenle ambalaj materyallerinin mekanik özelliklerinin bilinmesi, kullanım alanlarının belirlenmesi ve doğabilecek sorunların giderilebilmesi açısından önemlidir.

Polimerik materyallerin mekanik özellikleri dış kuvvetlerin etkisiyle ortaya çıkan uzama, akma, kopma gibi deformasyonlarla tanımlanır. Bu malzemelerin en önemli özellikleri deformasyonların sıcaklık ve zamana bağımlı olarak ortaya çıkmasıdır. Deformasyon, elastik, viskoz ve viskoelastik deformasyon olarak üç başlık altında incelenir. Dış kuvvetlerin etkisiyle şekil ve boyutlarda değişim olan plastik malzeme tekrar eski haline dönüyorsa bu deformasyon elastik (tersinir) deformasyon olarak tanımlanır. Viskoz (tersinmez) deformasyonda moleküller dış kuvvetlerin etkisiyle birbirini üzerinde kayarak akış kazanır. Viskoelastik deformasyonda iki deformasyon birlikte gerçekleşir.

Polimer filmlerin mekanik özelliklerinin belirlenmesinde yaygın olarak gerilim direnci ve uzama miktarları ölçülür. Gerilim direnci, uygulanan dış kuvvete karşı malzemenin gösterdiği tepki, uzama ise dış kuvvetlerin etkisiyle malzemenin geometrik durumundaki değişim olarak ifade edilir. Şekil 2.7 de tipik bir gerilim-uzama eğrisi görülmektedir.



Şekil 2.7. Gerilim-uzama eğrisi

Şekil 2.7 deki gerilim-uzama eğrisi incelendiğinde polimerik malzemenin mekanik özellikleriyle ilgili birçok bilgi elde edilebilir. Eğrinin AB bölgesinde deformasyon elastiktir ve gerilim uzama ile artmıştır. Doğrusal olan bu bölgenin eğimi, malzemenin sertliğinin bir ifadesi olan elastik modülünü (E) verir. BC bölgesinde gerilim uzamayla artar, ancak bu artış uzamadaki artışa eş değer değildir. Bu bölgeden çizilen teğetin eğimi BC doğrusunun eğiminden daha azdır ve viskoelastik deformasyonun görüldüğü bu bölgede deformasyon az da olsa kalıcıdır. C noktası polimer için akma verimi olarak tanımlanır. Buradan okunan değerler malzemede kalıcı bir deformasyon olmaksızın uygulanabilecek maksimum yüklemeyi ve yine kalıcı bir deformasyon olmadan polimerin boyutlarındaki maksimum değişimi verir. Bu değer malzemenin elastikiyetini ifade eder. CD bölgesinde gerilim hemen hemen sabittir. Malzeme gerilim değişmeden önemli oranlarda uzar. Bu durum plastik akma olarak tanımlanır. Bu bölgede polimer zincirleri ayrılır, birbiri üzerinden kayar, akar ve dolayısıyla şiddetli bir viskoz deformasyon meydana gelir. Gerilim-uzama eğrisinin DE bölgesinde polimer zincirlerde aşırı yönlendirme nedeniyle sertleşme dolayısıyla gerilimde artış meydana gelir. E noktasında malzeme uygulanan gerilime daha fazla dayanamaz ve kopar. Bu noktanın iz düşümlerinden okunan değerler “kopma gerilimi” ve “kopma uzaması” olarak tanımlanır. Gerilim-uzama eğrisinin altında kalan alan kırılmazlığın bir ifadesidir. Bu alan ne kadar küçükse malzeme de o kadar kırılındır.

Polimerlerin gerilim-uzama eğrilerinden hesaplanan mekanik özellikler, polimerden polimere farklılık gösterir. Bu farklılıklara polimerlerin molekül ağırlığı, kohezyon, camsı geçiş, polarite, kristalinite, yönlendirme ve plastikleştiricinin etkisi neden olabilir [Pişkin, 1987].

2.5.3. Termal Özellikleri

Polimerik yapılarda moleküller arası düzenin iki türüne yaygın olarak rastlanır. Bunlar amorf ve yarı kristalin yapılardır. Polimer zincirlerinin yapı içinde gelişigüzel bir düzende bulunduğu amorf bir polimer sıcaklığına bağlı olarak *camsı*, *kauçuğumsu* veya *akıcı* hallerde bulunabilir. Düşük sıcaklıklarda camsı halde bulunan amorf yapıda serbest hacim oranı çok düşüktür ve polimer molekülünde ısı

Brownian hareketler tamamen kısıtlanmıştır. Böyle bir yapı ısıtıldığında entalpi ya da spesifik hacimde çok az bir artma gözlenir. Belli bir sıcaklıkta eğriler dönüm noktasına ulaşır ve eğrilerin eğimleri önemli oranda artar. İşte bu değişimin gözlemlendiği sıcaklık camsı geçiş sıcaklığıdır. Camsı geçiş sıcaklığı polimerin yapısına da bağlıdır. Polimer zincirinin esnekliği ve moleküller arası etkileşim enerjisi, camsı geçiş sıcaklığını önemli oranda değiştirir. Bir polimerin camsı geçiş sıcaklığı plastikleştiricilerin ilavesi ile de düşürülebilmektedir. Bunun yanı sıra polimerlerde erime sıcaklığında bir geçiş daha gözlemlenir. Bir polimerin erime sıcaklığı her zaman camsı geçiş sıcaklığından yüksektir [Pişkin, 1987].

2.6. ETİL ALKOL VE POLİETİLEN GLİKOL

Etil alkol normal şartlarda uçucu, şeffaf ve renksiz bir sıvıdır. Etil alkolün fiziksel ve kimyasal özellikleri esas olarak içerdiği hidroksil grubuna bağlıdır. Bu gruplar moleküle polarite kazandırır ve hidrojen bağı oluşturmasını sağlar. Etil alkol suda kolay ve her oranda çözünür. Kaynama noktası 78 °C'dir [Kirk ve Othmer, 1963-1972].

Ortalama molekül ağırlığı yaklaşık 200'ün üstünde olan etilen glikoller genellikle polietilen glikol (PEG) olarak sınıflandırılır ve yapısı $HO(CH_2CH_2O)_nH$ şeklindedir. Ortalama molekül ağırlığı 700 ve daha düşük olan PEG'ler oda sıcaklığında sıvı, 700 ile 900 arasında olanlar yarı katı, 900-1000 ve daha yüksek olanlar ise katıdır. Ticari uygulamalarda, ortalama molekül ağırlığı 700'e kadar olanlar sıvı olarak satılırken, 1000'den 1540'a kadar olanlar yığın katı, 4000 ve daha yüksek moleküler ağırlığı ise tanecik ya da pulcuklar şeklinde satılmaktadır [Kirk ve Othmer, 1963-1972]. PEG'in suda ve organik çözücülerde çözünürlük özellikleri yüksektir, hidrofildir ve biyobozunur değildir. Toksik olmaması, antijen meydana getirmemesi ve bağışıklık sağlamaması ilaç sanayisinde kullanımını arttırmaktadır [Parra vd., 2006].

2.7. ETİN VE ET ÜRÜNÜ OLAN SALAMIN ÖZELLİKLERİ VE ANTİMİKROBİYEL FİMLERİN GIDAYA UYGULANMASI

Et, gerek besin değeri gerekse özel tat ve kokusu ile insan beslenmesinde önemli bir gıda maddesidir. Besin maddesi olarak yüksek değerli amino asit içeriğiyle hayvansal protein gereksinimini karşılamaktadır. Etin kimyasal yapısı % 18,5 protein, % 75 su, % 3 yağ ve % 3,5 diğer maddelerden oluşmaktadır. Su etin bileşenleri arasında en yüksek oranlı ögedir. Ette bulunan su; etin kalitesini belirlemektedir. Ette bulunan su mikroorganizmaların faaliyetlerini sürdürmelerini, ette meydana gelen fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal olayların oluşmasını, ete katılan birçok katkı maddesinin iyice karışmasını ve etkinlik kazanmasını sağlamaktadır. Su aktivitesi (a_w) gıdadaki suyun buhar basıncının aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına oranı olarak tanımlanmaktadır. Taze etin a_w değeri 0,99'dur. Kurutma, ısıtma, soğutma ve dondurma gibi fiziksel işlemler ile tuzlama dumanlama gibi kimyasal işlemler ile etin a_w değeri değiştirilebilmektedir [Öztaş, 2003]. Gıdaların a_w değerinin düşürülmesi ile mikrobiyel ve enzimatik reaksiyonlar sınırlayıcı düzeye düşürülebilir. Amaç gıdalardaki su miktarını bozulmaya neden olan mikroorganizmalarla, patojen mikroorganizmaların gelişemeyecekleri ve enzimatik aktiviteyi sürdüremeyecekleri düzeye indirmektir [Ünlütürk ve Turantaş, 2003].

Taze ette oksidasyon redüksiyon potansiyeli dokudaki SH- gruplarının varlığına ve miktarına bağlıdır. Et içine oksijen girmesi ile oksidasyon redüksiyon potansiyeli yükselir ve bu yükselme ile ette bozulmalar oluşur. Oksidasyon redüksiyon potansiyeli özellikle etin iç kısımlarında, aerobik veya anaerobik mikroorganizmaların gelişmesi için belirleyici bir faktördür [Öztaş, 2003].

Et ve et ürünlerinin saklandığı ambalajdan istenilen genel özellikler; ambalaj materyalinin ürünün renk, koku, tat gibi fiziksel özelliklerini etkilememesi, ürünün kimyasal içeriğine yeni bir madde karıştırmaması, ürünün kimyasal içeriğinden bir maddeyi bağlamaması veya bu maddeler ile reaksiyona girip yeni bir bileşik meydana getirmemesidir [Öztaş, 2003].

Salam; büyük ve küçükbaş hayvan gövde etlerinin veya bunların karışımlarının kemik, yağ, tendo, sıfak, sinir ve kıkırdaklarından ayrılıp

parçalandıktan sonra, gerekli yardımcı maddelerin katılmasıyla hazırlanan et hamurunun, kılıflara doldurulması ve tiplerine uygun tarzda dumanlanıp, suda pişirilmesiyle yapılan et ürünüdür. Salamalarda pH en çok 6,4, protein en az % 16, nem en çok % 65, tuz oranı en çok % 3 ve nişasta oranı en çok % 5 olmalıdır [Öztaş, 2003].

Taze etlerde bozulma yüzeyde veya etin iç kısımlarında mikroorganizmaların gelişerek yüksek sayılara ulaşması sonucu meydana gelir. Parça etlerde bozulma genellikle yüzeyde görülür. *Staphylococcus* doğal olarak insan ve hayvan deri ve burun florasında bulunmakla beraber doğada da yaygın olarak bulunan ve etlerin mikrobiyal florasında sıklıkla rastlanan bir bakteridir [Ünlütürk ve Turantaş, 2003].

