

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞAL BİTKİ EKSTRAKTLI
ANTİMİKROBİYAL-AKTİF KAĞIT
AMBALAJLAR

İlknur ŞAHİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GEBZE
2002

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOĞAL BİTKİ EKSTRAKTLI
ANTİMİKROBİYAL-AKTİF KAĞIT
AMBALAJLAR**

İlknur ŞAHİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Yrd.Doç.Dr.Murat ÖZDEMİR

GEBZE
2002

ÖZET

Bu çalışmada adaçayı (*Salvia officinalis*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis*) baharatlarından ekstrakte edilen esansiyel yağlar kağıt esaslı ambalaj materyalleri ile birleştirilmiştir. Aktif ambalajların; 4 bakteri (Gram (+); *S. aureus*, *B. subtilis*, Gram (-); *P. aeruginosa*, *E. coli*) ve 1 maya (*C. utilis*) suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir.

Kağıt esaslı ambalaj materyali olarak “Mumlu Kağıt, Ağartılmış Kraft Kağıdı, Kraft Torba Kağıdı ve Taklit Parşömen Kağıdı” kullanılarak agar difüzyon testleri gerçekleştirilmiştir. Bu testler sonucunda adaçayı ve biberiye ekstraktlarına en duyarlı bakterilerinin *S. aureus* olduğu tespit edilmiştir. Adaçayı ve biberiye ekstraktları ile birleştirilmiş kağıt esaslı ambalaj materyalleri, en zayıf etkiyi *E. coli* bakterisi üzerinde göstermiştir. Aynı aktif ambalajların *C. utilis* mayası üzerinde ise kuvvetli fungisidal etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Kağıt esaslı ambalaj materyalleri içinde mumlu kağıdın, adaçayı ve biberiye ekstraktlarını en iyi şekilde tutan ambalaj materyali olduğu tespit edilmiştir.

Tüm bu verilerin sonucunda; doğal antimikrobiyaller adaçayı ve biberiye, kağıt esaslı ambalaj materyalleri ile birleştirildiğinde, aktif bir gıda paketinin imal edilebileceği belirlenmiştir.

SUMMARY

In this study, essential oils extracted from sage (*Salvia officinalis*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) were incorporated into paper-based packaging materials. Antimicrobial activities of these active packaging materials were tested against four bacteria (Gram (+); *S. aureus* and *B. subtilis*, Gram (-); *P. aeruginosa* and *E. coli*) and one yeast (*C. utilis*) strain. In agar diffusion tests, “Wax Paper, Bleached Kraft Paper, Kraft Bag Paper and Imitated Parchament” were used as paper-based packaging materials.

As a result of agar diffusion tests, *S. aureus* was found to be the most sensitive bacterium against sage and rosemary extracts. Paper-based packaging materials with sage and rosemary extracts showed the weakest antimicrobial activity against *E. coli*. Meanwhile, the same active packaging materials had strong antifungal activity against *C. utilis*.

Among paper-based packaging materials, it was found that wax paper was the best packaging material that held sage and rosemary extracts in it. At the end of this study, it could be concluded that natural antimicrobials like sage and rosemary could be incorporated into paper-based packaging materials to form an active food package.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmama başladığımdan beri karşılaştığım zorluklarda manevi desteklerini eksik etmeyen, proje çalışmamın belirlenmesinden yürütülmesi ve sonuçlandırılmasına kadar geçen süre içinde fikirleriyle bana yol gösteren danışman hocam Sn. Yrd. Doç. Dr. Murat ÖZDEMİR'e, savunma jürimde yer alan Sn. Yrd. Doç. Dr. Hasan SADIKOĞLU ve Sn. Yrd. Doç. Dr. Aziz TANRISEVEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında, beni destekleyen arkadaşlarım Semra ÖZGÜR ve Fatih AKYOL'a, araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve laboratuvar çalışmalarında hep yanımda olan Özlem ASKER 'e teşekkür ederim.

Öğrenim hayatıma başladığım günden bu yana büyük fedakarlıklar göstererek maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen ve her zaman yanımda olan biricik annem Zekiye ŞAHİN ve babam Eyüp ŞAHİN ile kardeşlerim Cevat ve Eda'ya sevgilerimi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	IV
SUMMARY	V
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Hipotez	3
1.2. Amaç	4
2. DOĞAL OLARAK ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİĞE SAHİP BİTKİLER	5
2.1. Adaçayı (<i>Salvia officinalis</i>)	5
2.2. Amerika Elması:Cashew Apple (<i>Anacardium occidentale</i>)	6
2.3. Ayçiçeği (<i>Helianthus annuus</i>)	7
2.4. Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	7
2.5. Geyikotu:Winter savory (<i>Satureja montana</i>)	8
2.6. Kakule:Cardamon (<i>Ellattaria cardamonum</i>)	8
2.7. Kekik (<i>Thymus vulgaris</i>)	9
2.8. Keklikotu: Yabani Mercanköşk (<i>Origanum ssp.</i>)	10
2.9. Lahana (<i>Brassica spp.</i>)	10
2.10. Mango (<i>Magifera indica</i>)	10
2.11. Nane (<i>Mentha sp.</i>)	11
2.12. Paraguay Çayı: Mate Tea (<i>Ilex paraguayensis</i>)	11
2.13. Sarımsak (<i>Allium sativum</i>)	12
2.14. Şerbetçiotu: Hops (<i>Humulus lupulus</i>)	13
2.15. Turunçgiller (<i>Citrus sp.</i>)	13
2.16. Zeytin (<i>Olea europaea</i>)	14
3. BİTKİSEL KAYNAKLI ANTİMİKROBİYAL MADDE GRUPLARI ve ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİK GÖSTEREN BİTKİ (ESANSİYEL YAĞ) BİLEŞENLERİ	18

4. BİTKİ EKSTRAKTLARININ (ESANSİYEL YAĞLARIN)	
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ	20
5. ANTİMİKROBİYAL BİTKİ EKSTRAKTLARI İLE AKTİF GIDA	
AMBALAJLAMASI	23
6. GIDA PAKETLEMESİNDE KULLANILAN KAĞIT ESASLI	
AMBALAJ MATERYALLERİ	26
6.1. Kraft Kağıdı	26
6.2. Taklit Kraft Kağıdı	26
6.3. Sülfite Kağıdı	27
6.4. Parşömen Kağıdı (Pergament)	27
6.5. Şeffaf Parşömen (Pergamin)	28
6.6. Taklit Parşömen (Oleofob Kağıt)	28
6.7. Hutpak Kağıdı	29
6.8. Neme Dayanıklı Kağıtlar (Hidrofob Kağıt)	29
6.9. İpek Kağıtlar	29
6.10. Vaks Kaplanmış Kağıtlar	29
6.11. Plastik Kaplanmış Kağıtlar	30
7. MATERYAL ve METOT	32
7.1 Materyal	32
7.1.1. Ambalaj Materyalleri	32
7.1.2. Antimikrobiyal Bitki Ekstraktları (Esansiyel Yağlar)	32
7.1.3. Mikroorganizmalar	32
7.1.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	32
7.1.3.2. <i>Bacillus subtilis</i>	33
7.1.3.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
7.1.3.4. <i>Escherichia coli</i>	34
7.1.3.5. <i>Candida utilis</i>	34
7.2. Metot	34
7.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması	35
7.2.2. Uygulama	36
7.3. Mikrobiyal Büyümenin Ölçümü ve Antimikrobiyal Aktivitenin	
Değerlendirilmesi	36
7.4. İstatistiksel Analiz	37

8.SONUÇLAR	38
9.TARTIŞMA ve ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	67

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Doğal Olarak Antimikrobiyal Özellik Gösteren Bitkiler	16
4.1. Çeşitli Baharatların Karşılaştırılmalı Antimikrobiyal Etkileri	22
8.1. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Mumlu Kağıdın Antimikrobiyal Etkisi	38
8.2. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Mumlu Kağıdın Antimikrobiyal Etkisi	40
8.3. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Ağartılmış Kraft Kağıdının Antimikrobiyal Etkisi	42
8.4. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Ağartılmış Kraft Kağıdının Antimikrobiyal Etkisi	45
8.5. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kraft Torba Kağıdının Antimikrobiyal Etkisi	46
8.6. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kraft Torba Kağıdının Antimikrobiyal Etkisi	47

GRAFİKLER DİZİNİ

<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
8.1. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin <i>S. aureus</i> Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri	49
8.2. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin <i>B. subtilis</i> Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri	50
8.3. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin <i>P. aeruginosa</i> Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri	50
8.4. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin <i>E. coli</i> Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri	51
8.5. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin <i>C. utilis</i> Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkileri	51
8.6. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin <i>S. aureus</i> Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri	52
8.7. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin <i>B. subtilis</i> Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri	53
8.8. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin <i>P. aeruginosa</i> Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri	53
8.9. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin <i>E. coli</i> Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri	54
8.10. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin <i>C. utilis</i> Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkileri	54

RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
8.1. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Mumlu Kağıt Disklerin C. utilis Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	56
8.2. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Mumlu Kağıt Disklerin C. utilis Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	56
8.3. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Mumlu Kağıt Disklerin S. aureus Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	57
8.4. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Mumlu Kağıt Disklerin S. aureus Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	57
8.5. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Ağartılmış Kraft Kağıdı Disklerin C. utilis Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	58
8.6. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Ağartılmış Kraft Kağıdı Disklerin C. utilis Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	58
8.7. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Ağartılmış Kraft Kağıdı Disklerin C. utilis Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	59
8.8. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Ağartılmış Kraft Kağıdı Disklerin C. utilis Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	59
8.9. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kraft Torba Kağıdı Disklerin S. aureus Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	60
8.10. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Kraft Torba Kağıdı Disklerin S. aureus Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	60
8.11. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kraft Torba Kağıdı Disklerin S. aureus Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	61
8.12. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Kraft Torba Kağıdı Disklerin S. aureus Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi	61

1. GİRİŞ

Gıda sanayiinde ambalaj, içine konulan gıdaların tüketiciye bozulmadan, sağlıklı ve hijyenik olarak en az toplam maliyetle güvenilir bir şekilde ulaştırılmasını ve tanıtılmasını sağlayan bir araçtır. Gıda tüketiminde en önemli nokta tüketilen gıdanın güvenli olmasıdır. Gıdalara bulaşan çeşitli mikroorganizmalar (bakteri, maya, küf) kendileri için gerekli besinleri üzerinde yaşadıkları bu ürünlerden sağlarken, metabolizma artıklarını da ortama verirler. Bu sırada, gıdaların yapısında doğal olarak bulunan çeşitli enzimlerin etkinlikleri de sürer. Tüm bunların sonucunda gıdalar pek çok fiziksel ve kimyasal değişime uğrayıp tüketilemeyecek bir nitelik alabilir. Bu oluşuma gıda bozulması denir.

Üründe bulunan bakteri, maya ve küflerin cins ve sayısına bağlı olarak gıdaların yapı, koku ve aromalarında mikrobiyolojik bozulmalar meydana gelebilir. Ayrıca, ürettikleri toksin veya diğer metabolik ürünlerle de gıdaları sağlık ve kalite açısından riskli hale getirebilirler. Bununla birlikte gıdanın özelliği, işleme tekniği, ortam ve muhafaza koşulları da hem mikrobiyolojik bozulmanın boyutunu hem de bozulma ile oluşan metabolizma yan ürünlerinin niteliklerini etkiler (Üçüncü, 2000).

Gıdaların muhafaza problemleri yeni gıdaların üretilmesiyle birlikte daha karmaşık hale gelmektedir. Böylece, bu ürünlerin raf ömürlerinin uzaması ve mikrobiyal kirlenmeye karşı daha fazla güvence altına alınması gerekmektedir (Farag et al., 1989). Örneğin, et ürünlerinin daha uzun raf ömrüne sahip olabilmeleri ve mikrobiyal kirlenme tehlikesine karşı daha fazla güvence altına alınmaları ve etlerin güvenli bir şekilde muhafazası et ürünleri sana-yiinin büyük problemidir (Ouattara et al., 1997).

Gıdalarda antimikrobiyal madde olarak kullanılan birçok kimyasal vardır. Örneğin; asetik asit ve sülfür dioksit gıda koruyucusu olarak gıdalarda yaygın biçimde kullanılan maddelerdir. Bu kimyasallar aşındırıcı etkiye sahip olduklarından buharları gözlerde ve solunum sisteminde yanmalara sebep

olabileceğinden kullanımlarında dikkatli davranılmalıdır. Bir başka gıda koruyucusu olan sodyum nitritin ikincil ve tersiyer aminlerle kombinasyonlarının kanserojenik olduğu tespit edilmiştir. BHA (bütüle edilmiş hidroksi anisol) ve BHT (bütüle edilmiş hidroksi toluen) yaygın olarak antioksidant olarak lipid içeren ürünlerin ekşimesini önlemek için kullanılırlar. Bu sentetik kimyasallar mikrozomal enzimlerin azalması ile, yenilen bazı materyalleri toksik substratlara veya kanserojenlere dönüştürebilirler (Farak et al., 1989). Bu sebeplerden dolayı alternatif koruyuculara ihtiyaç vardır. Alternatif koruyucular, antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları gibi kullanıcılar için sağlık problemlerine de sebep olmamalıdır.

Birçok baharat ve bitkinin antimikrobiyal aktivitesinin olduğu bilinmektedir. Bunlar yiyeceklerde birden fazla fonksiyonu yerine getirdikleri için tanımlandıktan sonra gıdalara katılmaktadırlar. Baharatlar gıdalara lezzet verirler, bakteriostatik ve bakteriosidal aktiviteleri vardır. Gıdaların raf ömürlerini arttırıcı etkiye sahip olan baharatların bazıları antioksidant aktiviteleri sayesinde ekşimeyi önlerler (Shelef et al., 1980).

Gıda sanayiinde paketleme materyalleri özellikle bariyer sağlamak, gıdaları mikroorganizmaların bulaşmasından korumak, gıdaları olumsuz çevresel faktörlerden muhafaza etmek için kullanılırlar. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar ile paket materyallerine aktif maddeler eklenerek yeni ve ekstra bazı fonksiyonlar kazandırma çalışmaları başlamıştır. Böylece gıdaların kaliteleri ve güvenlikleri artarken, raf ömürlerinin de uzatılması mümkün hale gelmiştir.

1.1. Hipotez

İnsanlar beslenmek için çeşitli bitkisel ve hayvansal kaynaklı gıda maddelerinden yararlanırlar. Gıda üretiminin her basamağında mikrobiyal kontaminasyon olasılığı vardır. Kontaminasyon etkeni mikroorganizmalar gıda bozulmalarına, gıda zehirlenmelerine ve gıda kaynaklı hastalıklara neden olup sonuçta; önemli ekonomik kayıplar ve sağlık sorunları ortaya çıkarabilirler. Gıdalar hazırlanırken hijyen kurallarına uyularak çalışılmalı, gıdaya uygun muhafaza metodu uygulanmalı ve gıda steril ambalaj materyali içinde muhafaza edilmelidir.

Gıda maddesinin yüzeyinde içeri çabuk difüze olmayan, yüzeyde uzun süre kalabilen bir antimikrobiyal varolursa gıdanın kontaminasyon riski azalır. Kontaminasyon gerçekleşmiş olsa dahi kontaminasyon sonrası mikroorganizma üreme süresi geciktirilebilir veya mikroorganizma üreme olasılığı ortadan kaldırılabilir.

Bunun için kullanılacak antimikrobiyal maddelerin yenilebilir özellikte ve insan sağlığını tehdit etmeyen maddeler olması lazımdır. Bu maddeleri gıda yüzeyinde uzun süre gıda içine difüze olmadan tutabilmek için de ambalajdan antimikrobiyal maddenin kontrollü salınımını sağlayan bir mekanizmanın tasarlanarak uygulanması gereklidir.

Bu bilgilere dayanarak bu çalışmanın hipotezi şudur: Doğal antimikrobiyal maddeler kağıt esaslı ambalaj malzemeleri ile birleştirilerek aktif bir paket oluşturulabilir ve bu paket gıda yüzeyindeki mikroorganizmaların üremesini geciktirerek gıdanın raf ömrünü arttırabilir.

1.2. Amaç

Bu çalışmanın ana amacı gıdaların kalitelerini, tazeliklerini ve güvenliklerini korurken onların raf ömürlerini uzatabilecek kağıt esaslı aktif bir paket geliştirmektir. Bu çalışmanın diğer amaçları ise şu şekilde sıralanabilir:

1) Gıda sanayiinde ambalaj materyali olarak kullanılan kağıt esaslı bazı ambalajlama materyallerini adaçayı ve biberiye ekstraktları ile birleştirmek,

2) Adaçayı ve biberiye ekstraktları ile birleştirilen kağıt esaslı ambalajlama materyallerinin çeşitli mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini belirlemektir.

2. DOĞAL OLARAK ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİĞE SAHİP BİTKİLER

2.1. Adaçayı (*Salvia officinalis*)

Ballıbabagiller familyasında yer alan ***Salvia officinalis***'in 500 kadar türü bulunur. Yaprakları ilk çağlardan beri tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Kurutulmuş yapraklarından gaz söktürücü, uyarıcı, burun ve boğaz hastalıklarında antiseptik olarak yararlanılmaktadır. Yapraklarında %2,5 oranında esansiyel yağ bulunmakta olup yapraklar tuyone, kampor, linalool, 1,8-sineol ve limonin bileşenlerini içerir. Adaçayı esansiyel yağı antiseptik, antibiyotik ve antioksidant aktivitelere sahiptir (Synder,1997; Ötleş, 2001).

Adaçayı esansiyel yağının ***B. subtilis*** ve ***S. aureus*** gibi Gram (+) mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, adaçayının ***B. cereus***, ***B. megaterium***, ***B. subtilis***, ***S. aureus***, ***S. epidermidis*** ve ***V. parahaemolyticus*** üzerinde de antimikrobiyal etkisi vardır (Shelef et al., 1980). Gram (-) bakteriler olan ***S. marcescens*** ve ***E. coli***'ye karşı ise adaçayı esansiyel yağının antimikrobiyal aktivitesinin zayıf olduğu belirlenmiştir (Farağ et al., 1989).

Adaçayı, üreme ortamında mikroorganizmaları inhibe ettiği için kuvvetli baharatlar grubunda sınıflandırmıştır (Synder, 1997). Adaçayı ekstraktının antimikrobiyal aktivitesine ilave olarak antioksidant özellik gösterdiği de tespit edilmiştir (Chang et al., 1977).

2.2. Amerika Elması: Cashew Apple (*Anacardium occidentale*)

Amerika elması içerdığı yüksek C vitamini ve kendine özgü aromasından dolayı cazip bir üründür. Amerika elması, portakaldan 6 kat daha fazla C vitamini içermektedir (Muroi et al., 1993).

Yapılan araştırmalar neticesinde *Anacardium occidentale*'nin sert kabuklu meyvesinin yağından kardanol, kardol ve metilkardoller gibi fenolik bileşikler ayrıştırılmıştır (Himejima and Kubo, 1991). Ayrıştırılan fenolik bileşiklerin 3'ü daha önceden tanımlanmış anakardik asitlerdir. Bu anakardik, asitler Gram (+) bakterilere karşı kuvvetli antibakteriyal ve küflere karşı zayıf antifungal aktivite gösterir (Kubo et al., 1991).

Taze Amerika elmasındaki ana aroma bileşenleri limonin, (E)-2-hekzanal, furfural, α -terpinin, nonanal ve hekzanaldır. Bu aroma bileşenlerinin birkaç tanesi ile yapılan agar difüzyon testleri sonucunda bileşenlerin antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir (Muroi et al.,1993). Test edilen Gram (+) bakteriler arasında en hassas olan mikroorganizma *Pseudomonas acnes* olarak bulunmuştur. *Staphylococcus aureus* ise test edilen Gram (+) bakteriler içinde en az hassas olan bakteri olmuştur. Aroma bileşenlerinden (E)-2-hekzanal, vitamin C ile birleştirildiğinde antioksidant özellik göstermiştir.

Amerika elması içerdığı antimikrobiyal aktiviteye sahip aroma bileşiklerinden dolayı kozmetikler ve dezenfektanlar içinde kullanılmaktadırlar. Ayrıca, yapısındaki aroma bileşiklerinden ürünlere güzel koku sağladığı için katkı maddesi olarak da yararlanılmaktadır (Muroi et al., 1993).

2.3. Ayçiçeği (*Helianthus annuus*)

Ayçiçeğinin sap ve yapraklarında antimikrobiyal bileşikler ve bitki büyüme inhibitörü terpenoidler mevcuttur. *Helianthus annuus*'un hazne ekstraktından antifungal aktiviteye sahip 2-benzopiran türevi bileşik izole edilmiştir (Satoh et al., 1996).

Ayçiçeği haznesinin hekzan ve eter ekstraktları *S. cerevisiae*, *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı toksik etkiye sahip olmalarına rağmen *B. subtilis*'e karşı toksik etkiye sahip değildir. Buna ilaveten ayçiçeği haznesinin hekzan ve eter ekstraktları *Cladosporium herbarum*'a karşı antifungal aktivite de göstermiştir (Satoh et al., 1996).

2.4. Biberiye (*Rosmarinus officinalis*)

Ballıbabagiller familyasında yer alır. Hem biberiye bitkisi hem de ekstraktı antibakteriyel ve antioksidant aktivitelere sahiptir. Biberiye baharatı sahip olduğu antimikrobiyal özellikler dolayısıyla kuvvetli baharatlar grubunda sınıflandırılmıştır (Synder, 1997). Biberiye esansiyel yağı gıda ürünlerinde, parfümlerde, sabunlarda ve kremlerde, saç tonikleri ve şampuanlar gibi kozmetik ürünlerinde kullanılmaktadır.

Biberiye yaprakları %1-2,5 oranında esansiyel yağ içerir. 1,8-sineol, kampil, α -pinen, borneol, bornil asetat biberiye esansiyel yağındaki başlıca bileşenlerdir (Ouattara et al., 1997; Ötleş, 2001).

Biberiye esansiyel yağının yapısında bulunan sineol kuvvetli antimikrobiyal etkiye, rosmarinik asit ise antioksidant aktiviteye sahiptir. Biberiyenin karnosol olarak bilinen bir diğer bileşeninin kanser oluşumunu inhibe ettiği iddia edilmektedir (Ötleş, 2001).

Biberiye esansiyel yağının antibakteriyel etkisi en çok *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. albus* ve *V. cholerae* üzerinedir (Farag et al., 1989; Synder,

1997). Biberiye ekstraktının etlerde bozulmalara sebep olan ***Pseudomonas fluorescens***, ***Serratia liquefaciens***, ***Carynobacterium piscicola*** ve ***Lactobacillus curvatus*** bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir (Ouattara et al., 1997). Tespit edilen güçlü antimikrobiyal etki biberiye ekstraktının yapısında bulunan uçucu bileşenlere bağlanmıştır (Chang et al., 1977).

Biberiye ekstraktının kümes hayvanları etlerine eklendiğinde bakteri sayısını azalttığı belirlenmiştir (Shelef et al., 1980). Ayrıca, biberiyenin listerisidal etkisi de tespit edilmiştir (Pandit and Shelef, 1994).

2.5. Geyikotu: Winter savory (*Satureja montana*)

Winter savory; Güney Avrupa ve Kuzey Afrika'da yabani olarak büyüyen, ballıbabagiller familyasından yaprakları bahar olarak kullanılan fundaya benzer bir geyikotu türüdür. Bu bitkinin esansiyel yağı buhar distilasyonu yöntemiyle elde edilir. Tatlandırıcı olarak gıda sanayiinde, likör yapımında ve parfümlerin içinde koku maddesi olarak kullanılır (Ciani et al., 2000).

Satureja montana'nın esansiyel yağının antibakteriyel özellikleri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu esansiyel yağ, özellikle maya türleri üzerinde antifungal aktiviteye sahiptir (Ciani et al., 2000). ***Satureja montana***'nın esansiyel yağının antimikrobiyal aktivitesi; patojenik, gıdaları bozan ve endüstriyel mayalar gibi çeşitli maya türleri üzerinedir. Antimikrobiyal aktivitenin en fazla görüldüğü maya türleri ***Zygosaccharomyces rouxii***, ***Nadsonia commutata*** ve ***Trichosporan cutaneum***'dur (Ciani et al., 2000).

2.6. Kakule: Cardamon (*Ellattaria cardamonum*)

Çok eski zamanlardan beri kakule gıdalarda baharat olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kakule tohumları, tütüne benzer şekilde çeşitli arap

lkelerindeki çoğu insan tarafından ağızda çiğnenmektedir. Buna bağlı olarak, yapılan araştırmalarda kakule tohumlarının antimikrobiyal özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle diş çürükleri, akne ve kepek gibi diş, deri ve sa problemlerine neden olan mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Kubo et al., 1991).

Buhar distilasyon yöntemiyle kakule tohumlarının n-hekzan ekstraktından elde edilen esansiyel yağında en bol bulunan uçucu bileşikler, 1,8-sineol, α -terpinil asetat, linalool, linalil asetat, geraniol, limonin, α -terpinin, safrol, metilgenol ve genol olarak belirlenmiştir (Kubo et al., 1991).

Kakule tohumu esansiyel yağına Gram (+) bakteriler arasında en az hassas bakteri ***Staphylococcus aureus***, en hassas bakteri ise ***Pseudomonas acnes***'dir. Kakule tohumu esansiyel yağının uçucu bileşikleri, özellikle sabunların içine konulup hem akne oluşumunun azaltılması hem de sabunlara güzel koku vermesi için kullanılmaktadır. Ayrıca, bir sa paraziti olan ***T. mentagrophytes*** gibi dermatomikotik mantarları da kontrol ettiği tespit edilmiştir (Kubo et al., 1991).