Zivanovic ve ark. (2005), tarafından yapılan çalışmada anason, fesleğen, kişniş, kekik gibi esansiyel yağların ve bu esansiyel yağlardan kekik ile zenginleştirilmiş kitosan filmlerin *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktiviteleri belirlenmiştir. Esansiyel yağların tek başlarına ve film içerisinde aynı antimikrobiyel aktiviteyi gösterdikleri gözlenmiştir. Bu iki mikroorganizma türüne karşı kişniş, fesleğen ve anasondan daha güçlü antimikrobiyel etkiye sahip olan kekik esansiyel yağı kitosan filmlere ilave edilip salam dilimleri arasına uygulanmıştır. *L. Monocytogenes*'in, *E. Coli*'ye göre kekik esansiyel yağına karşı daha duyarlı olduğu gözlenmiştir. 10°C'de 5 gün depolanan ürünlerde kitosan filmlerin mikroorganizma sayısını 1-3 log devre azaltırken, % 1-2 (h/a) oranında kekik esansiyel yağı ile zenginleştirilmiş kitosan filmlerin mikroorganizma sayısını 4 log devre azalttığı görülmüştür.

Junk-Uk ve ark. (2001), % 0,5 ve % 1 (a/h) oranında üzüm çekirdeği özütü ile ekstrüde edilen ve kaplanan polietilen (PE) filmlerle, ambalajlanmış parça etlerin 3°C'de depolanması süresince mikrobiyal gelişimini incelemiştir. Üzüm çekirdeği özütü ile ekstrüde edilen PE film ile ambalajlanmış etlerde *Myotis flavus* (ATCC 10240) üzerine etkili olurken % 1 üzüm çekirdeği özütü içeren solüsyonla kaplanmış PE filmler ise parça etlerde *E. coli* (IFO3301), *S. aureus* (IFO1060), *B. subtilis* (IFO12113) üzerine etkili olmuştur. Üzüm çekirdeği özütü içeren solüsyonla kaplanmış PE filmler, üzüm çekirdeği özütü ile ekstrüde edilmiş PE filmlerden parça etlerdeki toplam canlı ve koliform grubu üzerine daha etkili olmuştur.

Çağrı ve ark. (2002), % 0,1-1 (a/h) oranlarında p-aminobenzoik asit ve/veya sorbik asit içeren peynir altı suyu protein filmleri daha önceden *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *S. tyhimurium* ile inoküle edilmiş dilimlenmiş salam ve sosislere uygulamış ve antimikrobiyel aktiviteyi belirlemişlerdir. Dilimlenmiş salam ve sosislerin 4°C de 21 günlük depolanmasında *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, ve *S. tyhimurium* sayısında sırasıyla 3,4, 4,1 ve 3,6 logaritmik devre azalma görülmüştür.

Quattara ve ark. (2000), tarafından yapılan bir çalışmada propiyonik asit ve asetik asit gibi antimikrobiyel maddeler kullanarak kitosan esaslı antimikrobiyel filmler üretilmiş ve filmlerden gıdaya antimikrobiyel madde geçişini kontrol etmek amacıyla laurik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan filmler salam, pastırma ve jambon gibi işlenmiş et ürünlerine uygulanmıştır. Depolama boyunca laurik asit ilave edilen asetik asitli filmlerde asetik asitin daha yavaş difüzlendiği gözlenmiştir. Hazırlanan antimikrobiyel filmler, laktik asit bakterileri, *Enterobacteriaceae*, *L. sakei* ve *S. liquefacience* gibi mikroorganizmalar ürün yüzeyine aşılandıktan sonra et ürünleri yüzeyine uygulanmıştır. Çalışma sonucunda laktik asit bakterileri ve *Enterobacteriaceae*' nin antimikrobiyel maddelerden etkilenmediği *L. sakei* ve *S. liquefacience* gelişiminin ise geciktirildiği ya da tamamen engellendiği gözlenmiştir.

Emiroğlu ve ark. (2010), mercanköşkü veya kekik esansiyel yağları (% 1-5, a/a) içeren antimikrobiyal soya proteini esaslı yenilebilir filmler üretmişler ve filmlerin *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *S.aureus*, *L. plantarum* ve *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etkisini belirlemişlerdir. Ayrıca % 5 (a/a) oranında mercan köşkü ve kekik esansiyel yağı veya % 5 (a/a) oranında mercanköşkü ve kekik esansiyel yağı içeren filmlerin et köfteleri üzerindeki antimikrobiyal etkisini incelenmişlerdir. *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus* antimikrobiyal soya proteini esaslı filmler tarafından belirgin şekilde inhibe edilirken, *L. plantarum* and *P. aeruginosa* nın antimikrobiyal madde içeren filmlere karşı çok daha fazla dirençli olduğu görülmüştür. Kekik (% 5, a/a), mercanköşkü (% 5, a/a) esansiyel yağı veya mercanköşkü+kekik (% 5, a/a) esansiyel yağı karışımı içeren soya yağı proteini esaslı filmler et köftelerinde uygulandığında *Pseudomonas* spp. ve koliform sayısında azalma görülürken, laktik asit bakterilerinde ve *Staphylococcus* spp'de belirgin bir antimikrobiyal etki göstermemiştir.

Ayana ve Turhan (2009) tarafından kaşar peynirindeki *S. aureus* gelişimini engellemek için % 1,5 (a/h) oranında zeytin yaprağı özütü içeren metil selüloz esaslı filmler, dilimlenmiş kaşar peyniri örneklerine uygulanmıştır. Örnekler $4\pm 0,3$ °C'de 14 gün süreyle depolanmıştır. Zeytin yaprağı özütünün antimikrobiyel etkisi sonucunda, *S. aureus* ile inoküle edilmiş ve % 1,5 (a/h) zeytin yaprağı özütü içeren metil selüloz esaslı film ile kaplanmış kaşar peyniri dilimlerinde *S. aureus* sayısı % 24,5 oranında azalmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. PROPOLİS ÖZÜTÜNÜN HAZIRLANMASI

Antimikrobiyel biyobozunur PHB ve MS filmlerinin hazırlanmasında antimikrobiyel madde olarak Anavarza Bal (Adana, Kozan)'dan temin edilmiş olan propolis kullanılmıştır. Propolisin özütlenmesinde etanol (Merck, Germany), döner buharlaştırıcı (Buchi, Rotavapor R-3, Switzerland), manyetik karıştırıcı (Velp, AM4, Multiple heating) ve inkibatör (Velp, Foc 225I) kullanılmıştır.

Propolis (% 10, a/h), 7 gün boyunca 20°C'de % 96 (h/h) etanol içerisinde çözülmüştür. Propolis özütündeki çözünmeyen partiküllerin uzaklaştırılması için çözelti filtre kağıdından (Whatman No 1) geçirilmiş ve çözücü 40°C'de döner buharlaştırıcı yardımı ile uzaklaştırılmıştır. Desikatör içerisine yerleştirilmiş olan özüt sabit tartıma gelene kadar 20°C'de inkibatörde bekletilmiştir. Kuruyan özüt toz halinde ışık görmeyecek şekilde 4°C'de depolanmıştır.

3.2. POLİHİDROKSİBÜTİRAT FİMLERİNİN HAZIRLANMSI

Filmlerin hazırlanmasında polimer olarak polihidroksibütirat (PHB), plastikleştirici olarak gliserol (Carlo Erba, Milano, Italy), PEG 300 (Sigma-Aldrich, Germany), çözücü olarak kloroform (Sigma-Aldrich, Germany), etanol (Merck, Germany), antimikrobiyel madde olarak propolis özütü kullanılmıştır.

Film çözeltisinin hazırlanmasında iki farklı plastikleştirici kullanılmıştır. Plastikleştirici olarak gliserol içeren film çözeltisinin hazırlanmasında; % 10 (a/h) PHB, sıcak kloroform (50±5°C) içerisinde 5 saat çözdürülmüştür. Çözelti soğuduktan sonra içerisine % 1,2 (h/h) gliserol ilave edilmiş ve çözelti yarım saat daha karıştırılmıştır. Daha sonra çözeltiye % 2-10 (h/h) oranlarında etanol ilave edilmiş ve yarım saat daha çözelti karıştırılmıştır. Hazırlanan film çözeltisi 20x20 cm²'lik cam levhalara film çekme düzeneği yardımıyla dökülmüş ve filmler oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılmıştır.

Plastikleştirici olarak PEG 300 içeren film çözeltisinin hazırlanmasında % 10 (a/h) PHB, sıcak kloroform (50±4°C) içerisinde 5 saat çözdürülmüştür. Çözelti

içerisine PHB miktarının % 5, 10, 15, 20, 30 ve 40 (a/a) oranında PEG 300 ilave edilmiş ve 1 saat daha karıştırılmıştır. Çözelti soğuduktan sonra film çözeltisi 20x20 cm²'lik cam levhalara film çekme düzeneği yardımıyla dökülmüş ve filmler oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılmıştır.

Antimikrobiyel aktiviteye sahip propolis özütü içeren polihidroksibütirat filmler hazırlanırken % 10 (a/h) PHB, sıcak kloroform (50±5°C) içerisinde 5 saat çözülmüştür. PHB miktarının % 20'si (a/a) oranında PEG 300 ilave edilmiş ve 1 saat daha sıcak kloroformda (50±5°C) karıştırılmıştır. Etanol içerisinde % 15 (a/h) oranında propolis içeren çözeltiden % 8 (h/h) alınarak soğumuş çözelti içerisine eklenmiş ve 1 saat daha oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Hazırlanan film çözeltisi 20x20 cm²'lik cam levhalara film çekme düzeneği yardımıyla dökülmüş ve filmler oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılmıştır.

3.3. METİL SELÜLOZ FİMLERİN HAZIRLANMASI

Filmlerin hazırlanmasında polimer olarak metil selüloz (MS), antimikrobiyel madde olarak propolis özütü ve çözücü olarak etanol ve saf su kullanılmıştır.

Metil selüloz içeren filmlerin hazırlanmasında Turhan (1999) tarafından kullanılan yöntem temel alınmıştır. Metil selüloz (3 g) 50 ml etanol (60±2°C) içerisinde çözdürüldükten sonra çözelti içerisine % 3,75, 4,5 ve 6,00 (a/h) oranlarında propolis etanolik özütü çözelti içerisine ilave edilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığındaki saf su ile hacim 100 ml'ye tamamlandıktan sonra plastikleştirici olarak % 0,66 (a/h) oranında PEG 400 eklenmiştir. Hazırlanan film çözeltisi 20x20 cm²'lik cam levhalara film çekme düzeneği yardımıyla dökülmüş ve filmler oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılmıştır.

3.4. FİMLERİN FİZİKSEL, YAPISAL ve ANTİMİKROBİYEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

3.4.1. Su Buharı Geçirgenliğinin Belirlenmesi

Filmlerin su buharı geçirgenliği (SBG) ASTM E96-80 yöntemi kullanılarak 25°C’de gravimetrik olarak tespit edilmiştir. SBG ölçülmesinde korozif olmayan standartlarda belirtilen özelliklerde Delrin kaplar kullanılmıştır. Deney kaplarına susuz CaCl₂ konulmuştur ve filmler 27,25 cm²’lik yüzey alanına sahip kaplara yerleştirilmiştir. Hazırlanan deney kapları doygun magnezyum nitrat çözeltisi (25°C, % 53±2 bağıl nem, BN) içeren desikatöre konulmuştur (Şekil 3.1). Desikatör 25°C’ye ayarlanmış inkübatöre yerleştirilmiştir ve deney kaplarının ağırlığındaki değişim zamana karşı ölçülmüştür. Tartımlar ±0,0001 g duyarlılığa sahip terazi (Sartorius, BP221 S, Germany) kullanılarak yapılmıştır.



Şekil 3.1. SBG analizi için hazırlanan deney sistemi

Ağırlık-zaman ilişkisi incelendiğinde bu ilişkinin doğrusal olduğu gözlenmiştir. Ağırlık-zaman doğrularının eğimleri bulunup Eşitlik (3.1) kullanılarak geçirgenlik hesaplanmıştır.

$$\text{Eğim} = \frac{P \times A \times \Delta P}{x} \quad (3.1)$$

- P : Geçirgenlik (g mm/m² sa kPa)
A : Yüzey alanı (m²)
ΔP : Gazların kısmi basınç farkı (kPa)
x : Film kalınlığı (mm)

3.4.2. Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi

Filmlerin mekanik özelliklerinin belirlenmesinde ASTM D638 yöntemi esas alınmıştır. Filmler standartta belirtilen şekilde hazırlanmış kalıp yardımıyla 40x6 mm boyutlarında (Şekil 3.2) kesilen örnekler 25°C ve % 53,2 BN'de 48 saat bekletilmiştir.



Şekil 3.2. Mekanik ölçüm için hazırlanan örnekler

Örneklerin gerilim ve uzamaları TA-XT2 model mekanik test cihazı (Stable Micro Systems, Surrey, England) kullanılarak belirlenmiştir. Cihazın iki çenesi arasına yerleştirilen örnekler 0,80 mm/s çekme hızı ile test edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Tekstür cihazı ve cihazın iki çenesi arasına yerleştirilen film

Kopma anında örneğe uygulanan maksimum kuvvet ve kopma anındaki uzama miktarı mekanik test cihazına bağlı bilgisayar programı (Texture Expert Exceed 2.3, Stable Micro Systems, Surrey, England) yardımı ile hesaplanmıştır. Kopma anında örneğe uygulanan kuvvetin örneğin başlangıçtaki kesit alanına bölünmesiyle gerilim (N/mm^2), örneğin boyundaki değişimin başlangıçtaki boyuna oranlanmasıyla da uzama yüzdesi hesaplanmıştır.

3.4.3. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi

Değişik formulasyonlarda hazırlanan MS filmlerin yapısal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) ile çalışılmıştır. Filmlerin spektrumları doğrudan ve oda sıcaklığında alınmıştır.

3.4.4. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Propolis içeren filmlerin antimikrobiyel aktivitesi, NCCLS M2-A8 Agar difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Filmlerin aktivitesi *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) türü mikroorganizmalar üzerine bakılmıştır. *S. aureus* stok kültüründen triptik soy broth (Fluka, India) besiyerine, *B. subtilis* stok kültüründen nutrient broth (Himedia, India) besiyerine aşılama yapılmıştır. Duyarlılık testi için aşılama yoğunluğu McFarland 0,5 standart değerine ulaşıncaya kadar 35°C'de 5 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kültür yoğunluğunun McFarland 0,5 standart değerine ulaşması için mikroorganizma türüne göre kullanılan besiyeri ile kültürün absorbansı spektrofotometrede 625 nm'de 0,08-0,1'e ayarlanmıştır. Yoğunluğu ayarlanmış kültürlerden 0,1 ml alınarak steril eküvyon yardımı ile petrillerdeki steril Mueller Hinton Agar (MHA, Fluka, India) besiyerine ekim yapılmıştır.

Antimikrobiyel etkinlik testi için hazırlanmış filmler ultraviyole UV kabinde 1 saat steril edildikten sonra 0,6 cm çaplı steril delgeç yardımı ile disk şeklinde kesilmiş ve bu filmler yüzey ekimi yapılmış MHA yüzeyine yerleştirilmiştir. Petrilere 35°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda

disklerin etrafında oluşan berrak zon ve disk çapı cetvel ile ölçülerek inhibisyon miktarı belirlenmiştir.

3.5. ANTİMİKROBİYEL METİL SELÜLOZ FİMLERİN SALAMA UYGULANMASI

McFarland yöntemi ile yoğunluğu ayarlanmış *S. aureus*, salam dilimlerinin (% 100 dana eti) yüzeyinde 0,1 ml'de 10^7 k.o.b./ml olacak şekilde aşılınmış ve drigalski özesi ile yayma işlemi yapıp 10 dakika yüzeyin kuruması beklenmiştir. Propolis özütü içeren MS filmler (% 4,5 (a/h)) UV kabinde steril edilmiştir. Aşılama yapılmış ve yapılmamış salamın yüzeyine steril edilmiş olan film yerleştirilmiştir. Aynı aşılama işlemi salamın diğer yüzeyine de uygulanmış ve film ile salam yüzeyi kapatılmıştır. Hazırlanan örnekler dış ambalaj olarak kullanılan polietilen film ile ambalajlanmıştır. Hazırlanan örnekler $4,0\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de 15 gün depolanmış ve bu süre içerisinde 0, 3, 7, 11, 14. günlerde mikrobiyolojik analizler yapılarak propolis özütü içeren MS filmlerin *S. aureus* üzerine etkisi belirlenmiştir. Hazırlanmış olan salam dilimleri Çizelge 3.1 deki gibi kodlanmıştır.

Çizelge 3.1. Örneklerin kodlanması

A	Propolis içeren MS filmlerle kaplanan mikroorganizma aşılınmamış salam dilimleri
B	MS filmlerle kaplanan mikroorganizma aşılınmamış salam dilimleri
C	MS filmlerle kaplanan mikroorganizma aşılınmış salam dilimleri
D	Propolis içeren MS filmlerle kaplanan mikroorganizma aşılınmış salam dilimleri

3.5.1. Salam Dilimi Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizi

Örneklerin mikrobiyolojik analizlerinin belirlenmesi amacı ile 0, 3, 7, 11 ve 14. günlerde ambalajlanmış salam dilimleri aseptik koşullarda alınıp % 0,1'lik peptonlu su içerisinde stomaker (Bagmixer, Interscience) yardımıyla 2 dakika çalkalanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlarda analizler yapılmıştır. İnkübasyon sonucunda 30-300 adet koloni içeren petrielerde sayım yapılmıştır.

Verilen sonuçlar salam dilimlerinin yüzey alanı dikkate alınarak logaritmik skalada k.o.b./g olarak hesaplanmıştır.

3.5.1.1. *Staphylococcus aureus* sayısının belirlenmesi

Hazırlanan dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak petri kutuları içerisindeki steril besiyeri üzerine kültür aşılanmıştır. Aşılanan kültür drigalski özesinin yardımı ile agar üzerine iyice yayılmıştır. Petri kutuları 35°C de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda koloniler sayılmış ve *S. aureus* sayısı log k.o.b./g olarak hesaplanmıştır.

3.5.1.2. Toplam aerobik canlı sayısının belirlenmesi

Hazırlanan dilüsyonlardan 0,1 ml örnek alınarak içerisinde steril Plate Count Agar bulunan besiyeri üzerine drigalski özesi ile yayılmış ve 35°C de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda koloniler sayılmış ve toplam aerobik canlı sayısı log k.o.b./g olarak hesaplanmıştır.

3.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Araştırma sonuçları varyans analizi ile incelemiş ve ortalamalar farkının önemli ($p < 0,05$) olup olmadığı Duncan ve LSD testi ile belirlenmiştir. Bu amaçla SPSS (Versiyon 11,5 SPSS Inc., Chicago, IL) paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan çalışmada iki çeşit film üretilmiştir. İlk kısımda antimikrobiyel madde olarak propolis özütü içeren PHB filmler, ikinci kısımda ise propolis özütü içeren MS filmler üretilmiştir. Hazırlanan filmlerin su buharı geçirgenlikleri, mekanik ve yapısal özellikleri ile antimikrobiyel etkinlikleri incelenmiştir. Üretilen MS filmler arasından seçilen % 4,5 (a/h) propolis içeren filmler salam dilimlerine uygulanmış ve depolama süresince filmlerin antimikrobiyel etkinliği test edilmiştir.

4.1. FİMLERİNİN GÖRSEL ÖZELLİKLERİ

4.1.1. PHB Filmler

PHB filmlerin üretilmesinde plastikleştirici olarak gliserol ve PEG 300 kullanılmıştır. İçerisinde plastikleştirici bulunmayan PHB filmlerin genel özelliği saydam ve renksiz olmasıdır. PHB filmlerde çözücü olarak kullanılan etil alkol içeriği arttıkça filmlerin genel görünüşünde, saydamlığın azaldığı ve rengin giderek beyazlaştığı gözlenmiştir. PHB filmlerde PEG 300 konsantrasyonu arttıkça filmlerin saydamlığında azalma olduğu ve puslu bir görüntünün olduğu görülmüştür. Propolis özütü eklenen PHB filmler ise yarı saydam ve sarı-kahverengi renktedir.

4.1.2. MS Filmler

Plastikleştirici içeren MS filmler şeffaf ve puslu görünümündedir. Yapıda propolis konsantrasyonu arttıkça filmler sarı-kahverengi bir renk almakta ve artan özüt konsantrasyonu ile renk koyuluğu artmaktadır. Propolis özütü içermeyen filmlerde herhangi bir koku oluşmamaktadır. Fakat propolis içeren filmlerde konsantrasyon arttıkça propolis kokusu daha belirgin hissedilmiştir.

4.2. SU BUHARI GEÇİRGENLİĞİ, YAPISAL ve MEKANİK ÖZELLİKLER

Filmlerin SBG değerleri Bölüm 3.4.1 de belirtilen şekilde hesaplanmıştır. Filmlerin geçirgenlikleri 25°C de % 53±2 bağıl nemde gravimetrik olarak belirlenmiştir. Kalsiyum klorür (% 0 BN) içeren deney kaplarının ağzı hazırlanan filmlerle kapatılmıştır. Kaplardaki artış zamana karşı grafiğe geçirilmiş ve doğruların eğiminden geçiş hızı hesaplanmıştır. Eğim değeri eşitlik 3.1. de yerine konularak filmlerin SBG değerleri bulunmuştur. Yapılan deneyler en az iki kez tekrarlanmış ve ortalama değerleri standart sapmaları ile beraber verilmiştir. Filmlerin mekanik özellikleri Bölüm 3.4.2 de belirtilen şekilde hesaplanmıştır. Örnekler standartta belirtildiği şekilde kalıp yardımı ile kesildikten sonra 48 saat boyunca 25°C ve % 53±2 bağıl nemde bekletilmiştir. Her bir formülasyon iki tekrar altı paralel olacak şekilde yapılmıştır ve elde edilen değerlerin ortalamaları standart sapmaları ile birlikte verilmiştir.