2.7. Kekik (*Thymus vulgaris*)

Ballıbabagiller familyasına ait kekik bitkisinin farklı büyüme aşamalarında ekstrakte edilen dört esansiyel yağının kimyasal kompozisyonlarının ve antibakteriyel aktivitelerinin farklı olduğu tespit edilmiştir (Marino et al., 1999). Kekik bitkisinin 4 farklı büyüme aşamasında elde edilen kekik esansiyel yağları içinde 16 farklı antimikrobiyal bileşik tanımlanmıştır. Timol, γ -terpinin ve p-simene esansiyel yağlar içinde en yüksek oranda tespit edilen bileşikler olmuştur. Kekik esansiyel yağının antimikrobiyal etkisinin özellikle Gram (+) mikroorganizmalar üzerinde Gram (-) mikroorganizmalardan daha fazla olduğu gözlenmiştir. Gram (-) bakteriler içinde ***E. coli*** ve ***Y. enterocolitica*** en hassas bakteriler iken Gram (+) bakteriler içinde kekik esansiyel yağlarına en hassas bakteri ***Listeria innocua*** olmuştur (Marino et al., 1999).

2.8. Keklikotu: Yabani Mercanköşk (*Origanum ssp.*)

Labiatae familyasına ait keklikotu karvakrol ve timol gibi fenolik bileşiklerce zengindir (Sivropoulou et al., 1996). Esansiyel yağları bakterilere karşı yüksek seviyelerde antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Karvakrol, timole nazaran daha fazla antifungal ve antioksidant aktiviteye sahiptir. Fakat timol, karvakrol ile karşılaştırıldığında, Gram (-) bakteriler üzerinde karvakrolden daha fazla antimikrobiyal etki gösterir (Sivropoulou et al., 1996).

2.9. Lahana (*Brassica spp.*)

Lahana, içinde fazla miktarda sülfür bileşikleri ihtiva eder. Lahananın içinde bulunan sülfür bileşikleri sarımsakta bulunan antimikrobiyal bir bileşik olan allisin gibi tiyosülfinatlar grubuna üyedir. Lahanada bulunan bu sülfür bileşiklerinden AITC (allil izotiyosiyonat) özellikle mayalara; DMTS (dimetil trisülfid), MMTSO (metil metan tiyosülfonat) ve MMTSO₂ (metil metan tiyosülfonat) bakterilere ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Özellikle MMTSO ve AITC bileşikleri gıdalarda koruyucu olarak kullanılmaktadır (Kyung and Fleming, 1997).

2.10. Mango (*Magifera indica*)

Mango başlıca tropikal ve subtropikal bölgelerde doğal olarak yetişen, Rutales takımının Anacardiaceae familyasının üyesidir. Hint kirazı olarak da bilinir (Kabuki et al., 2000).

Mango tohumun çekirdeği, kakao yağı gibi bir yağ kaynağı olarak da kullanılabilir. Mango tohumu çekirdeğinin taze beyaz peynirin oksidatif kararlılığını arttırdığı tespit edilmiştir (Kabuki et al., 2000).

Mango tohumu çekirdeği ekstraktının çeşitli Gram (+), Gram (-) ve laktik asit bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

(Kabuki et al., 2000). Mango tohumu çekirdeği özellikle ***Staphylococcus aureus***, ***Clostridium perfringens***, ***Campylobacter jejuni***, ***Yersina enterocolitica***, ***Listeria monocytogenes*** ve ***Clostridium botulinum***'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Mango tohumu ekstraktının antimikrobiyal özelliğini veren, yapısında ana bileşen olarak bulunan polifenollerdir (Kabuki et al., 2000).

Mango tohumu ekstraktı özellikle salatalar gibi pişirilmemiş ürünlerin raf ömrünü uzatmak için uygun bir antimikrobiyal maddedir. Mango tohumu ekstraktının dezavantajı ise, Gram (-) bakterilere karşı düşük antimikrobiyal aktivite göstermesidir. Bu nedenle mango tohumu ekstraktı Gram (-) bakterilere karşı genellikle organik asitler gibi diğer antimikrobiyal bileşiklerle beraber kullanılır (Kabuki et al., 2000).

2.11. Nane (*Mentha* sp.)

Mentha pelugium ve ***Mentha spicata*** türlerinden elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bu nane türlerinin esansiyel yağları yüksek konsantrasyonlarda (1/100 dilüsyon) kuvvetli bakterisidal etkiye sahip olup, düşük konsantrasyonlarda (1/1000 dilüsyon) ise doza bağlı olarak antibakteriyal etkileri değişmektedir.

Mentha esansiyel yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalarda genel olarak ***Mentha pelugium*** esansiyel yağının ***Mentha spicata*** esansiyel yağına göre daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Sivropoulou et al., 1995).

2.12. Paraguay Çayı: Mate Tea (*Ilex paraguayensis*)

Paraguay çayı "Yerba mate" olarak da bilinir. Bu çay, ***Ilex paraguayensis***'in kafeince zengin yapraklarından, yeşil çay üretiminde kullanılan metoda benzer bir metotla üretilir. Paraguay çayı karakteristik bir

kokuya sahiptir ve genelde stimölantlar ve acımsı tonikler içinde kullanılır. Yapraklarında kafeinden başka triterpenler ve klorojenik asit türevleri de bulunur (Kubo et al., 1993).

Bu çay fazla miktarlarda devamlı olarak içildiğinde diş çürüklerini azaltıcı etkiye sahiptir. ***Streptococcus mutans*** gibi diş çürüten bakterilerin üzerine etkili olan paraguay çayının, n-hekzan ekstraktının geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Kubo et al., 1991). Paraguay çayı sağlıklı saçlar, deri ve dişler için, kozmetik ürünlerde kullanılmaktadır (Kubo et al., 1993). Paraguay çayının n-hekzan ekstraktında 10 ana bileşik tanımlanmıştır. Bunlar; linalool, α -ionin, β -ionin, α -terpineol, oktanoik asit, geraniol, 1-oktanol, nerolidol, genarilaseton ve ögenoldur (Kubo et al., 1993). Bu bileşiklerin Gram (+) bakterilere karşı oldukça fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları, ancak Gram (-) bakterilere karşı fazla miktarda antimikrobiyal aktivite göstermedikleri gözlenmiştir (Kubo et al., 1993).

2.13. Sarımsak (*Allium sativum*)

Çok eski zamanlardan beri sarımsak dünyanın her tarafında hem bir gıda hem de çeşitli hastalıklar için bir halk ilacı gibi kullanılmaktadır. Son 20 yılda sarımsağın çeşitli yönleriyle incelendiği birçok çalışma yayınlanmıştır. Sarımsak üzerinde yapılan çalışmalar genelde sarımsağın hastalık yapıcı mikroorganizmalar üzerine etkileri, kalp ve kan damarları üzerine olan etkileri (Kardiyovasküler sağlık), antioksidant etkileri ve kanser önleyici potansiyelini kapsamaktadır (Shim and Kyung, 1999).

Sarımsağın antimikrobiyal aktivitesi, yapısında aroma maddesi olarak bulunan allisin maddesine dayanmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucunda sarımsak, mikrobiyal kültürlerin (bakteriler, mantarlar, virüsler ve parazitler) büyümesini bazı güçlü antibiyotiklerden daha etkin olarak durdurabilmektedir (Shim and Kyung, 1999). Sarımsağın distile edilmiş ekstraktı bakterisidal ve bakteriostatik etkiye sahiptir (Marino et al., 1999). Sarımsağın 1:125000

oranında sulandırılmış ekstraktının **Bacillus**, **Staphylococcus**, **Vibrio**, **Streptococcus** ve diğer türlerin çoğalmasını önlediği tespit edilmiştir (Hayashi et al., 1993). Ayrıca, **Candida albicans** mayası ve Batı Amerika'da "Vadi Humması"na neden olan **Coccidioides immitis** küfünün büyümelerini etkin şekilde durdurduğu belirlenmiştir (Shim and Kyung, 1999).

2.14. Şerbetçiotu: Hops (*Humulus lupulus*)

Şerbetçiotu biranın içindeki esansiyel madde olup biraya acı tat verir. Şerbetçiotu bitkisinin reçinesini biraya eklemekteki en önemli sebep, reçinedeki bileşiklerin antimikrobiyal etkiye sahip olmasıdır. Bu antimikrobiyal etkiyi yaratan, şerbetçiotunun reçinesindeki humulon ile lupulon ve onların türevleridir (Sivropoulou et al., 1995). Gram (+) bakteriler üzerinde etkili olan şerbetçiotu mantarlara karşı Gram (+) bakterilerden daha az etkili olup, mayalara etkili değildir. Bu sebepten şerbetçiotu reçinesi bira yapımında bakterilere karşı ideal bir antimikrobiyaldir (Haas and Barsoumian, 1994).

2.15. Turunçgiller (*Citrus* sp.)

Turunçgillerde flavonoid bileşikler bulunmaktadır. Flavonoidler, biyolojik sistemlerde antioksidant gibi hareket eden, benzo- γ -piran ortak yapısını bulunduran polifenolik bileşiklerin bir grubudur. Flavonoidlerin flavanon, flavon, flavonal ve antosiyoninler olmak üzere 4 tipi vardır. Turunçgil türlerinde 60'dan fazla flavonoid tanımlanmıştır. Quercetin ve herperetin flavonoidleri **Herpes simplex**, **Polio**, **Parainfluenza** ve **Syncytial** virüslerinin çoğalmasını ve hastalık yapıcı etkisini önleyici aktiviteye sahiptirler (Garcia et al., 1997).

Portakal kabuğu, primer artık fraksiyon ve portakal esansiyel yağı kaynağıdır. Gıda, ilaç ve kozmetik sanayiinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarla portakal esansiyel yağının büyük ölçüde antifungal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Geniş spektrumlu ticari bir fungusit olan Benomyl (methyl-1- [butylcarbomyl] -2- benzimidazolecarbamate) tarafından

inhibe edilemeyen ***Geotrichum candidum***'a karşı önemli fungisidal aktivite gösteren hekza ve hepta metoksi flavonlar portakal esansiyel yağından ayrıştırılmışlardır (Vargas et al., 1999).

Sonuç olarak, turunçgil türleri kardiyovasküler, antioksidant, antinflamator, antialerjik ve analjesik aktivite özelliklerinin dışında antimikrobiyal özelliğe de sahiptirler (Garcia et al., 1997). Turunçgil esansiyel yağları doğal ve muhtemelen güvenli fungusitler olarak gıdaların muhafazasında kullanılabilirler.

2.16. Zeytin (*Olea europaea*)

Zeytin yaprağının böcek saldırısına karşı doğal olarak dirençli olduğu bilinmektedir. Ayrıca, mikroorganizma saldırılarına karşı zeytin yaprağının birçok kimyasal savunma mekanizmalarına da sahip olduğu bulunmuştur (Kubo, et al., 1995).

Yapılan çalışmalarda zeytin bitkisinin taze meyve ve yapraklarının n-hekzan ekstraktının 200 µg/ml'lık konsantrasyonda geniş bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Taze yeşil zeytin ve ticari zeytin özlerinin de geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Kubo et al., 1991).

Taze yeşil zeytinin n-hekzan ekstraktı, buhar distilasyon yöntemi ile çökelti ve öz fraksiyonlarına ayrılarak elde edilir. Özün, gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi ile yapılan kimyasal analizlerinde belirlenen ana uçucu bileşiklerden en önemlileri ise hekzanal, nonanal, 1-hekzanol, (E) -2-hekzanal ve (E) -2-heptanal gibi aldehit yapısındaki bileşiklerdir. Öz içinde tanımlanmış bu bileşikler bazı maya ve bakteriler üzerinde denenerek antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. Test edilen mikroorganizmalar arasında mantarlar (***T. mentagrophytes*** ve ***P. chrysogenum***) α - β doymamış aldehitlere en hassas mikroorganizmalar olarak bulunmuştur. Gram (-) bakteriler içinde ***P. vulgaris*** en kolay etkilenen bakteri olup, α - β doymamış

aldehitler test edilen tüm Gram (+) (*S. aureus*, *S. mutans* ve *B. subtilis*) bakterilere karşı kuvvetli bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Kubo et al., 1995).

Doğal olarak antimikrobiyal etkiye sahip bitkilerde tespit edilen aktif maddeler ve etkili oldukları mikroorganizmalar Tablo 2.1.' de gösterilmiştir.

3. BİTKİSEL KAYNAKLI ANTİMİKROBİYAL MADDE GRUPLARI VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİK GÖSTEREN BİTKİ (ESANSİYEL YAĞ) BİLEŞENLERİ

Bitkilerin antimikrobiyal bileşenleri bitkinin gövdesinde, saplarında, kökünde, yapraklarında, kabuğunda, çiçeklerinde veya meyvasında bulunmaktadır. Bitkisel kaynaklı antimikrobiyal maddeler fitoaleksinler, izotiyosiyonatlar, alliin veya allisinler ile antosiyaninler ve fenolik bileşiklerdir (Cutter, 2000)

Fitoaleksinlerin düşük molekül ağırlıklı ve geniş spektrumlu antimikrobiyal bileşikler olduğu belirlenmiştir. Fitoaleksinler, bakterilerin hücre zarını bozarak etkilerini göstermektedirler. Fitoaleksinler fasulye, patates, biber, patlıcan, üzüm ve havuç tarafından üretilir (Cutter, 2000).

İzotiyosiyonatlar bitkinin hücre boşluklarında depolanan bileşiklerdir. Bitki dokularının zarar gördüğü ya da bütünlüğünün bozulduğu durumlarda salınırlar. İzotiyosiyonatlar; fenolik bileşikler, difenol oksidaz enzimleri ve quinon inhibitörlerini kapsamaktadırlar. Şalgam, lahana, Brüksel lahanası, karalahana, karnıbahar, kırmızı turp, ıspanak ve su teresinde izotiyosiyonatlar bulunmaktadır (Cutter, 2000).