4.2.1. PHB Filmler

Yapılan çalışmada filmlerin oluşturulmasında % 10 (a/h) PHB içeren film formülasyonu kullanılmıştır. Yapılan ön çalışmalarda plastikleştirici kullanılmayan filmler, hazırlama işlemi sırasında cam yüzeyinden ayrılamamıştır. Plastikleştirici olarak yapıya eklenen gliserol, yapının esnekliğini artırarak filmlerin yüzeyden ayrılmasını sağlamıştır. Yapılan eklenen gliserol miktarı % 0,8 (h/h) değerine kadar yapı üzerinde istenen etki sağlanamamıştır (Çizelge 4.1). Gliserol miktarı arttıkça SBG değeri istatistiksel olarak değişirken, mekanik özelliklerde belirgin bir değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$). Çalışmanın ilerleyen aşamalarında yapıya % 1,2 (h/h) gliserol eklenmesine karar verilmiştir.

Çizelge 4.1. Gliserol miktarının su buharı geçirgenliğine, gerilme direncine ve uzamaya etkisi

% Gliserol (h/h)	SBG (g.mm/(h*m²*kPa)	Gerilim Direnci (N/mm²)	Uzama (%)
0,8	0,0184±0,0005 ^c	10,26±0,59 ^a	1,22±0,16 ^a
1,2	0,1846±0,0037 ^b	10,26±2,26 ^a	1,52±0,46 ^a
1,6	0,2494±0,0100 ^a	10,38±1,15 ^a	1,52±0,21 ^a

Aynı sütundaki farklı harfler, aynı sütundaki değerler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel olarak farklılık olduğunu ifade etmektedir.

Çalışmanın ana hedefi film çözeltisine propolis ekleyerek antimikrobiyel özellik kazandırmaktır. Bu amaçla eklenen propolis, etanol içinde çözündüğü için yapıya ne kadar çözücü ekleneceğinin belirlenmesine gerek duyulmuştur. Her ne kadar etanol çözücü olarak kullanılsa da literatürde yapılan çalışmalar etanolün plastikleştirici gibi davrandığını göstermiştir [Turhan vd., 2009]. Etanol miktarı filmlere % 0-16 (h/h) olacak şekilde eklenmiştir. Etanol içeriği % 0-14 (h/h) olan filmler cam plaka yüzeyinden kolaylıkla kaldırılabilirken, % 16 (h/h) etanol içeren film yüzeyden kaldırılırken yırtılmıştır.

Çizelge 4.2 de değişen etanol miktarının su buharı geçirgenliğine, gerilim direncine ve uzama üzerine olan etkisi verilmiştir. Film çözeltisine eklenen etanol miktarındaki artışın, filmlerin SBG ve mekanik özelliklerine etki gösterdiği ve bu etkilerin de istatistiksel açıdan önemli olduğu (p<0,05) görülmektedir (Çizelge 4.2). PHB filmlerde etanol miktarı arttıkça SBG artarken gerilim direnci azalmıştır.

Çizelge 4.2. Etanol miktarının su buharı geçirgenliğine, gerilme direncine ve uzamaya etkisi

% Etanol (h/h)	SBG (g.mm/(h*m²*kPa)	Gerilim Direnci (N/mm²)	Uzama (%)
0	0,0449±0,0047 ^c	22,43±3,52 ^a	2,13±0,12 ^a
2	0,0637±0,0403 ^c	19,31±2,95 ^b	2,40±0,23 ^a
4	0,0725±0,0397 ^c	16,10±3,09 ^c	1,90±0,69 ^a
6	0,1358±0,0068 ^b	14,28±1,69 ^c	1,70±0,19 ^b
8	0,0835±0,0129 ^c	13,63±0,87 ^c	1,81±0,19 ^b
10	0,1346±0,0091 ^b	13,36±0,86 ^c	1,70±0,26 ^b
12	0,2033±0,0476 ^a	8,58±1,53 ^d	1,67±0,15 ^b
14	0,1792±0,0094 ^{a,b}	8,68±0,87 ^d	2,20±0,43 ^a

Aynı sütundaki farklı harfler, aynı sütundaki değerler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel olarak farklılık olduğunu ifade etmektedir.

Filmlere PEG 300, PHB miktarının % 5, 10, 15, 20, 30 ve 40'ı (a/a) olacak şekilde eklenmiştir. Çizelge 4.3 de PEG 300 miktarının su buharı geçirgenliğine, gerilim direncine ve uzama üzerine etkisi verilmiştir. Film çözeltilerine değişen konsantrasyonlarda eklenen PEG 300 miktarının, filmin mekanik özelliklerine etki gösterdiği ve bu etkinin istatistiksel olarak önemli olduğu (p<0,05) görülmektedir. Film çözeltisine plastikleştirici olarak eklenen PEG 300 miktarı % 15 (a/a) değerine kadar SBG değerinde istatistiksel olarak değişim görülmezken bu değerden sonra artış gözlenmiştir. Artan PEG miktarı filmlerin gerilim direncini azaltırken, uzama değerinde artışa neden olmuştur.

Çizelge 4.3. PEG 300 miktarının su buharı geçirgenliğine, gerilme direncine ve uzamaya etkisi

PHB:PEG 300 (%, a/a)	SBG (g.mm/(h*m²*kPa)	Gerilim Direnci (N/mm²)	Uzama (%)
0	0,0239±0,0123 ^c	31,64±2,69 ^a	1,60±0,15 ^a
5	0,0627±0,0044 ^b	23,37±1,55 ^b	1,67±0,20 ^a
10	0,0174±0,0014 ^c	23,41±1,32 ^b	2,20±0,20 ^c
15	0,0257±0,0022 ^c	22,01±1,11 ^b	2,94±0,51 ^b
20	0,0646±0,0327 ^b	18,46±1,63 ^c	3,84±0,56 ^a
30	0,0701±0,0035 ^b	13,64±0,27 ^d	3,90±0,66 ^a
40	0,0984±0,0286 ^a	12,45±2,92 ^d	3,28±0,55 ^b

Aynı sütundaki farklı harfler, aynı sütundaki değerler arasında p<0,05 düzeyinde istatistiksel olarak farklılık olduğunu ifade etmektedir.

Kopma gerilimi ve uzama, filmlerin yapısı ve mekanik özellikleri arasındaki ilişkiyi, gerilim direnci ise malzemenin kopmadan taşıyabileceği yük miktarını ifade eder. Polimer zincirleri arasındaki çekim kuvvetleri ne kadar fazlaysa malzeme o kadar sert ve dayanıklıdır. Yapılan çalışmalar plastikleştiricilerin, PHB zincirleri arasındaki moleküller arası ikincil bağların kuvvetini azalttığını ya da zincirler arası etkileşimi inhibe ettiğini, böylece polimer zincirlerine daha fazla hareket serbestliği sağladığını göstermiştir [Parra vd., 2006]. Yapılan bu çalışmada plastikleştirici ve etanol içeren PHB filmler, saf PHB filmlerle karşılaştırıldığında plastikleştirici miktarının artması ile plastikleştiricinin yapıya hareket serbestliği kazandırması nedeniyle gerilme direncinde azalma, uzama değerlerinde ise genellikle artış olduğu belirlenmiştir.

Hazırlanan PHB filmlerin yapısına plastikleştirici eklenmesi, filmin geçirgenlik özelliklerini olumsuz etkilemiştir. Filmin su buharı geçiş değerindeki artışın eklenen maddenin camsı geçiş sıcaklığını düşürmesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Camsı geçiş sıcaklığı, amorf yapıdaki polimerin yapısının viskoz camsı formdan daha sıvı-lastiksi forma geçiş için gerekli olan sıcaklıktır. Bir durumdan diğerine geçişin ortamda bulunan su miktarı ve eklenen plastikleştirici maddelerle ilgili olduğu ifade edilmiştir [Çağrı-Mehmetoğlu, 2010]. Plastikleştirici ilavesi ile polimerin camsı geçiş sıcaklığındaki düşüşe bağlı olarak ağ yapının gevşemesinden dolayı PEG 300 ve etanol içeren filmlerin geçirgenliklerinde artma meydana gelmiştir.

Çalışmada elde edilen sonuçlar literatürdeki çalışmalarla uyumludur. Parra ve ark. (2006), PHB filmlere içerisine % 0-40 (a/a) oranında eklenen PEG 300'ün gerilim direnci, uzama ve su buharı geçirgenliği üzerine etkisini incelemişlerdir. Plastikleştirici içermeyen filmlerde gerilim direncinin maksimum, uzamanın minimum olduğu, plastikleştirici miktarı arttıkça gerilim direncinin azaldığını, uzamanın arttığını belirlemişlerdir. Su buharı geçirgenliğine olan etki incelendiğinde PEG 300 içeriği arttıkça geçirgenlik özelliğinin arttığını göstermişlerdir.

Savenkova ve ark. (2002), PHB esaslı filmlere farklı plastikleştiricileri (PEG 300, laprol, dibütil sebatat, poliizobütülen, dioktil sebakat) % 0-50 (a/a) aralığında ekleyerek filmlerin uzama değerlerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmanın sonucunda % 33 (a/a) oranında plastikleştirici içeren filmlerde maksimum etkinin sırasıyla laprol, dibütil sebatat, poliizobütülen, dioktil sebakat ve polietilen glikol içeren filmlerde görüldüğünü, daha sonraki oranlarda ise uzama değerinin azaldığını ifade etmişlerdir.

4.2.2. PHB Filmlerinin Antimikrobiyal Özellikleri

Propolis özütü içeren antimikrobiyel PHB filmlerin hazırlanmasında % 10 (a/h) PHB ve PHB miktarının % 15'i (a/a) olacak şekilde PEG 300 kullanılmıştır. Çözücü bileşim içeriği olarak % 8 (h/h) etanol - % 92 (h/h) kloroform kullanılmıştır. Film formülasyonuna, 8 ml etanol içerisinde çözdürülen 1,2 g propolis eklenmiştir. Son olarak da yapıya plastikleştirici olarak PEG 300 ilave edilmiştir.

Antimikrobiyel etkinlik için hazırlanan filmlerden 0,6 cm çapında diskler kesilmiştir. Diskler UV ışık altında 10 dk steril edildikten sonra yüzeyine *S. aureus* ve *B. subtilis* aşılınmış agar üzerine yerleştirilmiş ve 35°C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Propolis etanolik özütünün antimikrobiyel etkisi olmasına rağmen propolis özütü içeren PHB filmlerde inkübasyon sonunda zon oluşumu görülmemiştir (Çizelge 4.4). Film formülasyonunda propolis konsantrasyonu arttırıldığında film çözeltisinde çözünmeyen propolis kalmış ve bu yüzden cam plaka yüzeyinden kaldırılırken filmlerde yırtılmalar oluşmuştur. Filmlerde homojen bir görüntü oluşmamıştır. Çözücü olarak kullanılan etanol içeriği arttıkça filmlerin mekanik

özelliklerinin zayıflaması nedeniyle film formülasyonundaki etanol içeriğinin artırılması yoluna gidilmemiştir.

Çizelge 4.4. Propolisin etanolik özütünün antimikrobiyel etkisi

Propolis konsantrasyonu (a/h)	Zon Çapları (cm) <i>B. subtilis</i>	Zon Çapları (cm) <i>S. aureus</i>
% 1	1,00	1,00
% 3	1,15	1,30
% 5	1,40	1,35
% 7	1,35	1,50
% 10	1,95	1,70

Antimikrobiyel etki göstermesine rağmen polimerik film formülasyonuna eklenen propolis özütünün bu etkiyi göstermemesi, özütün polimerik yapı içerisinde difüzenemediğini düşündürmüştür. Polimerden propolis özütünün agara difüze olmasının nedenleri arasında; polimer ağ yapısının sıkı olması, PHB'nin hidrofobik özellikte olması sayılabilir. Ayrıca eklenen plastikleştiriciler ile yapının yeterince gevşetilememesinden dolayı agarın yapısında bulunan suyun ağ yapı içerisine giremeyip propolis özütünün polimerden agara difüze olmasına yardımcı olamadığı da düşünülmüştür.

Propolis yapıdan salınamayıp antimikrobiyel etkinlik gösteremediğinden yapılan bu çalışmanın sonraki kısmında propolis özütünün antimikrobiyel etki gösterebileceği farklı yapılar incelenmiş ve metil selüloz filmlerle çalışılmasına karar verilmiştir.

4.2.3. Metil Selüloz Filmler

Turhan (1999) tarafından yapılan çalışmada metil selüloz (% 3, a/h) etanol-su çözücü sisteminde çözüldürüldükten sonra yapıya plastikleştirici olarak PEG 400 eklenmiştir. MS miktarı sabit tutulup etanol-su içeriği değiştirilerek filmlerin mekanik özellikleri incelenmiştir. MS filmlerinin mekanik özellikleri incelendiğinde çözücü bileşimi % 50 etanol - % 50 su olan filmlerin gerilim kuvvetinin daha iyi olduğu, uzama değerinin ise etanol içeriğinin artmasıyla düştüğü belirlenmiştir.

Propolis özütünün hazırlanmasında çözücü olarak etanol kullanıldığından ve Turhan (1999) tarafından yapılan çalışmada çözücü bileşimi % 50 su - % 50 etanol olan filmlerin mekanik özelliklerinin daha iyi olmasından dolayı antimikrobiyel filmlerin hazırlanmasında su-etanol (1:1), 0,22 (g/g MS) PEG 400 ve % 3 (a/h) MS içeren film formülasyonu seçilmiştir.

Filmlerin SBG analizleri Bölüm 3.4.1 de, mekanik özellikleri Bölüm 3.4.2 de belirtilen şekilde hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.5 de verilmiştir.

Yapıya eklenen propolis özütü, SBG ve uzama değerlerini düşürürken, gerilim direncinde artışa neden olmuştur (Çizelge 4.5). Propolis özütü arttıkça MS filmlerin su buharı geçirgenlik değerleri arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Değişen propolis konsantrasyonlarının uzamaya olan etkisine bakıldığında ise % 3,5 ve % 4,5 (a/h) propolis özütü içeren filmlerin, saf MS filmlerle benzer etki gösterdiği ($p>0,05$), propolis özüt konsantrasyonunu % 6,00 (a/h) olan filmlerin ise diğer iki değerden farklı etki gösterdiği ve bu etkinin de istatistiksel açıdan önemli olduğu ($p<0,05$) görülmüştür.

Çizelge 4.5. Propolis özüt miktarının MS filmlerin özelliklerine etkisi

Propolis Özütü (%, a/h)	SBG (g.mm/(h*m ² *kPa)	Gerilim Direnci (N/mm ²)	Uzama (%)
0,00	0,1179±0,0084 ^a	19,36±1,71 ^b	18,93±2,26 ^a
3,75	0,0432±0,0087 ^b	22,11±1,07 ^a	13,00±2,96 ^b
4,50	0,0354±0,0033 ^c	22,98±0,96 ^a	12,05±1,82 ^b
6,00	0,0340±0,0045 ^c	18,96±1,10 ^b	5,26±0,92 ^c

Aynı sütundaki farklı harfler, aynı sütundaki değerler arasında $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak farklılık olduğunu ifade etmektedir.

Yapılan çalışmada MS film yapısına eklenen antimikrobiyel maddenin filmin mekanik özelliklerini ve su buharı geçirgenliğini değiştirdiği görülmüştür. Yapıya antimikrobiyel maddenin eklenmesiyle filmin bariyer ve mekanik özelliğinin iyileştiği sonucuna varılmıştır. Bariyer özelliklerinin iyileşmesine ve gerilim direncinin artmasına, eklenen antimikrobiyel maddenin MS polimerik ağ yapısındaki zincir etkileşimlerini arttırmasının neden olduğu düşünülmektedir.

Propolis etanolik özütünün bileşenleri (reçineler, flavonoid içeren balzamlar, fenolik asitler ya da esterleri) polar özelliktedir ve selüloz omurgası arasındaki hidrofilik gruplar ile etkileşime girmektedir. Bu etkileşimler propolisin

etanolik özütü ile selüloz grupları arasında güçlü bir ara yüzey adezyonuna neden olarak gerilme direncinin artmasına ve elastikiyetin azalmasına neden olmuştur. [Pastor vd., 2010]. Yapıya propolis eklenmesi yapının sıkılaşmasına neden olmuş ve bu sıkılaşmaya bağlı olarak metil selüloz zincirlerinin su ile olan etkileşimi azaltmıştır. Bunun sonucunda da su buharı geçirgenliğinde azalma meydana gelmiştir.

Pastor ve ark. (2010) yaptıkları bir çalışmada hidrosimetilselüloz filmlerinin içerisine % 0,0 – 1,5 (a/a) oranlarında propolis özütü ilave etmişler ve özütün filmin fiziksel özelliklerini nasıl etkilediğini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda propolis özüt miktarının artmasıyla filmlerin su buharı geçirgenliği ve uzama değerlerinin azaldığını, gerilim direncinin ise arttığını belirlemişlerdir.

Ayana (2007), tarafından yapılan çalışmada MS filmlere % 0,5-3 (a/h) oranlarında zeytin yaprağı özütü (ZYÖ) ilave edilmiş ve ZYÖ miktarındaki artışın filmlerin su buharı geçirgenliği ve mekanik özelliklerine etkisi incelenmiştir. Özüt miktarı % 1,5 ve 2,0 (a/h) olan filmlerin SBG değerlerinde belirgin bir düşüş olduğu ZYÖ miktarının (% 0,5-3,0 a/h) artması ile filmlerin gerilim direncinde artma, uzama yüzdelinde azalma olduğunu belirlenmiştir.

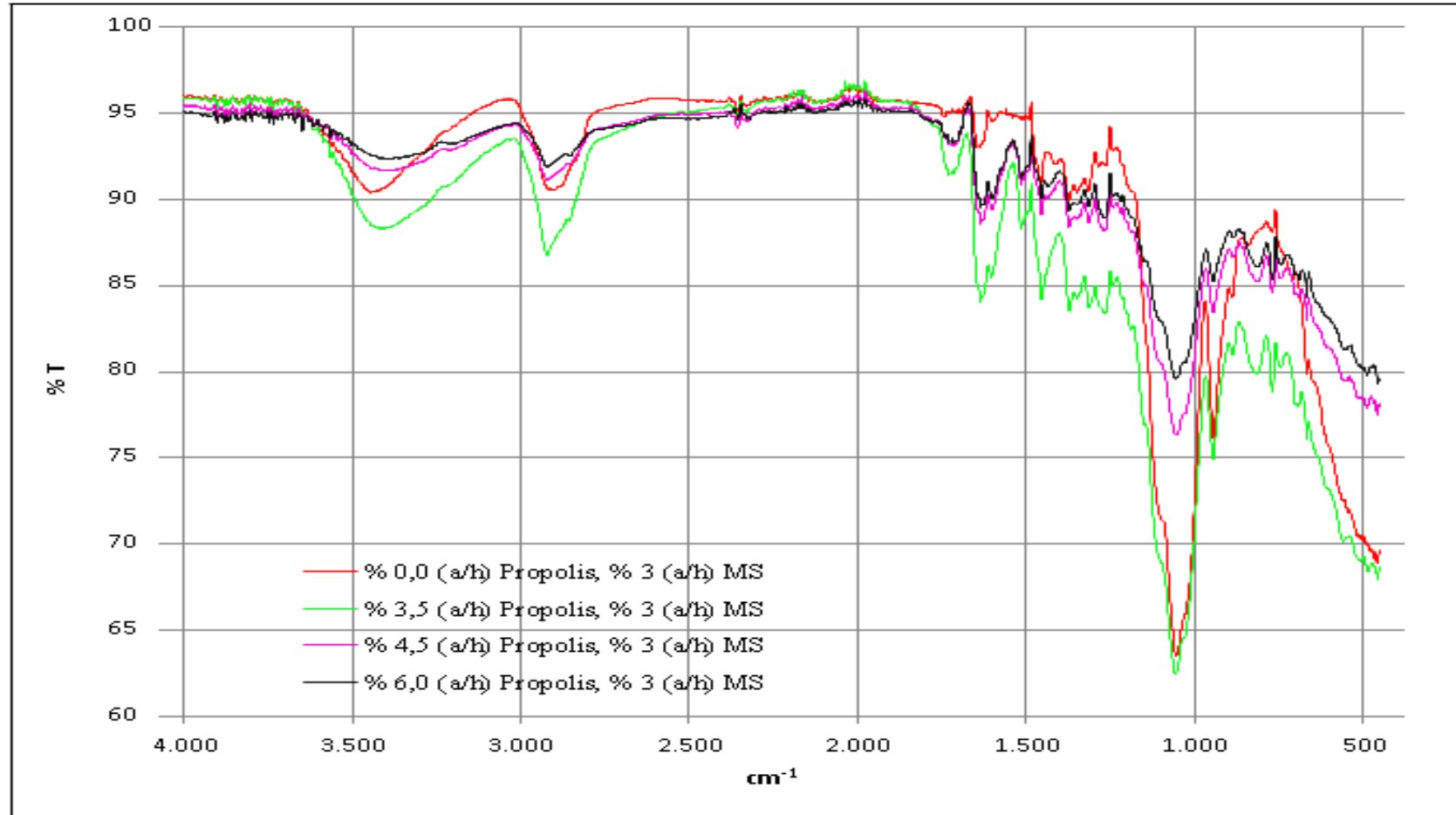
4.2.3.1. Filmlerin yapısal özellikleri

Antimikrobiyel MS filmlerin yapısını tanımlamak amacıyla filmlerin infrared spektrumları incelenmiştir. FTIR spektrofotometresi ile yapılan analiz, incelenen filmlerin yapısında bulunan fonksiyonel grupların, infrared ışığına maruz kalması ile bu grupların titreşimlerinden kaynaklanan etkileşimlerini ve fonksiyonel grupların tanımlanmasını içerir. Çizelge 4.6 da selüloz ve türevlerine ait temel fonksiyonel grupların karakteristikleri verilmiştir.