Alliin veya allisinler sarımsak ya da soğan tarafından üretilmektedirler. Alliin, allisinin öncü maddesidir. Sadece bitki ya da doku bozulduğunda üretilir. Alliin hidrolize olduğunda allisin, pirüvat ve amonyak meydana gelir. Allisin, bakterilerin sülfürit enzimlerini inhibe ederek etkisini göstermektedir (Cutter, 2000).

Antosiyaninler, çiçekler ve meyvalarda bulunmaktadır. Antosiyaninlerin antimikrobiyal aktivitesi metal iyonlarının şelasyonundan dolayı belirli bakteriyel enzimlerin inhibe olmasından kaynaklanmaktadır (Cutter, 2000).

Esansiyel yağlar bitki veya baharatların tat, aroma ve kokularından sorumlu olan bileşiklerdir. Çoğu uçucu esansiyel yağlar, hidrokarbonlar (terpenler, sesquiterpenler, vs.), oksijen içeren bileşikler (alkoller, esterler, aldehitler, ketonlar vs.) ve az miktarda uçucu olmayan katkıların (parafin, mum, vs.), karışımından oluşmaktadır (Ötleş, 2001).

Esansiyel yağların bitkide neden ve nasıl oluştuğu hakkında çeşitli teoriler bulunmaktadır. Bu teorilere göre esansiyel yağlar, böcekleri cezbetmek veya kaçırmak, metabolitlerin atılmasını sağlamak ya da bitkiyi korumak amacıyla oluşabilmektedir (Ötleş, 2001).

Esansiyel yağlar ve bileşenleri çeşitli yiyecek ve içeceklerde mikroorganizmaların büyümesini inhibe eden koruyucular olarak kullanılmaktadırlar (Marino et al., 1999). Esansiyel yağlar genellikle etil alkolde çözünüp, Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı aktivite göstermektedirler. Gram (+) bakteriler, esansiyel yağlara karşı Gram (-) bakterilere oranla daha duyarlıdırlar (Cutter, 2000).

Sarımsak, soğan, tarçın, köri, hardal, karabiber, kekik, yabani mercanköşk, adaçayı, biberiye, anason, fesleğen, şerbetçiotu, kırmızı biber, zerdeçal, defne, kakule, kereviz, yonca, kişnişotu, dereotu, zencefil, karanfil, yenibahar ve kimyon ekstraktları ya da esansiyel yağları antimikrobiyal özellikleri dolayısıyla en çok kullanılmakta olan bitkisel kaynaklı antimikrobiyal maddelerdir. Bu şifalı bitkiler veya baharatlardan elde edilen ekstraktlar ya da esansiyel yağların aktif bileşenleri kromatografik yöntemler kullanılarak belirlenmektedir.

Esansiyel yağların yapısında bulunan fenolik bileşiklerin, esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitesinden sorumlu bileşikler olduğu belirlenmiştir (Synder, 1997; Cutter, 2000). Oleuropein, hidrosinamik asit, sinamik asit, tannin, tannik asit, ögenol, karvakrol, timol gibi fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etkileri kapsamlı olarak çalışılmıştır (Ouattara et al., 1997) Fenolik bileşikler mikroorganizmaların enzimatik süreçlerini bozarak veya hücre zarının geçirgenliğini değiştirerek mikroorganizmaların fizyolojik durumlarına etki ederler (Conner and Beuchat, 1984).

4. BİTKİ EKSTRAKLARININ (ESANSİYEL YAĞLARIN) ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ

Baharatların antimikrobiyal etkileri özellikle esansiyel yağlardan kaynaklanmaktadır (Ötleş, 2001). Esansiyel yağların gıda kaynaklı birçok mikroorganizmaya olan antibakteriyel ve antifungal etkileri yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir.

Gram (-) bakteriler, yağ asitleri ve esansiyel yağların antagonistik etkilerine karşı Gram (+) bakterilerden daha dayanıklıdır. Çünkü Gram (-) bakterilerin hücre duvarları olup bu hücre duvarı lipopolisakkaritlerden yapılmıştır. Gram (-) bakterilerin polisakkaritten yapılan hücre duvarları, esansiyel yağların aktif bileşenlerinin stoplazmik zara ulaşmasını engellemektedir (Ouattara et al., 1997).

Tarçın, karanfil, yenibahar, adaçayı ve biberiye baharatlarının, etlerde bozulmalara sebep olan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiş ve esansiyel yağların inhibisyon etkilerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Esansiyel yağların antibakteriyel özellikleri yapılarında bulunan kolay gaz haline geçebilen bileşenlerin varlığından kaynaklanmaktadır (Ouattara et al., 1997).

Adaçayı ve biberiye ile birlikte çeşitli baharatlardan elde edilen esansiyel yağlar Gram (-) ve Gram (+) bakterilere karşı test edilmiş; baharat ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için agar disk difüzyon metodu kullanılmıştır (Farag et al., 1989). Gram (+) bakterilerin, Gram (-) bakterilere oranla esansiyel yağlara daha duyarlı olduğu tespit edilmiş; esansiyel yağların yapısal bileşenlerinin kimyasal özellikleri ile, araştırılan antimikrobiyal özellikler arasında bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Fenolik OH grubu içeren bileşiklerin antimikrobiyal etkilerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çünkü OH grubu oldukça reaktiftir ve hedef enzimlerin aktif bölgeleri ile kolaylıkla hidrojen bağı oluşturabilmektedir (Farag et al., 1989; Ötleş, 2001).

Sarımsak, soğan, yenibahar, yabani mercanköşk, köri, hardal, karabiber ve kekik esansiyel yağlarının *S. typhimurium*, *V. parahaemolyticus* ve *E. coli*'yi de içine alan gıda bozulmalarına sebep olan çeşitli organizmalara karşı antimikrobiyal etkileri rapor edilmiştir (Shelef et al., 1980).

Hamburger köftesi ve sosislerde %4 oranındaki sarımsak esansiyel yağının bakteriostatik olduğu; *S. typhimurium*, *S. aureus* ve *V. parahaemolyticus*'un kekik, nane ve defne yaprağından hazırlanan tozlar ya da bunların ekstraktları tarafından inhibe edildiği; sedir, ökaliptüs ve papatya esansiyel yağlarının *B. cereus* ve *C. botulinum* sporlarının vegetatif büyümesini inhibe edici özellikte olduğu belirlenmiştir (Marino et al., 1999).

Tarçın, karanfil, sarımsak, yabani mercanköşk, adaçayı ve kekikten elde edilen timol, anethol ve menthol esansiyel yağları gıda patojenlerinin büyümesini inhibe etmektedir. Bu esansiyel yağlar gıdalarda özellikle küflerin büyümesini ve aflatoksin ile kontamasyonu önlemede de kullanılmaktadır (Marino et al., 1999).

Mercanköşkten (*Origanum syriacum*) elde edilen esansiyel yağın *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* ve *Penicillium spp*, büyümesini inhibe ettiği ispatlanmıştır (Daouk et al., 1995).

Zerdeçal, karanfil, Hindistan biberi (tembul) yaprakları ve karabiber yapraklarından elde edilen esansiyel yağların keklerdeki küf üremesini önleyerek keklerin raf ömrünü uzattığı belirlenmiştir. Bu esansiyel yağlar aynı zamanda keklerdeki oksidasyonu da azaltmışlardır (Lean and Mohamed, 1999).

Biberiyeden elde edilen ekstraktın *S. aureus*'a karşı etkili olduğu (Chang et al., 1977); kişnişotu ve karanfil ekstraktlarının vakumlanmış veya dondurulmuş etlerdeki *Aeromonas spp.* miktarını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (Giese, 1994). Adaçayı ekstraktı, tütülenmiş sosislerdeki bakteriyel bozulmayı geciktirerek sosislerin raf ömrünü uzatmıştır (Shelef et al., 1980).

Kimyon ve kekik esansiyel yağları ***Aspergillus parasiticus***'un misel büyümesini önemli ölçüde azaltmakta ve üretilen aflatoksin miktarını düşürmektedir (Daouk et al., 1995). Biberiye ve karanfilin listerisidal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Pandit and Shelef, 1994).

Sarımsak, yenibahar, tarçın, karanfil, soğan, yabani mercanköşk ve kekikten elde edilen esansiyel yağ ekstraktlarının mayalara karşı etkili olduğu; ***A. flavus***, ***A. versicolor*** ve ***A. ochraceus*** mantarlarının büyüme ortamlarına yenibahar baharatı ilave edildiğinde mikotoksin üretiminin tamamen inhibe edildiği görülmüştür (Conner and Beuchat, 1984).

Ön zenginleştirme ortamında yabani mercanköşk bulunan ***Salmonella*** bakterisinin büyümesinin inhibe edildiği; kekik ve yabani mercanköşkün toksigenik ***Aspergillus*** suşlarının üremesini ve aflatoksin oluşumunu inhibe ettiği; yabani mercanköşk, biberiye, adaçayı ve kekiğin antibakteriyel ve antifungal aktivitelere sahip olduğu belirlenmiştir (Zaika et al., 1983).

Çok sayıda baharatın antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Baharatlar antimikrobiyal aktivitelerine göre kuvvetli, orta ve zayıf baharatlar olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 4.1.). Pek çok çalışma ile bu sınıflandırma desteklenmiş olup tarçın, karanfil, hardal, adaçayı ve biberiye'nin çeşitli patojen bakterilere karşı yüksek antimikrobiyal etkiye sahip kuvvetli baharatlar olduğu tespit edilmiştir (Ouattara et al., 1997; Synder, 1997).

Tablo.4.1. Çeşitli Baharatların Karşılaştırılmalı Antimikrobiyal Etkileri

Baharat veya Şifalı Bitkiler	İnhibisyon Etkisi
Tarçın, karanfil, hardal, adaçayı, biberiye	Kuvvetli
Kekik, yabani mercanköşk, yenibahar, defne, kişnişotu, kimyon	Orta
Karabiber, kırmızı biber, zencefil	Zayıf

5. ANTİMİKROBİYAL BİTKİ EKSTRAKTLARI İLE AKTİF GIDA AMBALAJLAMASI

Gıda sanayiinde ambalajlama materyalleri özellikle bariyer sağlamak, gıdaları mikroorganizmaların bulaşmasından korumak, gıdaları olumsuz çevresel faktörlerden muhafaza etmek için kullanılırlar. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar ile ambalaj materyallerine aktif maddeler eklenerek yeni ve ekstra bazı fonksiyonlar kazandırma çalışmaları başlamıştır. Böylece gıdaların kaliteleri ve güvenlikleri artarken raf ömürlerinin uzatılması da mümkün hale gelmiştir.

Aktif ambalajlama teknolojileri; gıda, ambalaj materyali ve iç gaz atmosferi arasında karşılıklı olarak bir etkileşimi içermektedir. Aktif ambalajlama teknolojileri ile ambalaja oksijen tutma, antimikrobiyal aktivite, nem tutma, etanol yayma ve ambalaja etilen tutma gibi ekstra fonksiyonlar kazandırılabilir.

Antimikrobiyal maddeler polimer ile birleştirildiğinde mikrobiyal büyüme sınırlanmakta veya önlenmektedir. Gıdalarda mikrobiyal büyümeyi önlemek için sadece polimer film formları değil, kap ve konteynerler de kullanılabilir (Han, 2000). Gıda ambalajlama materyallerinin sahip oldukları antimikrobiyal aktivite yüzey ışınlama, gaz salınımı veya antimikrobiyal maddelerin ambalaj materyali ile birleştirilmesiyle sağlanmaktadır.

Yüzey ışınlama metotları lazerle uyarılmış materyal, UV'ye maruz kalmış film veya enfraruj yayan seramik tozlar kullanmayı gerektirmektedir (Özdemir et al., 1999; Han, 2000). Bununla birlikte, FDA tarafından gıda ambalajlama materyallerinin ışın ile sterilizasyonuna izin verilmemektedir.

Gaz salınımı ile mayaların büyümesi kontrol edilebilmektedir. Örneğin, çilek ve üzümelerde fungal bozulmayı önlemek için meyveler sülfite muamele işlemini takiben, kutulardaki ot minderler üzerine yerleştirilmekte ve streç filmler ile sarılarak depolanmaktadır (Han, 2000). Ancak sülfite gibi

sterilizasyon gazlarını salıveren ya da içeren materyaller halihazırda ticari olarak bulunmamakla birlikte yakın zamanda ticarileşeceği kuvvetle tahmin edilmektedir.

Antimikrobiyal maddeler ambalaj materyalleri ile birleştirilerek antimikrobiyal aktiviteye sahip gıda ambalajları imal edilebilmektedir. Gıdalar için yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal kimyasallar organik asitler, onların tuzları, sülfidler, nitritler, antibiyotikler ve alkollerdir (Farak et al., 1989). Gıda koruyucusu olarak kullanılan kimyasal koruyucular bazı olumsuzluklara sahiptir. Sülfidler ve nitritler belli konsantrasyonun üzerinde kanserojen etkiye sahip olup kullanımları sınırlıdır. Örneğin, sodyum nitritin ikincil ve tersiyer aminlerle kombinasyonlarının kanserojenik olduğu rapor edilmiştir (Farak et al., 1989; Chang, et al., 1977).