Çizelge 4.6. Selülozün yapısında bulunan temel gruplar ve ilgili spektral bölgeler

Fonksiyonel grup titreşim türü	Frekans (cm ⁻¹)
OH gerilmesi	3200-3500
OH düzlem içi bükülmesi	1455
OH düzlem içi bükülmesi	1336
C-O-C gerilmesi	1119
OH düzlem dışı bükülmesi	663

Metil selüloz polimerine ait spektrumlarında (Şekil 4.1) görünen 3000-3500 cm⁻¹ bölgesine denk gelen pikler OH gerilmelerine, 1000-1500 cm⁻¹ bölgesine denk gelen pik C-O-C gerilmesine aittir [Turhan, 1999]. Metil selüloz polimeri su ile etkileştiğinde, su ile hidrojen bağı yapabilen polar gruplar etkileşir. Metil selüloz polimerine ait en önemli piklerden biri OH gerilmesidir ve karbonil grubundaki OH polar özelliكتedir. Karbonil grubuna su katılmasıyla MS polimerinin çözünmesi sağlanır. Ayrıca, 1500-2000 cm⁻¹ bölgesine denk gelen pikler karbonil grubuna ait olan C=O gerilmesine ait olduğu düşünülmektedir [Rimduşit vd., 2008]. Karbon sayısı küçük olan karbonil pikleri hidrofilik özelliكتedir, karbon sayısı büyük olanlar ise hidrofobik özelliكتedir [Berber, 2012]. Bir moleküldeki benzer grupların sayısı spektrumlardaki soğurma bantlarının bağıl şiddetlerini değiştirir. Ayrıca daha öncede belirtildiği gibi propolis etanolik özütünün bileşenleri polar özelliكتedir ve selüloz omurgası arasındaki hidrofilik gruplar ile etkileşime girmektedir. Şekil 4.1 e göre propolis özütü MS yapısında bulunan OH bağıının sayısını değiştirmiş ve C=O bağıının şiddetini arttırmıştır. Bu bağıdaki şiddetin artması, karbonil grubunun sayısının artarak polimere hidrofobik özellik kazandırdığının belirtisi olmuştur. Propolis özütü MS'nin su içerisindeki çözünürlüğünü azaltmış, su ve neme karşı olan direncini arttırmıştır.



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda propolis özütü içeren MS filmlerinin infrared spektrumu

4.2.3.2. Filmlerin antimikrobiyel özellikleri

Propolis özütü içeren (% 0- 6, a/h) filmlerden kesilen diskler (0,6 cm) UV kabinde 10 dk steril edildikten sonra *S. aureus* ve *B. subtilis* aşılansmış MHA'da inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda oluşan zon çapları bize antimikrobiyel etkinlik konusunda bilgi vermiştir. Film formülasyonu içerisindeki propolis konsantrasyonu arttıkça zon çapının arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Propolis özüt miktarının MS filmlerinin antimikrobiyel etkinliği üzerine etkisi

Propolis özütü (%, a/h)	Zon Çapı (cm) <i>S. aureus</i>	Temas Yüzeyi <i>S. aureus</i>	Zon Çapı (cm) <i>B. subtilis</i>	Temas Yüzeyi <i>B. subtilis</i>
0,00	0,00	+	0,00	+
3,75	1,00	-	0,61	-
4,50	1,30	-	0,63	-
6,00	1,35	-	0,64	-

(-): Film disk altında üreme yok.

(+): Film disk altında üreme var.

Propolis özütü içeren MS filmler, *B. subtilis* üzerine belirgin bir etki göstermemiştir. Bu yüzden filmlerin uygulanmasında salam dilimlerine sadece *S. aureus* aşılansmıştır.

Propolis özütünün antimikrobiyel özelliği üzerine birçok çalışma mevcuttur. Fakat propolisin antimikrobiyel yenilebilir filmlerde kullanımına sadece bir çalışmada rastlanmıştır.

Pastor ve ark. (2011), % 0,0–1,5 (a/a) propolis etanolik özütü içeren hidroksimetilselüloz çözeltilerine üzümleri batırarak kaplamışlar ve kaplanmış üzümlerin 1-2°C'de 22 günlük depolama süresinde raf ömrünün nasıl değiştiğini toplam mezofilik mikroorganizma, maya ve küf sayısını inceleyerek belirlemişlerdir. Depolama süresinin sonunda kaplanmış ve kaplanmamış üzümlerin mikrobiyolojik sonuçları incelendiğinde; kaplanmamış üzümlerin mikroorganizma sayısının 0,2 log k.o.b/g üzerinde olduğu, saf metil selüloz ve propolis özütü içeren çözelti ile kaplanmış üzümlerin mikroorganizma sayısının ise 0,2 log k.o.b/g altında olduğunu

belirlemişlerdir. En iyi etki, % 1,5 (a/a) propolis özütü içeren çözelti ile kaplanmış üzümlerde sağlamışlardır.

4.3. FİMLERİN SALAM DİLİMLERİNE UYGULANMASI

Metil selüloz filmlere ilave edilen propolis özütünün miktarı artıkça filmlerin SBG değerleri ve uzama yüzdeleri azalmakta, gerilim direnci ise artmaktadır. Özüt miktarı artıkça filmlerin renk yoğunluğunda ve antimikrobiyel etkinliğinde artış görülmüştür. Uygulamada kullanılacak film kompozisyonu seçilirken su buharı geçirgenliği düşük, gerilim direnci ve antimikrobiyel etkinliği yüksek ve filmin kaplanacak ürünün duyuşal ve fiziksel özelliklerini etkilemeyecek özellikte olması göz önünde tutulan faktörlerdir. Artan propolis özüt miktarı ile filmlerin antimikrobiyel etkinliği artmıştır. Elde edilen tüm veriler değerlendirildiğinde uygulamada kullanmak amacıyla gerilim direnci yüksek ve su buharı geçirgenliği düşük olan % 4,5 (a/h) propolis etanolik özütü içeren MS filmler, dilimlenmiş salama uygulanmıştır.

Yaklaşık 10^7 k.o.b./ml *S. aureus* içeren bakteri solüsyonu salam dilimlerinin her iki yüzeyine aşılınmış ve hazırlanan filmlerle salam dilimlerinin yüzeyi kaplanmıştır. Filmle kaplanmış salam dilimleri polietilen film ile ambalajlanmıştır. Örnekler $4,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'de 15 gün depolanmış ve depolama süresince 0, 3, 7, 11, 14. günlerde mikrobiyolojik analizler yapılarak propolis özütü içeren MS filmlerin *S. aureus* üzerine antimikrobiyel etkisi belirlenmiştir.

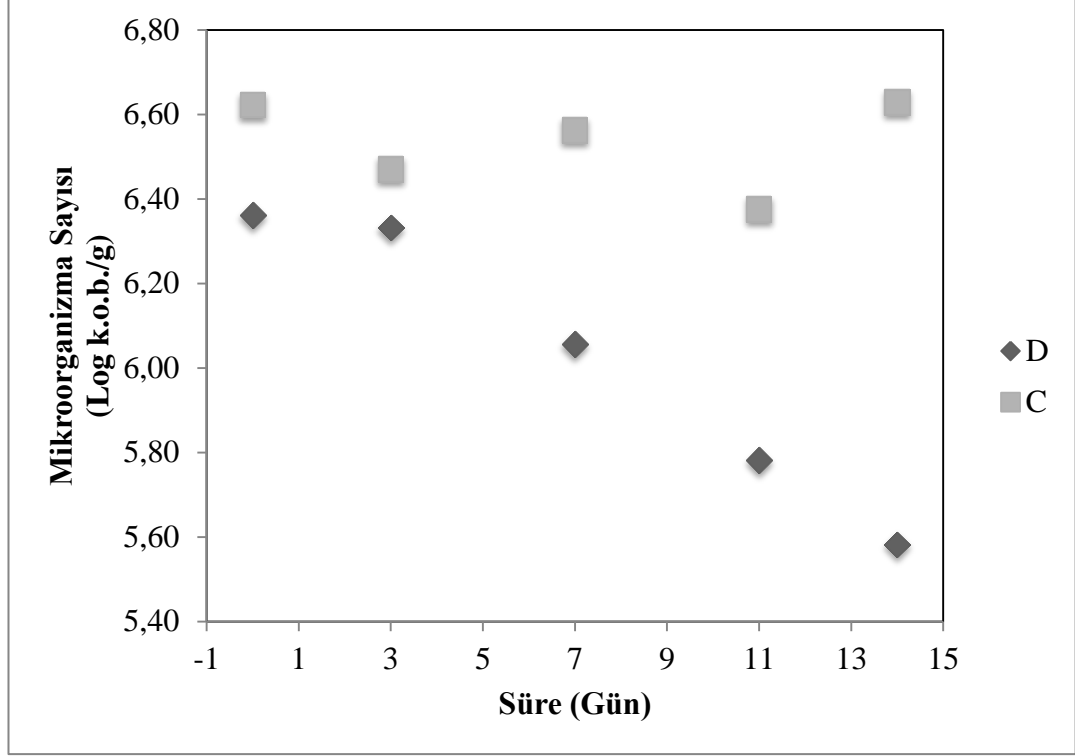
S. aureus aşılınmış (C, D) ve aşılınmamış salam dilimlerinde (A, B), 15 günlük depolama süresince yapılan mikrobiyolojik analizlerde, mikroorganizma aşılınmamış salam dilimlerinde *S. aureus*'a rastlanmamış ve toplam aerobik canlı sayısı $4,89 \log$ k.o.b./g olarak bulunmuştur. Propolis içermeyen MS filmler salam dilimleri ile temas ettiğinde MS filmler çözünmüş ve yapışkanmsı bir hal alarak dış ambalaja yapışmıştır (Şekil 4.2). Bölüm 4.2.3.2 de bahsedildiği gibi MS filmlerin içerisine propolis özütü eklenmesiyle suyu seven polar grupların, H bağı yapabilme özelliğinin azaldığı düşünülmektedir. Bu nedenle de propolis özütü içeren MS filmler depolama süresince film özelliğini korumuştur.



Şekil 4.2. Dış ambalaja yapışan MS filmi

Depolama süresince belirli günlerde salam dilimlerinde mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Baird Parker agara yapılan ekimlerde *S. aureus*, telluritin telluriuma indirgenmesi sonucunda siyah renkli koloni, lipoliz ve proteoliz aktiviteleri sonucunda da koloni etrafında berrak zon oluşturmuştur [Halkman, 2005] ve *S. aureus* sayısı bu kolonilerin sayılması ile hesaplanmıştır.