Bahsedilen bu olumsuzluklar nedeniyle antimikrobiyal ambalajlama sistemleri için yenilebilen doğal antimikrobiyal maddeler ambalaj materyalleri ile birlikte kullanılmaya başlanmıştır.

Peyniraltı suyundan izole edilmiş proteinlerden imal edilen ve potasyum sorbat içeren antimikrobiyal aktif filmler, maya ve küf gelişimini geciktirmiştir (Özdemir, 1999; Özdemir ve Floros, 2001).

Antimikrobiyal maddeler olan lizozom ve nisin soya proteini izolatu ve mısır zeyni ile birleştirilerek yenilebilir antimikrobiyal filmler üretilmiştir (Padgett et al., 1998).

Yenilebilen filmler ve kaplamalar, gıda koruyucuları ile imal edilen yenilebilen veya plastik esaslı aktif ambalajlar gelecekte daha güvenli gıdaların üretimini sağlayacaktır (Özdemir, 1999).

Güvenli aktif gıda ambalajlarının oluşturulabilmesi için öncelikli olarak doğal ya da güvenli antimikrobiyal maddelerin elde edilmesi ve bu antimikrobiyal maddelerin uygun ambalaj materyali ile birleştirilmesi gerekmektedir.

Gıdaların raf ömrünü uzatmak ve gıdaların güvenli olarak muhafazasını sağlamak için antimikrobiyal ambalaj materyallerinin gıdalara bulaşmış olan mikroorganizmaların lag periyodunu uzatması ve mikroorganizmanın büyüme oranını azaltması gerekmektedir (Özdemir, 1999; Han, 2000).

Antimikrobiyal ambalajlama sistemlerinde, antimikrobiyal maddenin salınım miktarının kontrolü ve bu antimikrobiyal maddenin gıda içine geçişme oranı aktif ambalaj üretimindeki en önemli parametrelerdir (Han, 2000).

6. GIDA PAKETLEMESİNDE KULLANILAN KAĞIT ESASLI AMBALAJ MATERYALLERİ

6.1. Kraft Kağıdı

Kraft kağıdı genellikle iğne yapraklı yumuşak ağaçlardan, sülfat yöntemi ile elde edilen kağıt hamurundan üretilen sülfat-selüloz oranı yüksek dayanıklı bir kağıt çeşididir. Kraft kağıdı hamuru, kimyasal hidroliz ile hazırlanıp sülfatlama işlemi uygulanır. Gramajı 70-300 g/m² arasındadır ve rengi açık kahverengidir. SO₂ veya O₂ gazı uygulanarak ağartma işlemiyle beyazlaştırılır.

Kraft kağıdının çeşitli tipleri vardır. %100 geri dönüşümlü ikincil elyaftan elde edilen “İmitasyon Kraft Kağıdı (70-90 g/m²)” bakkal ambalaj kağıdı olarak; “Mermerli Kraft (160-200 g/m²)” bisküvi, şekerleme, yaş meyve ve sebze kutularının imalatında kullanılır. “Kraft Torba Kağıdı (70-100 g/m²)” toplam elyaf miktarının %80’den fazlası kimyasal sülfat işlemiyle elde edilen dayanıklılığı ve hava geçirgenliği yüksek bir kraft kağıt çeşidi olup, özellikle torbapoşet imalatında ve günlük alışverişlerde ambalaj kağıdı olarak kullanılır. Bir diğer tip kraft kağıdı ise, özellikle oluklu mukavva kutu sanayinde vazgeçilemeyen “Kraft Liner”dir. Kraft liner çoğunlukla uzun elyafli odun selülozundan, 125-200 g/m² gramajlarda üretilir.

6.2. Taklit Kraft Kağıdı

Taklit kraft kağıdı genellikle sülfat kraft hamuruyla, artık (kırpıntı) kağıt hamuru karışımından yapılır. Sülfat selüloz oranı düşük, dayanıklılığı fazla olmayan bir kağıttır. Kraft kağıdı kadar dayanıklı olmamakla beraber, ucuz olması nedeniyle, kraft kağıdı yerine kullanılır.

6.3. Sülfite Kağıdı

Sülfite kağıdı genellikle yumuşak ve sert ağaç karışımından yapılan, gramajı 35-300 g/m² arasında değişen, sülfite selüloz oranı yüksek, orta dayanıklılıkta, ağartılmış bir kağıt çeşididir. Üzerine mükemmel baskı yapılabilme özelliğine sahiptir. Daha çok küçük torba ve poşet yapımında, etiket olarak ve folyo laminasyonlarında kullanılır.

6.4. Parşömen Kağıdı (Pergament)

Parşömen kağıdına deriye benzemesinden dolayı bu ad verilmiştir. Gerçek parşömen kağıdı saf selüloz hamurundan elde edilir. Parşömenleme denilen ek bir işlem uygulanarak kağıt eldesi gerçekleşir. Genellikle "Bitkisel Parşömen" olarak adlandırılır. Bir metre karesinin ağırlığı 40-75 gram arasındadır. Ancak 370 g/m²'ye kadar olanlarını üretmek de mümkündür. Saf sülfite selüloz kağıdının derişik sülfürik asit veya çinko klorür çözeltisi ile muamele edilmesiyle elde edilir. Bu amaçla ham parşömen kağıdı kısa bir süre sülfürik asit çözeltisi içine daldırılır. Bu işlem sırasında lifler şişip kabarır. Daha sonra hemen yıkanır, nötralize edilir ve seyreltik gliserin çözeltisiyle muamele edilerek kağıdın yumuşaması sağlanır.

Parşömen kağıtlar kokusuz, tatsız, yağ ve suya dayanıklı, saf selüloz kağıtlardır. En önemli özelliği suya dayanıklı olmasıdır. Islandığında bir kumaş parçası gibi dağılmadan kalabilir. Sıcak su, salamura, asitler, alkaliler ve bunların tuzları bitkisel parşömeni etkilemezler.

Bitkisel parşömen aynı zamanda yağ geçirmezlik özelliği bakımından da üstündür. Ayrıca, içine konulan gıda maddelerinin solunum yapmalarına da olanak sağlar. Parşömen kağıdı, sargılık kağıt olarak kullanılabildiği gibi, torba ve benzer ambalajlara da dönüştürülebilir ve üzerine baskı yapılabilir. Yağlı bisküvi ve diğer unlu mamuller, tereyağı, margarin, peynir, taze ve tütülenmiş veya kızartılmış balık, kırmızı ve beyaz et ambalajlanmasında geniş ölçüde kullanılır. Çay ve kahve ambalajları için de sargılık olarak yararlanılır.

6.5. Şeffaf Parşömen (Pergamin)

Şeffaf parşömen pürüzsüz tam veya yarı saydam bir kağıt türüdür. Günümüzde şeffaf parşömen yapımı için sülfite, doğal sülfite ve kraft kağıdı pulpları kullanılmaktadır.

Bu kağıtlar, hem yağlı hem de tat ve kokunun korunması gereken maddelerin ambalajlanmasında başarıyla kullanılırlar. Ayrıca, dayanıklılıkları fazla olduğu için, otomatik ambalajlama makinelerinde kolaylıkla kullanılabilirler. Bu kağıdın diğer bir özelliği de, mumlanabilmesi ve başka materyallerle bir arada kullanılabilmesidir.

Farklı gramaj ve parlaklık derecesinde üretilebilirler. Özel bir işlem uygulanmamış şeffaf parşömenler, neme tam olarak dayanıklı değildir. Neme dayanım özelliğinin iyileştirilebilmesi için yüzeyin kaplanması gereklidir. Bu açıdan iyi sonuç veren yöntemlerden birisi, iki kat şeffaf parşömenin mikrokristalin mumlar veya diğer lamine edicilerle kaplanmasıdır. Mumlanmış şeffaf parşömen, mükemmel bir esnekliğe ve şekil verilebilme özelliğine sahip olmaktadır.

6.6. Taklit Parşömen (Oleofob Kağıt)

Yağ geçirmez kağıt (oleofob kağıt) da denilen taklit parşömen, kağıt hamurunun uzun süre dövülüp ince liflere ayrılarak hidrolize edilmesiyle elde edilir. Bitkisel parşömen kağıdına göre; özellikle beyazlık, dayanıklılık ve yağ geçirmezlik açılarından daha düşük kalitededir. Çoğunlukla bitkisel parşömen yerine kullanılan bu kağıtların parşömenden farkı, kaynar suya atılarak bulunur. Yağ geçirmez kağıt, kaynar suda kısa sürede yumuşar ve çekildiğinde lifler halinde ayrılır. Oysa parşömen kağıdı, aynı koşullarda dağılmaz ve yırtıldığında lifli bir yapı göstermez .

Gramajları 40-150 g/m² arasında değişen yağ geçirmez taklit parşömen kağıtlar; et, sosis, salam gibi yüksek oranda yağ içeren gıdaların, tereyağı ve

margarinlerin, ayrıca kokunun muhafazasına da olanak verdiğiinden, kahve, hazır çorba ve benzerlerinin ve nem geçirmez özelliği olduğundan, hem yağ hem de su oranı yüksek gıdaların ambalajlanmasında kullanılırlar. Bu tip kağıtlar; karton, alüminyum folyo, kraft kağıdı ve plastik filmlerle de lamine edilerek, gıda sanayinin çeşitli dallarında geniş kullanım alanına sahiptir.

6.7. Hutpak Kağıdı

Gramajı en düşük kağıt tiplerinden biridir. Gramajı 20-50 g/m² arasında değişir. Özellikle turunçgil meyvalarının ve şekerlemelerin ambalajlanmasında kullanılır.

6.8. Neme Dayanıklı Kağıtlar (Hidrofob Kağıt)

Bu tip kağıtlar, tamamen ıslandıklarında bile, kuru haldeki dayanıklılığının yaklaşık %30'unu koruyabilen kağıtlardır. Kağıt hamuruna veya selüloz hamuruna melatinformaldehit veya aminoformaldehit gibi formaldehitli bileşikler katılarak ıslanmaya karşı dayanımları arttırılır. Hidrofob özelliği kromstereat katılarak kazandırılır. Nemli koşullarda uzun süre özelliklerini koruyabildiklerinden, özellikle balık ve etlerin ambalajlanmasında kullanılırlar.

6.9. İpek Kağıtlar

Metrekare ağırlıkları ortalama 20 g civarında olan ipek kağıtlar, kolaylıkla bükülebilir ve hava geçirgenliği çok yüksek olan malzemelerdir. Özellikle, limon, portakal, mandalina gibi ürünler için sargılık olarak kullanılırlar.

6.10. Vaks Kaplanmış Kağıtlar

Genelde parafin veya vaks emdirilmiş ya da parafin veya vaks ile kaplanmış kağıtlardır. Emdirme işlemi; kağıdın önce farklı nitelikteki vaks

veya parafin banyolarından, sonra iki sıkıştırıcı merdaneden geçirilip, soğutma silindirlere yönlendirilmesiyle gerçekleştirilir.

Emdirilen maddenin kağıda nüfuz etme (girme) derinliği, sıcaklığa ve işlemin hızına bağlıdır. Bu tür kağıtlar, su geçirmez niteliktedir; fakat su buharı geçirgenlikleri yüksektir. Buna karşın yüzeyleri parafin filmi ile kaplanmış kağıtlar ise, son derece iyi su ve su buharı geçirmezlik özelliğine sahip kağıtlardır. Ancak daha iyi bir koruma sağlamak, özellikle su buharı, koku ve yağ geçirmezlik niteliklerini iyileştirmek amacıyla; bu kağıtlara erime noktası 55-80 °C derece olan mikrokristalin vakslar, poliizobutilen, doğal ve yapay reçineler, bütül kauçuk, polietilen ve diğer polimerler ilave edilmektedir. Nitekim sıcak ülkelerde, yapışma tehlikesini önleyebilmek için mum kaplamalarda bu tür değişiklikler gerekli olmaktadır.

Modifiye edilmiş parafinle kaplanarak, su ve yağa dayanımı arttırılmış, su buharı ve gaz geçirmezliği iyileştirilmiş, ısı yapışabilme niteliği yükseltilmiş, parlaklık ve esneklik kazandırılan kağıtlar, gıda sanayinde yağ, peynir, et, balık, şekerlemeler, hububat ürünleri ve tuz gibi çeşitli gıdaların ambalajlanmasında sargılık kağıt olarak kullanılırlar. "Hotmelt Mumlanmış Kağıtlar" olarak tanımlanan bu tip kağıtlar; iyi katlanabilirlik, katlamada büküm yerlerinin geçirmezlik bakımından fazla olumsuz etkilenmemesi, düşük sıcaklık derecelerinde bile (80 °C'den itibaren) ısı yapışabilme, yapışma sonrası çabuk sertleşme ve koku sorununun olmaması gibi olumlu özelliklere sahiptirler. Ancak bunlar, nem ve kimyasal maddelere karşı duyarlı olup, yağlara karşı dayanımları azdır.