S. aureus ile aşılınmış propolis özütü içermeyen MS filmle kaplanmış (C) ve % 4,5 (a/h) oranında propolis özütü içeren MS film ile kaplanmış (D) salam dilimlerinde mikroorganizma sayısı 0. gün için sırasıyla 6,62 ve 6,36 Log k.o.b./g olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Depolama süresince *S. aureus* aşılansmış salam dilimlerinde mikrobiyel değişim

C: MS filmlerle kaplanan mikroorganizma aşılansmış salam dilimleri

D: Propolis içeren MS filmlerle kaplanan mikroorganizma aşılansmış salam dilimleri

Hazırlanan C örneğinde mikroorganizma sayısında artma ve azalmalar görülmüştür. Bu artma ve azalmaların C filminin salam dilimi ile temas ettiğinde çözünüp yapışkan bir hal alarak dış ambalaja yapışmasından ve bu nedenle de mikroorganizmaların tam olarak ortamdan alınamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

C ve D örneklerinde 14. günün sonunda yapılan analizler sonucunda, C filmi ile kaplanmış salam diliminde mikroorganizma sayısında azalma olmazken, D filmi ile kaplanmış salam dilimi örneklerinde *S. aureus* sayısında 0,78 log'luk azalma belirlenmiştir (Şekil 4.3).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırma kapsamında polihidroksibütirat ve metil selüloz filmler üretilmiştir. Üretilen filmlerin SBG değerleri, mekanik (gerilim direnci ve uzama) ve antimikrobiyel özellikleri incelenmiştir. Ayrıca MS filmlerde propolis etanolik özüt miktarındaki artışın film yapısına etkisini belirlemek amacı ile filmler FTIR spektrofotometresinde incelenmiştir. Fiziksel, mekaniksel ve yapısal özellikleri iyi, antimikrobiyel etkinliği yüksek olan % 4,5 (a/h) propolis özütü içeren MS filmler *S. aureus* aşılınmış salam dilimlerine uygulanmış ve antimikrobiyel filmin gıda üzerindeki etkinliği incelenmiştir. Araştırma sonunda elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur:

1. Polihidroksibütirat filmlerin genel özelliği saydam ve renksiz olmasıdır, fakat çözücü olarak eklenen etil alkol içeriği arttıkça filmlerin rengi opaklaşmaktadır. Artan etanol içeriği ile PHB filmlerin mekanik özellikleri zayıflamakta, su buharı geçirgenliği ise artmaktadır. Çözücü olarak etanol ve kloroform, plastikleştirici olarak PEG 300 içeren filmlere propolis özütünün eklenmesiyle film sarı kahverengi bir renge dönüşmüştür. Film içerisine propolis özütü eklenerek hazırlanan antimikrobiyel filmin *S. aureus* ve *B. subtilis* üzerine antimikrobiyel etkinliği incelenmiştir. Propolis özütü içeren PHB filmler mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyel etki göstermemiştir. Film içerisindeki propolis konsantrasyonu ise etanol miktarının artması ile filmin özelliklerinin kötüleşmesinden dolayı arttırılamamıştır. PHB filmler antimikrobiyel etki göstermediğinden MS esaslı antimikrobiyel filmler üretilmiştir.
2. Metil selüloz esaslı filmlerin genel özelliği şeffaf olmasıdır, ancak çözelti içerisine propolis özütünün eklenmesi sonucu özüt miktarı arttıkça filmler sarı-kahverengi bir renk almış ve artan özüt konsantrasyonu ile renk koyuluğu artmıştır.
3. Metil selüloz filmlere propolis özütünün ilave edilmesi ile filmlerin su buharı geçirgenliği ve uzama değerlerinde azalma, gerilim direncinde artma görülmüştür. Buna metil selüloz omurga yapısındaki hidrofilik gruplar ile

propolis özütünün hidrofilik bileşenlerinin etkileşime girmesinin neden olduğu düşünülmektedir. Gerilim direnci artarken uzama yüzdesinin azalması beklenen bir sonuçtur. En yüksek gerilim değeri % 4,5 (a/h) propolis özütü içeren filmlerde, en yüksek uzama ise propolis özütü içermeyen MS filmlerinde görülmüştür.

4. Propolis özütü içeren MS filmlerin yapısını tanımlamak amacıyla filmlerin infrared spektrumları incelenmiştir. Analiz sonucunda metil selülozun yapısında OH, C-O-C gerilmesi ve C=O karbonil grubu tespit edilmiştir. Yapıya propolis özütünün ilavesi ile karbonil grubunun şiddeti artmıştır. Propolisin yapısında bulunan hidrofilik bileşenlerin, MS'nin yapısındaki hidrofilik gruplarla etkileşime girip karbonil sayısını artırdığı düşünülmektedir. Bu etkileşim sonucu karbon sayısının artması ile MS filmi hidrofobik özellik kazanmıştır.
5. Film çözeltisine eklenen % 0-6 (a/h) konsantrasyonlarındaki propolis özütü *S. aureus* üzerine antimikrobiyel etki gösterirken, *B. subtilis*'e antimikrobiyel etki göstermemiştir. Film yapısındaki özüt miktarının artması ile *S. aureus*'da oluşan inhibisyon zon çapında artma belirlenmiştir.
6. Antimikrobiyel MS filmlerinin salam dilimlerine uygulanmasında SBG düşük, gerilim direnci ve antimikrobiyel etkinliği yüksek ve ürünün duyuşal özelliklerini en az etkileyeceği düşünülen % 4,5 (a/h) propolis özütü içeren filmler kullanılmıştır. *S. aureus* aşılınmış salam dilimleri $4,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de 15 gün depolanmıştır. Propolis özütü içermeyen MS filmler salam dilimleri ile temas edince hidrofilik özelliğinin yüksek olmasından dolayı çözünmüş ve dış ambalaja yapışmıştır. Propolis özütü içermeyen filmlerin mikrobiyolojik analizlerinde hazırlanan filmler dış ambalaja yapıştığından dolayı mikroorganizma ortamdan tam olarak alınamamıştır. Bunun sonucunda yapılan mikrobiyolojik analiz sonucunda mikroorganizma sayısında değişiklik görülmemiştir.
7. Propolis özütü içeren MS filmleri salam dilimleri ile temas edince yapıda herhangi bir çözünme olmamış ve film özelliğini depolama süresince korumuştur. Propolis özütü (% 4,5, a/h) içeren MS esaslı filmler, mikroorganizma aşılınmış salam dilimlerinde antimikrobiyel aktivite

göstermiştir. 14 günlük depolama süresi sonunda *S. aureus* sayısı 0,78 log azalmıştır.

8. Propolis özütü içeren MS esaslı filmlerle kaplanan salam dilimlerinde, depolama süresi sonunda salamın kokusunda ve renginde değişikliğe rastlanmamıştır.

Literatürde propolis özütünün antimikrobiyel aktivitesi ile ilgili birçok çalışma bulunmasına rağmen, uygulama alanında sadece bir makaleye rastlanmıştır. Yapılan araştırmada propolis özütü içeren antimikrobiyel filmler üretilmiş ve bu filmler gıdaya uygulanarak antimikrobiyel etkinliği test edilmiştir. Ülkemizde arıcılık geniş bir alanda yapılmaktadır ve kovan sayısı bakımından da ülkemiz ilk sıralardadır. Fakat arının kovanda yapmış olduğu tüm ürünleri arıcılarımız toplayamamaktadır. Bu yüzden işlenmiş propolisin yurtdışından ülkemize ithalatı yapılmaktadır. Ülkemizde ham propolis, gelişmiş tekniklerle temiz bir şekilde toplandığı takdirde ham propolis ile yapılacak olan antimikrobiyel filmlerin etkinliğinin daha yüksek olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmanın arının yapmış olduğu ürünlerin değerlendirilmesi açısından dikkat çekeceğine ve bundan sonra yapılacak çalışmalara öncülük edeceğine inanılmaktadır. Propolis gibi doğal özüt içeren ambalajlar gıdalarda depolama süresince görülen mikrobiyolojik bozulmaların önlenmesinde, gıda güvenliğinin sağlanmasında ve ürünün raf ömrünün arttırılmasında yarar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Alvarez, V. B. and Pascall, M. A. “Packaging”, The Ohio State University, Columbus, OH, USA, (2011).
- Appendinia, P. ve Hotchkiss, J. H. “Review of Antimicrobial Food Packaging”, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 3: 113-126, (2002).
- ASTM. “Standard Test Methods for Tensile Properties of Plastics, Standard D638M”, *Annual Book of American Standard Testing Methods*, Philadelphia, PA. 59-67, (1993).
- ASTM. “Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials, Standard E96-80”, *Annual Book of American Standard Testing Methods*, Philadelphia, PA. 761-770, (1983).
- Ayana, B. “Antimikrobiyal Yenilebilir Filmlerin Üretimi ve Özelliklerinin Belirlenmesi”, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 61 s., (2007).
- Ayana, B. ve Turhan, K. N. “Gıda Ambalajlamasında Antimikrobiyel Madde İçeren Yenilebilir Filmler/Kaplamalar ve Uygulamaları”, *Gıda*, 35(2): 151-158, (2010).
- Ayana, B., Erol, E. ve Turhan, K. N. “Antimikrobiyel Gıda Ambalajlamasında Kullanılan Doğal Antimikrobiyel Maddeler”, VI. Uluslar arası Ambalaj Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı, İstanbul, 91-101, (2010).
- Ayana, B., Turhan, K. N. “Use of Antimicrobial Methylcellulose Films to Control *Staphylococcus aureus* During Storage of Kasar Cheese”, *Packaging Technology and Science*, 22: 461-469, (2009).
- Barud, H. S., Souza, J. L., Santos, D. B., Crespi, M. S., Ribeiro, C. A., Messaddeq, Y. and Ribeiro, S. J. L. “Bacterial Cellulose/Poly(3-Hydroxybutyrate) Composite Membranes”, *Carbohydrate Polymers* 83: 1279–1284, (2011).
- Berber, H. “Organik Kimya III, Aldehitler, Ketonlar, Karboksilik Asitler ve Türevleri”, Anadolu Üniversitesi, www.anadolu.edu.tr/aos/kitap/IOLTP/2280/unite17.pdf (29.05.2012).