6.11. Plastik Kaplanmış Kağıtlar

Kağıdı plastiklerle kaplamanın asıl amacı, ona istenilen düzeyde geçirmezlik ve ısı yapışma özelliği kazandırmaktır. Bu amaçla kullanılan en önemli materyaller; düşük yoğunluklu polietilen (LDPE), polivinilidien klorür (PVDC), değişik oranlarda plastiklerle karıştırılmış mumlar (Hotmelt ve ısı yapışma yapabilen mumlar), lateks karışımlar (soğuk yapışabilen

materyaller) ve alüminyum folyodur. Plastik kaplanmış kağıtlardan genellikle torba ve poşet olarak, ayrıca karton kutu ambalajlarda torba halinde iç ambalaj olarak yararlanılır.

Kağıdın polietilen (LDPE) ile kaplanması işlemi ekstruzyon yöntemiyle gerçekleştirilir. Yaklaşık 40 µm kalınlığındaki bir LDPE katmanıyla kaplanmış kağıtlar 23 °C sıcaklıkta %85 bağıl nemde 3 g/m²/gün su buharı geçirgenliği göstermektedir. LDPE ile kağıt arasındaki birleşme korona ön işlemiyle veya yapıştırıcı aracılığıyla iyileştirebilmektedir. Polietilen kaplanmış ipek kağıtlar, özellikle nemli ve az yağlı gıdaların ambalajlanmasında kullanılırlar.

7. MATERİYAL VE METOT

7.1. Materyal

7.1.1. Ambalaj Materyalleri

Ağartılmış Kraft Kağıdı Estetik Kağıt A.Ş. (İstanbul), **Kraft Torba Kağıdı** ve **Taklit Parşömen Kağıdı** Papirus Kağıt A.Ş. (İstanbul), **Mumlu Kağıt** ise Anadolu Et Mamülleri Gıda San. ve Tic. A.Ş. 'den (İstanbul) temin edilmiştir.

7.1.2. Antimikrobiyal Bitki Ekstraktları (Esansiyel Yağlar)

Antimikrobiyal bitki ekstraktları olarak Adaçayı (***Salvia officinalis***) ve biberiye (***Rosmarinus officinalis***) ekstraktları kullanılmıştır. Bu ekstraktlar Aromsa Besin Aroma Katkı Maddeleri San. Tic. Ltd. Şti.'den (İstanbul) steril olarak temin edilmişlerdir.

7.1.3. Mikroorganizmalar

Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarında stok kültür olarak bulundurulan 2 Gram (+) (***Staphylococcus aureus***, ATCC 29213; ***Bacillus subtilis***, ATCC 6633), 2 Gram (-) (***Pseudomonas aeruginosa***, ATCC 9027, ***Escherichia coli*** ATCC 25922) ve 1 maya (***Candida utilis***, Kuen 1051) suşu kullanılmıştır.

7.1.3.1. *Staphylococcus aureus*

Fakültatif anaerobik, spor oluşturmayan, Gram (+), mikroskop altında üzüm salkımı şeklinde gözlenen bakterilerdir. Isıya dayanıklı toksin oluştururlar. Bakteri ısıl işleme (66 °C sıcaklıkta 10 dakika) kolaylıkla yok edilirken, ürettiği toksin 100 °C sıcaklıkta 30 dakika aktivitesini koruyabilmektedir.

Gıdalarda **S. aureus** sayısı 10^5 /g'ın üzerine çıktığında toksin riski oluşmaktadır. Kusma, mide krampları, ishal ve karın ağrısı şeklindeki zehirlenme belirtileri 2-6 saat arasında ortaya çıkmakta, 6-24 saat sürmektedir. İnsanların %70'inin boğaz ve burunlarında **S. aureus** bulunduğu, buradan kolaylıkla özellikle eller olmak üzere cilde bulaştığı bilinmektedir.

Gıdalara, genellikle çalışan personel vasıtasıyla (eller, öksürme, hapşıрма vb. yollarla) geçebilmektedir. Gıda zehirlenmesine neden olan gıdalar arasında soğuk etler ve diğer et yemekleri, sütlü tatlılar, kekler ve krema ilk sıralarda yer almaktadır.

7.1.3.2. **Bacillus subtilis**

Aerobik, çomak şeklinde, kamçılara sahip, hareketli, Gram (+) ve spor oluşturabilen mikroorganizmalardır. **Bacillus** genusunun tip türü olan **B. subtilis** toprakta çokça bulunmaktadır. Subtilin adı verilen antibiyotiği üretmektedir. Saprofittir ve jelatini kolayca sıvılaştırabilir. Proteolitik aktiviteye sahip oldukları için özellikle etlerde ve sütte gıda bozulmalarına sebep olmaktadır.

7.1.3.3. **Pseudomonas aeruginosa**

Aerobik, kamçılı, ince uzun, hareketli ve spor oluşturmeyen Gram (-) mikroorganizmalardır. Genellikle tek hücre halinde görülürler. Bazen üreme sırasında birkaç hücre bitişik olarak kısa zincirler teşkil edebilmektedir. Süt içinde kolayca üreme yeteneğine sahip olup, sütün pıhtılaşmasına ve çıkardığı pigmentten dolayı yeşil renk almasına sebep olmaktadır. **P. aeruginosa** proteolitik aktiviteye sahip olduğundan etlerde de önemli bozulmalara yol açmaktadır.

7.1.3.4. *Escherichia coli*

Fakültatif anaerob, kısa çomak şeklinde, Gram (-) ve spor oluşturmayan bakterilerdir. Safra tuzu içeren besiyerlerinde fermentasyon yoluyla laktozdan 37 °C sıcaklıkta 24-48 saatte asit ve gaz oluşturan koliform bakterileri, fekal koliform (bağırsak kaynaklı) grubunun en önemli üyesidir.

Fekal koliformları, koliformlardan ayıran en önemli özellik; laktozu 44,5 °C sıcaklıkta asit ve gaz oluşturarak fermente etmeleridir. Koliform bakteriler, genellikle gıdalarda enterik patojenlerin bulunma olasılığının, ayrıca işletmenin hijyen ve sanitasyon koşullarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadırlar.

7.1.3.5. *Candida utilis*

Ascomyctes sınıfında yer alan, yalancı miselyumlar meydana getirerek ya da tomurcuklanarak üreyen mayalardır. Eşeyli sporlar oluşturmazlar. Toprakta ve havada serbest olarak bulunabildikleri gibi çeşitli bitki ve hayvanlarda parazit olarak da yaşayabilirler. Proteolitik aktiviteye sahip olduklarından et ürünlerinde ve balıklarda bozulmalara sebep olabilirler.

7.2. Metot

Adaçayı ve biberiye esansiyel yağlarının gıdalarda çeşitli bozulmalara sebep olan *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *C. utilis*'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri disk-agar difüzyon metodu kullanılarak test edilmiştir. Kağıt esaslı ambalaj materyalleri 2,4 cm çapında disk şeklinde kesilmiş ve diskler otoklavda (Hirayama, model HVE-50, Japan) 121°C sıcaklıkta 15 dakika süre ile sterilize edilerek kullanılmıştır.

Bakteri suşlarının ve mayanın seyreltme dilüsyonlarını hazırlamak için tamponlanmış peptonlu su (Oxoid Ltd., Hampshire, UK) kullanılmış ve desimal seyreltme metodu uygulanmıştır.

7.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

Bakteri suşları +4 °C sıcaklıktaki buzdolabında (Beko, model BK 8852 C, Türkiye) yatık nutrient agarda (Oxoid Ltd., Hampshire, UK) stoklanan ana kültürden öze yardımıyla alınarak, tamponlanmış peptonlu su içerisinde 24 saat 37 °C sıcaklıktaki etüvde (Heraeus, B6 typ, model D-63450, Germany) inkübe edilmişlerdir.

Maya suşu ise yatık malt ekstrakt agardaki (Oxoid Ltd., Hampshire, UK) stok kültürden alınarak tamponlanmış peptonlu su içine ekilip 24 saat boyunca 25 °C sıcaklıktaki çalkalamalı kültürde inkübe edilmiştir.

Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için, ekimi yapılacak mikroorganizma kültürlerinin uygun dilüsyonlarının tespiti gerekmektedir. Uygun mikroorganizma dilüsyonunun tespiti için desimal seyreltme yöntemiyle 10^{-1} dilüsyondan 10^{-6} dilüsyona kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. Dilüsyonlar kullanılarak mikroorganizma ekimleri yapılmıştır. 10^{-3} dilüsyonu ortamdaki mikroorganizma yoğunluğu bakımından ve antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesi amacıyla zon çapının ölçülebilmesi için en uygun dilüsyon olarak tespit edilmiştir.

Ambalaj materyallerinin bitki ekstraktlarını emebilmeleri için bir süre ekstraktlar içinde bekletilmeleri gerekir. Adaçayı ve biberiye ekstraktları içinde antimikrobiyal özelliğe sahip buharlaşabilen bileşikler bulunmaktadır. Bu bileşiklerin buharlaşmasını engellemek amacıyla bekletme süresinin bileşiklerin buharlaşmasına izin vermeyecek şekilde ayarlanması gerekir. Bu amaçla 5 dakikadan başlayan sürelerle 30 dakikaya kadar antimikrobiyal maddeler içinde kağıt esaslı ambalaj materyalleri bekletilmiştir. Gaz kromatografi (Perkin Elmer, Auto System XL, USA) cihazı ile yapılan denemelerde 30 dakika üzerindeki bekletme sürelerinde ekstraktlar içindeki bazı antimikrobiyal bileşiklerin oranının azaldığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda kağıt ambalaj materyali üretimi yapan tesislerde ambalaj materyallerinin antimikrobiyal ekstraktlar içinde fazlaca bekletilmeleri ticari olarak da uygun değildir. Bu sebeplerden dolayı kağıt esaslı ambalaj

materyallerinin ekstraktlar içindeki bekletme süresi maksimum 30 dakika ile sınırlandırılmıştır.

7.2.2. Uygulama

10^{-3} 'lük bakteri süspansiyonundan 100 μ l numune alınıp, steril drigalski spatülü kullanılarak, yayma plaka yöntemiyle, nutrient agara ekim yapılmıştır. **C. utilis** mayasının da 10^{-3} 'lük dilüsyonundan 100 μ l kullanılarak malt ekstrakt agara, aynı yöntemle ekim yapılmıştır.

30 dakika süreyle adaçayı ve biberiye ekstraktlarında bekletilmiş olan ambalaj materyallerinden hazırlanan 2,4 cm çapındaki diskler, kurutma kağıdı yardımıyla kurutularak petri kaplarının ortalarına kapatılmışlardır.

Adaçayı ve biberiye ekstraktında bekletilen her kağıt türü için ayrı ayrı 3 paralelli ekim yapılmıştır. Her seri için bir de kontrol petrisi hazırlanmıştır. Ayrıca, her seride antimikrobiyal maddede bekletilmemiş boş kağıt, paketlenmemiş gıda ya da klasik paketleme materyali ile paketlenmiş gıdayı temsilen mikroorganizma ekilmiş petri kaplarına yerleştirilmiştir. Bakteri ekilmiş olan tüm petriler 37 °C sıcaklıktaki etüve konulmuş ve 60 saat inkübe edilerek büyüme miktarları her 12 saatte bir değerlendirilmiştir.

C. utilis ise mayaların optimum büyüme sıcaklığı olan 25 °C sıcaklıktaki etüve konulmuş ve 60 saat süreyle inkübe edilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek için büyüme miktarları 12 saatte bir değerlendirilmiştir.

7.3. Mikrobiyal Büyümenin Ölçümü ve Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi

Adaçayı veya biberiye ekstraktında bekletilen disk şeklindeki ambalaj materyalinin petriler içerisinde oluşturdukları inhibisyon zonları milimetrik kağıt kullanılarak ölçülmüştür. Disk etrafında oluşan inhibisyon zonu bakteri

gelişiminin engellendiğini göstermekte olup, inhibisyon zonunun büyük olması antimikrobiyal madde emdirilmiş ambalajın mikroorganizmaya karşı etkisinin fazla olduğunu ifade etmektedir.

Inhibisyon zon ölçümleri her 12 saatte bir tekrarlanarak 3 paralelli ekimlerin her birinin inhibisyon zon ortalaması değerleri ve bu değerlerin standart sapmaları hesaplanmıştır. Bu sonuçlar kullanılarak mikroorganizmaların (*S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. utilis*) hangi bitki ekstraktını taşıyan ambalaj materyallerine karşı daha duyarlı oldukları belirlenmiştir.

7.4. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler SPSS (SPSS Inc. Versiyon 10.0.1, 1999, Illinois, USA) programı içerisinde yer alan Post Hoc/Anova ile değerlendirilerek istatistiksel analizi yapılmıştır.