- Berkesch, S. “Biodegradable Polymers: A Rebirth of Plastic”, Michigan State University, <http://www.iopp.org/files/public/BerkeschShellieMSUBiodegradablePlastic.pdf> (19.04.2012)
- Brody, A. L., Bugusu, B., Han, J. H., Sand, C. K. and Mchugh, T. H. “Innovative Food Packaging Solutions”, *Journal of Food Science*, 73(8): 107-116, (2008).
- Bucci, D. Z., Tavares, L. B. B. and Sell, I. “PHB packaging for the Storage of Food Products”, *Polymer Testing* 24: 564–571, (2005).
- Burdock, G. A. “Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis)”, *Food and Chemical Toxicology* 36: 347-363, (1998).
- Cha, D. S. and Chinnan, M. S. “Biopolymer-Based Antimicrobial Packaging: A Review”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4): 223-237, (2004).
- Chana-Thaworn, J., Chanthachum, S., Wittaya, T. “Properties and Antimicrobial Activity of Edible Films Incorporated with Kiam Wood (*Cotyleobium lanceotatum*) Extract”, *LWT - Food Science and Technology*, 1-9, (2010).
- Chao, R. R. and Rizvi, S. H. “Oxygen and Water Vapor Transport Through Polymeric Film” *Food and Packaging Interaction*, M.J. Comstock (ed.), American Chemical Society Symposium Series 365, 305 p. (1988).
- Choudhari, M. K., Punekar, S. A., Ranade R. V. and Paknikar, K. M. “Antimicrobial Activity of Stingless Bee (*Trigona* Sp.) Propolis Used in The Folk Medicine of Western Maharashtra, India”, *Journal of Ethnopharmacology* 141: 363– 367, (2012).
- Çağrı, A., Ustunol, Z. and Ryser, E. T. “Inhibition of Three Pathogens on Bologna and Summer Sausage Using Antimicrobial Edible Films”, *Journal of Food Science*, 67(6): 2317-2324, (2002).
- Çağrı-Mehmetoğlu, A. “Yenilebilir Filmlerin ve Kaplamaların Özelliklerini Etkileyen Faktörler”, *Akademik Gıda* 8(5): 37-43, (2010).
- Dainellia, D., Gontardb, N., Spyropoulosc, D., Beukend, E. and Tobback, P. “Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns”, *Trends in Food Science & Technology* 19: 103-112, (2008).

- De Kruijf, N., Van Beest, M., Rijk, R., Sipiläinen-Malm, T., Paseiro Losada, P. and De Meulenaer, B. “Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects”, *Food Additives and Contaminants*, 19: 144-162, (2002).
- Erdohan, Z. Ö. “Peynir Altı Suyu Proteini (PASP) Esaslı Polimer Filmlerin Üretimi ve Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi”, *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 78 s., (2005).
- Geankopolis, C. J. “Transport Processes and Unit Operations”, 2nd Edition, Allyn and Bacon (inc), 862 p. (1983).
- Gross, R. A. and Kalra, B. “Biodegradable Polymers for the Environment”, *Science*, 297: 803-807, (2002).
- Halkman, A. K. “Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları”, 1. Baskı, Başak Matbacılık, Ankara, 358s, (2005)
- Han, J. H. “Antimicrobial Food Packaging”, *Food Technology*, 54(3): 56-65, (2000).
- Ikejima, T. and Inoue, Y. “Crystallization Behavior and Environmental Biodegradability of The Blend Films of Poly(3-Hydroxybutyric Acid) With Chitin and Chitosan”, *Carbohydrate Polymers*, 41: 351–356, (2000).
- İlter, M.H. “Diffusion of Gases Through Polymer Films”, M. Sc. Thesis, METU, 86 p., (1989).
- Jasse, B., Seuvre, A. M. and Mathlouthi, M. “Permeability and Structure in Polymeric Packaging Materials” *Food Packaging and Preservation*, M. Mathlouthi (ed.), Chapman & Hall, UK, 1-21, (1994).
- Junk-Uk, H., Young-Min, K. and Dong-Sun, L., “Multilayered antimicrobial Polyethylene Films Applied to the Packaging of Ground Beef”, *Packaging Technology and Science*, 15: 55-62, (2001).
- Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Troullidou, E., Mourtzinis, I. and Karathanos, V. T. “Chemical Composition, Antioxidant Activity and Antimicrobial Properties of Propolis Extracts from Greece and Cyprus”, *Food Chemistry* 116: 452–461, (2009).
- Karagöz Emiroğlu, Z., Polat Yemiş, G., Kodal Coşkun, B., Candoğan, K. “Antimicrobial Activity of Soy Edible Films Incorporated with Thyme and Oregano Essential Oils on Fresh Ground Beef Patties”, *Meat Science*, 86: 283–288, (2010).

- Karagöz, Z. ve Candoğan, K. “Et teknolojisinde antimikrobiyal ambalajlama”, Gıda, 32(3): 113-122, (2007).
- Kartal, M., Yıldız, S., Kaya, S., Kurucu, S. and Topçu, G. “Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia”, Journal of Ethnopharmacology, 86: 69–73, (2003).
- Kerry, J. P., O’Grady, M. N., Hogan, S. A. “Past, Current And Potential Utilisation of Active and Intelligent Packaging Systems for Meat and Muscle-Based Products: A Review”, Meat Science, 74: 113–130, (2006).
- Kirk, R. E. and Othmer, D. F., “Encyclopedia of Chemical Technology”, Wiley-Interscience Publishers, NY, 6: 1-24, (1963-1972).
- Kosior, E., Braganca, R. M. and Fowler, P. “Lightweight Compostable Packaging: Literature Review”, The Waste & Resources Programme, Banbury, Oxon, 49 p., (2006).
- Marsh, K. and Bugusu, B. “Food Packaging-Roles, Materials, and Environmental Issues”, Journal of Food Science, 72(3): 39-55, (2007).
- McHugh, T. H. and Krochta, J. M. “Water Vapor Permeability Properties of Edible Whey Protein-Lipid Emulsion Films”, JAOCS, 71(3), 307-312, (1994).
- Muratore, G., Del Nobile, M. A., Buonocore, G. G., Lanza, C. M. and Asmundo, C. N. “The influence of using biodegradable packaging films on the quality decay kinetic of plum tomato (Pomodoro Datterino)”, Journal of Food Engineering 67: 393–399, (2005).
- Nasar-Abbas, S. M. and Halkman, A. K. “Antimicrobial effect of water extract of sumac (*Rhus coriaria* L.) on the growth of some food borne bacteria including pathogens”, International Journal of Food Microbiology, 97: 63-69, (2004).
- NCCLS. “National Committee on Clinical Laboratory Standards”, M2-A8, Antimikrobik Disk Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları, Sekizinci Baskı, (2003).
- Ozdemir, M. and Floros, J. “Active Food Packaging Technologies”, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44: 185–193, (2004).
- Öztaş, A. “Et Bilimi ve Teknolojisi”, 4. Baskı, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları, Ankara, 495 s, (2003)

- Park, H. J. and Chinnan, M. S. “Gas and Water Vapor Barrier Properties of Edible Films from Protein and Cellulosic Materials”, *Journal of Food Process Engineering*, 25: 497-507, (1995).
- Parra, D. F., Fusaro, J., Gaboardi, F. and Rosa, D. S. “Influence of poly (ethylene glycol) on the thermal, mechanical, morphological, physical echemical and biodegradation properties of poly (3-hydroxybutyrate)”, *Polymer Degradation and Stability*, 91: 1954-1959, (2006).
- Pastor, C., Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A. and González-Martínez, C. “Physical and Antifungal Properties of Hydroxypropylmethylcellulose Based Films Containing Propolis as Affected by Moisture Content”, *Carbohydrate Polymers*, 82: 1174–1183, (2010).
- Pastor, C., Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A. and González-Martínez, C. “Quality and Safety of Table Grapes Coated with Hydroxypropylmethylcellulose Edible Coatings Containing Propolis Extract”, *Postharvest Biology and Technology* 60: 64–70, (2011).
- Pérez-Pérez, C., Regalado-González, C., Rodríguez-Rodríguez, C. A., Barbosa Rodríguez, J. R. and Villaseñor-Ortega F. “Incorporation of antimicrobial agents in food packaging films and coatings”, *Advances in Agricultural and Food Biotechnology*, 81: 193-216, (2001).
- Pişkin, E. “Polimer Teknolojisine Giriş”, *İnkılap Kitapevi, İstanbul*, 199 s., (1987).
- Quattara, B., Simard, R. E., Piette, G., Begin, A. and Holley R.A. “Inhibition of Surface Spoilage Bacteria in Processed Meats by Application of Antimicrobial Films Prepared with Chitosan”, *International Journal of Food Microbiology*, 62: 139-148, (2000).
- Quintavalla, S. and Vicini, L. “Antimicrobial food packaging in meat industry”, *Meat Science*, 62: 373–380, (2002).
- Reddy, C. S. K., Ghai, R. and Kalia, R. V. C. “Polyhydroxyalkanoates: An overview”, *Bioresource Technology*, 87: 137–146, (2003).
- Rimdisit, S., Jingjid, S., Damrongsakkul, S., Tiptipakorn, S. and Takeichi, T. “Biodegradability and Property Characterizations of Methyl Cellulose: Effect of Nanocompositing and Chemical Crosslinking”, *Carbohydrate Polymers* 72: 444–455, (2008).

- Savenkova, L., Gercberga, Z., Muter, O., Nikolaeva, V., Dzene, A. and Tupureina, V. "PHB-Based Films As Matrices For Pesticides", *Process Biochemistry*, 37: 719–722, (2002).
- Silici, S. and Kutluca, S. "Chemical Composition and Antibacterial Activity Of Propolis Collected by Three Different Races of Honeybees in The Same Region", *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 69–73, (2005).
- Tokiwa, Y., Calabia, B. P., Ugwu, C. U. and Aiba, S. "Biodegradability of Plastics", *International Journal of Molecular Sciences*, 10: 3722-3742, (2009).
- Turhan, K. N. "Degrade Olabilen Metilslüloz Esaslı Filmlerin Üretimi ve Karakterizasyonu", Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 109 s, (1999).
- Turhan, K.N., Ayana, B. ve Erdoğan, Z.Ö. "Antimikrobiyal Polilaktid/Polilaktid-Metil selüloz Filmlerin Üretimi ve Özelliklerinin Belirlenmesi", TÜBİTAK, Proje No:107O234, (2009).
- Üçüncü, M. "Gıdaların Ambalajlanması", Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, Türkiye, 896s. (2007).
- Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. "Gıda Mikrobiyolojisi", 3. Baskı, Meta Basım, İzmir, 606s, (2003).
- Yılmaz, M. ve Beyatlı, Y. "Biyoplastik: Poli- β -hidroksibütirat (PHB)", *Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(9): 1-33, (2003).
- Zivanovic, Z., Chi, S. and Draughon, A.F. "Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils", *Journal of Food Science*, 70(1): 45-51, (2005).

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Adı Soyadı: Ece EROL

Doğum Tarihi: 13/05/1986

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Gıda Mühendisliği	Mersin Üniversitesi	2004-2008
Yüksek Lisans	Gıda Mühendisliği	Mersin Üniversitesi	2008-

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

- Erol, E.**, Gerçek, M. Ç. ve Turhan, K. N. “Doğal bir ürün olan Propolisin antimikrobiyel özelliği”, 7. Gıda Mühendisliği Kongresi, 24-26 Kasım, Ankara, 256 s., 2011.
- Erol, E.** and Turhan, K. N. “The use of propolis for antimicrobial food packaging,” International Food Congress: Novel Approaches in Food Industry, 26-29 May, İzmir, 2011.
- Ayana, B., **Erol, E.** and Turhan, K. N. “Natural Antimicrobial Agents Used in Antimicrobial Food Packaging”, VI. International Packaging Congress, 16-18 September, İstanbul, Volume 2, 91-101 p., 2010.