8. SONUÇLAR

Oluşturulan kağıt esaslı aktif ambalaj materyalleri *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *C. utilis* üzerine farklı etkiler göstermişlerdir. Bitki ekstraktı emdirilen disk şeklindeki ambalaj materyalleri mikroorganizma ekilmiş petri kaplarına yerleştirilerek 60 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petri kaplarındaki diskler etrafında inhibisyon zonu gözlenmiştir. İnhibisyon zonları lag fazının uzatılıp bakteri gelişiminin engellendiğini göstermektedir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt diskler, *S. aureus* bakterisinin lag fazını 12 inci saate kadar geciktirmiştir (Tablo 8.1). Diskler etrafında 12 saat süreyle hiç üreme meydana gelmemişken, 12 inci saatten itibaren üreme başlamış ve 6,32 mm inhibisyon zonu oluşmuştur. Bu değer, bakteri gelişiminin kuvvetli bir şekilde engellendiğini göstermektedir. Bununla birlikte 24 üncü saatte inhibisyon zonu 3,75 mm'ye, 36 ıncı saatte 2,72 mm'ye, 48 inci saatte 1,69 mm'ye kadar düşmüştür. 60 ıncı saatte ise zon çapı 0,84 mm olarak ölçülmüştür (Tablo 8.1.). Bu sonuçlar, *S. aureus* bakterisinin zamanla ortama uyumunu arttırmakta ve üremekte olduğunu göstermektedir. Ancak, bu üreme logaritmik şekilde sürekli ve hızlı değil, tersine gecikerek gerçekleşmektedir.

Tablo 8.1. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Mumlu Kağıdın Antimikrobiyal Etkisi

İnkübasyon Zamanı	İnhibisyon Zonu (mm)				
Saat	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. utilis</i>
0	0 a*	0 a	0 a	0 a	0 a
12	6,32 $\pm$ 0,20b	5,33 $\pm$ 0,13b	4,09 $\pm$ 0,17b	0,21 $\pm$ 0,06b	0 a
24	3,75 $\pm$ 0,23c	3,89 $\pm$ 0,12c	1,09 $\pm$ 0,13c	0,14 $\pm$ 0,02c	0 a
36	2,72 $\pm$ 0,22d	2,27 $\pm$ 0,14d	0,25 $\pm$ 0,08d	0,07 $\pm$ 0d	9,00 $\pm$ 0,15b
48	1,69 $\pm$ 0,16e	0,93 $\pm$ 0,09e	0 a	0 a	5,20 $\pm$ 0,14c
60	0,84 $\pm$ 0,11f	0,17 $\pm$ 0,03a	0 a	0 a	2,95 $\pm$ 0,13d

* a-f: Aynı kolonda yer alan değerler arasında $p \leq 0,05$ seviyesinde anlamlı bir değişiklik olduğunu göstermektedir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt disksler **B. subtilis** bakterisinin lag fazını 12 inci saate kadar geciktirmiştir (Tablo 8.1.). 12 inci saatte başlayan bakteri üremesi sırasında 5,33 mm inhibisyon zonu oluşmuştur. Bu değer, bakteriye karşı oldukça güçlü bir bakteriostatik etkiyi göstermektedir. İnhibisyon zonu 24 üncü saatte 3,89 mm, 36 ıncı saatte 2,27 mm, 48 inci saatte 0,93 mm ve 60 ıncı saatte 0,17 mm olarak ölçülmüştür (Tablo 8.1.). Bu veriler, **B. subtilis**'in adaçayı ekstraktı içeren mumlu kağıda **S. aureus**'tan daha az hassas olduğunu göstermiştir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt diskler **P. aeruginosa** bakterisinin üremesini de 12 inci saate kadar geciktirmiştir. 12 inci saatten itibaren başlayan üreme sırasında 4,09 mm inhibisyon zonu oluşmuştur. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 1,09 mm'ye, 36 ıncı saatte ise 0,25 mm'ye kadar gerilemiştir. 48 inci saatte ise bakteri gelişimi kağıt disk sınırına ulaşarak inhibisyon zonu kaybolmuştur (Tablo 8.1.).

E. coli bakterisinin lag fazı, adaçayı ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt diskler tarafından 12 inci saate kadar geciktirilmiş, 12 inci saatte ise 0,21 mm inhibisyon zonu oluşturarak üreme meydana gelmiştir. Bu sonuç, bakterinin antimikrobiyal özellik kazandırılan ambalajdan çok fazla etkilenmediğini göstermektedir. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 0,14 mm ve 36 ıncı saatte ise 0,07 mm'ye kadar gerilemiş, 48 inci saatte ise kağıt diske kadar ulaşarak inhibisyon zonu kaybolmuştur (Tablo 8.1.). **P. aeruginosa** ve **E. coli** 'den adaçayı ekstraktı içeren mumlu kağıda, **P. aeruginosa**'nın daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt diskler **C. utilis** mayasının lag fazını 36 ıncı saate kadar geciktirmiştir. 36 ıncı saatte meydana gelen üreme sırasında inhibisyon zonu 9,00 mm olarak ölçülmüştür. Bu da, antimikrobiyal özellik kazandırılan ambalajın **C. utilis** 'e karşı etkili olduğunu ve üremeyi azalttığını göstermektedir. 48 inci saatte inhibisyon zonu 5,20 mm, 60 ıncı saatte 2,95 mm olarak ölçülmüştür (Tablo 8.1.).

Elde edilen sonuçlar, adaçayı ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt disklerin (Resim 8.1.) inhibisyon zonu ölçümleri sonucuna göre en etkili olduğu mikroorganizmanın **C. utilis** mayası olduğunu göstermiştir. Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt diskler etrafında meydana gelen inhibisyon zonu, adaçayı ekstraktı ile birleştirilmeyen mumlu kağıt diskler (Resim 8.2) etrafında gözlenmemiştir.

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt disklerin, **S. aureus**'un lag fazını 12 inci saate kadar geciktirdiği ve 12 inci saatte meydana gelen üremenin 11,65 mm'lik inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir. Bu değer, antimikrobiyal özellik kazanan ambalajın **S. aureus** bakterisinin üremesini çok yoğun bir şekilde engellediğini göstermektedir. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 6,40 mm, 36 ıncı saatte 3,35 mm, 48 inci saatte 2,23 mm ve 60 ıncı saatte 1,30 mm' ye kadar düşmüştür (Tablo 8.2.).

Tablo 8.2. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Mumlu Kağıdın Antimikrobiyal Etkisi

İnkübasyon Zamanı	İnhibisyon Zonu (mm)				
	S. aureus	B. subtilis	P. aeruginosa	E. coli	C. utilis
0	0 a*	0 a	0 a	0 a	0 a
12	11,65 $\pm$ 0,57b	5,72 $\pm$ 0,25b	4,55 $\pm$ 0,27b	0,50 $\pm$ 0,03b	0 a
24	6,40 $\pm$ 0,32c	4,54 $\pm$ 0,32c	1,46 $\pm$ 0,11c	0,20 $\pm$ 0,03c	0 a
36	3,35 $\pm$ 0,15d	2,90 $\pm$ 0,40d	0,43 $\pm$ 0,11d	0,08 $\pm$ 0,02d	9,55 $\pm$ 0,15b
48	2,23 $\pm$ 0,13e	1,50 $\pm$ 0,30e	0,07 $\pm$ 0,02a	0 a	5,12 $\pm$ 0,07c
60	1,30 $\pm$ 0,10f	0,35 $\pm$ 0,06a	0 a	0 a	3,14 $\pm$ 0,15d

* a-f: Aynı kolonda yer alan değerler arasında $p \leq 0,05$ seviyesinde anlamlı bir değişiklik olduğunu göstermektedir.

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt diskler **B. subtilis**'in lag fazını 12 inci saate kadar uzatmıştır. 12 inci saatte üreme sırasında 5,72 mm inhibisyon zonu meydana gelmiştir. Bu değer, biberiye ekstraktı içeren mumlu kağıtların **B. subtilis** bakterisinin üremesini kuvvetli olarak engellediğini göstermiştir. İnhibisyon zonu 24 üncü saatte 4,54 mm, 36 ıncı saatte 2,90 mm, 48 inci saatte 1,50 mm ve 60 ıncı saatte 0,35 mm olarak ölçülmüştür (Tablo 8.2.). Gram (+) olan, **S. aureus** ve **B. subtilis**'ten biberiye

ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıda daha az duyarlı olan mikroorganizmanın **B. subtilis** olduğu tespit edilmiştir.

P. aeruginosa bakterisinin lag fazı, biberiye ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt diskler tarafından 12 inci saate kadar uzatılmıştır. 12 inci saat itibariyle başlayan üremenin inhibisyon zonu 4,55 mm olarak ölçülmüştür. Bu değer bakteriye karşı antimikrobiyal aktivitenin yüksek olduğunu göstermektedir. 24 üncü saatte zon çapı 1,46 mm, 36 ıncı saatte 0,43 mm ve 48 inci saatte 0,07 mm' ye kadar gerilemiştir. 60 ıncı saatte ise inhibisyon zonu kaybolmuştur (Tablo 8.2.).

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt diskler **E. coli** bakterisinin lag fazını da 12 inci saate kadar geciktirmiştir. 12 inci saatten itibaren başlayan üreme sırasında ölçülen zon çapı 0,50 mm'dir. Bu değer antimikrobiyal özellikli ambalajın **E. coli**'nin üremesini fazla etkilemediğini göstermektedir. 24 üncü saatte zon çapı 0,20 mm ve 36 ıncı saatte 0,08 mm olarak ölçülmüştür. 48 inci saatten sonra ise inhibisyon zonu kaybolmuştur (Tablo 8.2.). Gram olan (-) **E. coli** ve **P. aeruginosa** bakterilerinden, **P. aeruginosa**'nın biberiye ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıda daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt diskler, **C. utilis** mayasının lag fazını 36 ıncı saate kadar geciktirmiştir. 36 ıncı saatten itibaren başlayan üreme sırasında 9,55 mm inhibisyon zonu oluşmuştur. Bu değer, antimikrobiyal özellik kazandırılan ambalajın, **C. utilis** mayasının gelişimini önemli ölçüde engellediğini göstermiştir. 48 inci saatten itibaren inhibisyon zonu 5,12 mm ve 60 ıncı saatten sonra 3,14 mm'ye kadar düşmüştür (Tablo 8.2.).

Bu sonuçlar, biberiye ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt disklerin en etkili olduğu mikroorganizmanın **S. aureus** olduğunu göstermiştir. Biberiye ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt disklerin **S. aureus** üzerindeki antimikrobiyal etkisi (Resim 8.3), biberiye ekstraktı ile birleştirilmemiş mumlu kağıt disklerle (Resim 8.4.) karşılaştırıldığında açıkça görülmektedir. Diskler

etrafında meydana gelen inhibisyon zonu, biberiye ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıdın **S. aureus** bakterisi üzerine antimikrobiyal etkisini göstermektedir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt disklerin meydana getirdiği inhibisyon zonu değerleri, biberiye ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt disklerin meydana getirdiği inhibisyon zonu değerleriyle karşılaştırıldığında, biberiye ekstraktı ile birleştirilen ambalajın mikroorganizmalara karşı daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdından diskler, **S. aureus** bakterisinin lag fazını 12 inci saate kadar geciktirmiştir. 12 inci saatten itibaren başlayan üreme 2,23 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuştur. Bu değer, antimikrobiyal ambalajın bakteri üzerine çok etkin olmadığını göstermektedir. 24 üncü saatte zon çapı 1,00 mm'ye, 36 ıncı saatte 0,45 mm'ye, 48 inci saatte 0,22 mm'ye, kadar gerilerken 60 ıncı saatte 0,13 mm olarak ölçülmüştür (Tablo 8.3.).

Tablo 8.3. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Ağartılmış Kraft Kağıdının Antimikrobiyal Etkisi

İnkübasyon Zamanı	İnhibisyon Zonu (mm)				
Saat	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. utilis</i>
0	0 a*	0 a	0 a	0 a	0 a
12	2,23 $\pm$ 0,10b	1,65 $\pm$ 0,06b	2,12 $\pm$ 0,08b	0 a	0 a
24	1,00 $\pm$ 0,07c	0,70 $\pm$ 0,06c	1,35 $\pm$ 0,08c	0 a	3,70 $\pm$ 0,16b
36	0,45 $\pm$ 0,08d	0,30 $\pm$ 0,04d	0,65 $\pm$ 0,11d	0 a	1,30 $\pm$ 0,10c
48	0,22 $\pm$ 0,06e	0,07 $\pm$ 0,01e	0,07 $\pm$ 0,01a	0 a	0,40 $\pm$ 0,11d
60	0,13 $\pm$ 0,02f	0 a	0 a	0 a	0,10 $\pm$ 0,04a

* a-f: Aynı kolonda yer alan değerler arasında $p \leq 0,05$ seviyesinde anlamlı bir değişiklik olduğunu göstermektedir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdı diskler, **B. subtilis**'in lag fazını 12 inci saate kadar geciktirmiştir. 12 inci saatten itibaren meydana gelen üreme sırasında 1,65 mm'lik inhibisyon zonu oluşmuştur. Bu değer, bakterinin antimikrobiyal ambalajdan çok fazla etkilenmediğini

göstermektedir. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 0,7 mm, 36 ıncı saatte 0,3 mm ve 48 inci saatte 0,07 mm olarak ölçülmüştür. 60 ıncı saatte ise inhibisyon zonu tamamem kaybolmuştur (Tablo 8.3.). **S. aureus** bakterisinin adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdına, **B. subtilis**' ten daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

P. aeruginosa bakterisinin lag fazı, adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdı diskler tarafından 12 inci saate kadar geciktirilmiştir. 12 inci saatten itibaren meydana gelen üreme 2,12 mm'lik inhibisyon zonu meydana getirmiştir. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 1,35 mm, 36 ıncı saatte 0,65 mm ve 48 inci saatte 0,07 mm olarak ölçülmüştür. 60 ıncı saatte ise inhibisyon zonu tamamen kaybolmuştur (Tablo 8.3.).

E. coli bakterisinin üremesi üzerine, adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdının etkisi olmamıştır. Bakteri gelişimi ilk saatlerden itibaren başlamıştır (Tablo 8.3.). **P. aeruginosa** bakterisinin, adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdına, **E. coli**'den daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdı diskler **C. utilis** mayasının lag fazını 24 ıncı saate kadar geciktirmektedir. 24 üncü saatte 3,7 mm'lik inhibisyon zonu meydana gelmiştir. 36 ıncı saatte inhibisyon zonu 1,3 mm'ye, 48 inci saatte 0,4 mm'ye ve 60 ıncı saatte 0,1 mm'ye kadar gerilemiştir (Tablo 8.3.).

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdı disklerin en etkili olduğu mikroorganizmanın **C. utilis** olduğu belirlenmiştir. Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdı diskler (Resim 8.5), adaçayı ekstraktı ile birleştirilmemiş ağartılmış kraft kağıdı diskler (Resim 8.6.) ile karşılaştırıldığında diskler etrafındaki inhibisyon zonu ayırt edilmektedir. İnhibisyon zonu ambalaj materyalinin maya üzerine olan antimikrobiyal etkisini göstermektedir.

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdından diskler, **S. aureus**'un lag fazını 12 inci saate kadar geciktirmektedir. 12 inci saatten itibaren meydana gelen üreme sırasında 3,7 mm'lik inhibisyon zonu oluşmuştur. İnhibisyon zonu 24 üncü saatte 1,30 mm, 36 ıncı saatte 0,40 mm, 48 inci saatte 0,30 mm ve 60 ıncı saatte 0,20 mm olarak ölçülmüştür (Tablo 8.4.).

Tablo 8.4. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Ağartılmış Kraft Kağıdının Antimikrobiyal Etkisi

İnkübasyon Zamanı	İnhibisyon Zonu (mm)				
Saat	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. utilis</i>
0	0 a*	0 a	0 a	0 a	0 a
12	3,70 $\pm$ 0,15b	1,92 $\pm$ 0,21b	3,20 $\pm$ 0,19b	0 a	0 a
24	1,30 $\pm$ 0,11c	0,74 $\pm$ 0,08c	2,00 $\pm$ 0,10c	0 a	4,30 $\pm$ 0,27b
36	0,40 $\pm$ 0,06d	0,50 $\pm$ 0,07d	0,50 $\pm$ 0,05d	0 a	2,80 $\pm$ 0,40c
48	0,30 $\pm$ 0,06e	0,15 $\pm$ 0,04a	0,06 $\pm$ 0,02a	0 a	1,80 $\pm$ 0,15d
60	0,20 $\pm$ 0,04f	0 a	0 a	0 a	1,12 $\pm$ 0,14e

* a-f: Aynı kolonda yer alan değerler arasında $p \leq 0,05$ seviyesinde anlamlı bir değişiklik olduğunu göstermektedir.

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdı diskler **B. subtilis**'in lag fazını 12 inci saate kadar geciktirmektedir. 12 inci saatte meydana gelen üreme sırasında 1,92 mm'lik inhibisyon zonu oluşmuştur. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 0,74 mm'ye, 36 ıncı saatte 0,50 mm'ye ve 48 inci saatte 0,15 mm'ye kadar gerilemektedir. 60 ıncı saatte ise inhibisyon zonu tamamen kaybolmuştur (Tablo 8.4.). **B. subtilis**'un, biberiye ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdına, **S. aureus**'tan daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

P. aeruginosa bakterisinin lag fazı biberiye ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdı tarafından 12 inci saate kadar geciktirilmiştir. 12 inci saatten itibaren başlayan üreme sırasında 3,20 mm'lik inhibisyon zonu meydana gelmiştir. İnhibisyon zonu 24 üncü saatte 2,00 mm, 36 ıncı saatte 0,50 mm ve 48 inci saatte 0,06 mm olarak ölçülmüştür. 60 ıncı saatte ise inhibisyon zonu tamamen kaybolmuştur (Tablo 8.4.).

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdı diskler ***E. coli*** bakterisinin üremesi üzerine etki göstermemiştir. Bakterinin bu aktif ambalaja karşı oldukça dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 8.4.). ***P. aeruginosa***'nın biberiye ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdına, ***E. coli***'den daha duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdı diskler ***C. utilis*** mayasının lag fazını 24 üncü saate kadar geciktirmektedir. 24 üncü saatten itibaren başlayan üreme sırasında 4,30 mm'lik inhibisyon zonu meydana gelmiştir. Bu değer 36 ıncı saatte 2,80 mm'ye, 48 inci saatte 1,80 mm'ye ve 60 ıncı saatte 1,12 mm'ye kadar gerilemiştir (Tablo 8.4.).

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdından disklerin etkili olduğu mikroorganizmanın ***C. utilis*** olduğu belirlenmiştir. Biberiye ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdı diskler (Resim 8.7.), biberiye ekstraktı ile birleştirilmemiş ağartılmış kraft kağıdı diskler (Resim 8.8.) ile karşılaştırıldığında, antimikrobiyal ambalajın ***C. utilis*** üzerindeki etkisi görülebilmektedir. Oluşan inhibisyon zonu, antimikrobiyal özellik kazanan ambalajın mikroorganizma üzerine olan antimikrobiyal aktivitesini göstermektedir.

Oluşan inhibisyon zonu değerleri incelendiğinde, biberiye ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdının, mikroorganizmalar üzerine olan antimikrobiyal etkisinin adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ağartılmış kraft kağıdından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdından diskler ***S. aureus*** bakterisinin lag fazını 12 inci saate kadar geciktirmiştir. 12 inci saatten itibaren meydana gelen üreme sırasında 5,83 mm'lik inhibisyon zonu oluşmuştur. Bu değer, antimikrobiyal ambalajın bakteri üremesini kuvvetli şekilde engellediğini göstermektedir. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 2,70 mm'ye, 36 ıncı saatte 1,80 mm'ye, 48 inci saatte 0,84 mm'ye ve 60 ıncı saatte ise 0,40 mm'ye kadar gerilemiştir (Tablo 8.5.).

Tablo.8.5. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kraft Torba Kağıdının Antimikrobiyal Etkisi

İnkübasyon Zamanı	İnhibisyon Zonu (mm)				
Saat	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. utilis</i>
0	0 a*	0 a	0 a	0 a	0 a
12	5,83 $\pm$ 0,07b	2,30 $\pm$ 0,05b	2,61 $\pm$ 0,17b	0,07 $\pm$ 0,02b	0 a
24	2,70 $\pm$ 0,15c	1,50 $\pm$ 0,09c	0,92 $\pm$ 0,14c	0 a	0 a
36	1,80 $\pm$ 0,05d	0,74 $\pm$ 0,10d	0,45 $\pm$ 0,04d	0 a	4,73 $\pm$ 0,20b
48	0,84 $\pm$ 0,09e	0,20 $\pm$ 0,03e	0,06 $\pm$ 0,01a	0 a	2,82 $\pm$ 0,13c
60	0,40 $\pm$ 0,10f	0,09 $\pm$ 0,01a	0 a	0 a	1,34 $\pm$ 0,11d

* a-f: Aynı kolonda yer alan değerler arasında $p \leq 0,05$ seviyesinde anlamlı bir değişiklik olduğunu göstermektedir.

B. subtilis'in lag fazı adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdından diskler tarafından 12 inci saate kadar geciktirilmiştir. 12 inci saatten itibaren meydana gelen üreme sırasında 2,30 mm'lik inhibisyon zonu oluşmuştur. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 1,50 mm'ye, 36 ıncı saatte 0,74 mm'ye ve 48 inci saatte 0,20 mm'ye ve 60 ıncı saatte 0,09 mm'ye kadar gerilemiştir (Tablo 8.5.). **B. subtilis**'in, adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdına, **S. aureus**'tan daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdı diskler **P. aeruginosa** bakterisinin lag fazını 12 inci saate kadar geciktirmiştir. 12 inci saatten itibaren meydana gelen üreme sırasında 2,61 mm'lik inhibisyon zonu oluşmuştur. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 0,92 mm'ye, 36 ıncı saatte 0,45 mm'ye ve 48 inci saatte 0,06 mm'ye kadar gerilemiştir. 60 ıncı saatte ise inhibisyon zonu kaybolmuştur (Tablo 8.5.).

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdı diskler **E. coli** bakterisinin lag fazını 12 inci saate kadar geciktirmiştir. 12 inci saatte meydana gelen inhibisyon zonu ise 0,07 mm gibi küçük bir değerdir. 24 üncü saatten itibaren ise inhibisyon zonu kaybolmuştur. (Tablo 8.5.). **E. coli**'nin adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdına, **P. aeruginosa**'dan daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdı **C. utilis** mayasının lag fazını 36 ıncı saate kadar geciktirmiştir. 36 ıncı saatte meydana gelen üreme sırasında inhibisyon zonu 4,73 mm olarak ölçülmüştür. 48 ınci saatte inhibisyon zonu 2,82 mm'ye, 60 ıncı saatte ise 1,34 mm'ye kadar gerilemiştir (Tablo 8.5.).

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdından disklerin en etkili olduğu mikroorganizmanın **S. aureus** olduğu belirlenmiştir. Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdı diskler (Resim 8.9.), adaçayı ekstraktı ile birleştirilmemiş kraft torba kağıdı diskler (Resim 8.10.) ile karşılaştırıldığında **S. aureus** üzerinde belli bir inhibisyon zonu oluşturduğu görülmektedir. İnhibisyon zonu adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdının mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal aktivitesini göstermektedir.

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdından diskler, **S. aureus**'un lag fazını 12 ınci saate kadar geciktirmiştir. 12 ınci saatten itibaren başlayan üreme ile birlikte inhibisyon zonu 7,23 mm olarak ölçülmüştür. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 3,60 mm'ye, 36 ıncı saatte 2,33 mm'ye, 48 ınci saatte 0,98 mm'ye ve 60 ıncı saatte 0,76 mm'ye kadar gerilemektedir (Tablo 8.6.).

Tablo.8.6. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kraft Torba Kağıdının Antimikrobiyal Etkisi

İnkübasyon Zamanı	İnhibisyon Zonu (mm)				
	S. aureus	B. subtilis	P.aeruginosa	E .coli	C. utilis
Saat					
0	0 a*	0 a	0 a	0 a	0 a
12	7,23 $\pm$ 0,15b	4,23 $\pm$ 0,28b	4,18 $\pm$ 0,39b	0,35 $\pm$ 0,05b	0 a
24	3,60 $\pm$ 0,20c	3,00 $\pm$ 0,19c	1,84 $\pm$ 0,09c	0,15 $\pm$ 0,01c	0 a
36	2,33 $\pm$ 0,15d	1,35 $\pm$ 0,18d	0,50 $\pm$ 0,02d	0 a	5,53 $\pm$ 0,28b
48	0,98 $\pm$ 0,12e	0,83 $\pm$ 0,07e	0,08 $\pm$ 0,01a	0 a	3,53 $\pm$ 0,18c
60	0,76 $\pm$ 0,09f	0,36 $\pm$ 0,08f	0 a	0 a	2,26 $\pm$ 0,20d

* a-f: Aynı kolonda yer alan değerler arasında $p \leq 0,05$ seviyesinde anlamlı bir değişiklik olduğunu göstermektedir.

B. subtilis'in lag fazı, biberiye ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdından diskler tarafından 12 inci saate kadar geciktirilmiştir. 12 inci saatten itibaren başlayan üreme sırasında 4,23 mm'lik inhibisyon zonu oluşmuştur. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 3,00 mm'ye, 36 ıncı saatte 1,35 mm'ye, 48 inci saatte 0,83 mm'ye ve 60 ıncı saatte 0,36 mm'ye kadar gerilemiştir (Tablo 8.6.). **B. subtilis**'in biberiye ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdına **S. aureus**'tan daha dayanıklı olduğu bulunmuştur.

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdı diskler **P. aeruginosa** bakterisinin lag fazını 12 inci saate kadar geciktirmiştir. 12 inci saatten itibaren meydana gelen üreme sırasında 4,18 mm'lik inhibisyon zonu oluşmuştur. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 1,84 mm'ye, 36 ıncı saatte 0,50 mm'ye ve 48 inci saatte 0,08 mm' ye kadar gerilemiştir. 60 ıncı saatte ise inhibisyon zonu kaybolmuştur (Tablo 8.6.).

E. coli bakterisinin lag fazı biberiye ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdı diskler ile 12 inci saate kadar geciktirilmiştir. 12 inci saatte meydana gelen üreme sırasında 0,35 mm'lik inhibisyon zonu oluşmuştur. Bu değer, antimikrobiyal ambalajın bakteri gelişimi üzerine etkisinin çok güçlü olmadığını göstermektedir. 24 üncü saatte inhibisyon zonu 0,15 mm'ye kadar gerilemiştir. 36 ıncı saatten itibaren ise inhibisyon zonu tamamen kaybolmuştur (Tablo 8.6.). **E. coli**'nin, biberiye ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdına **P. aeruginosa**'dan daha dayanıklı olduğu bulunmuştur.

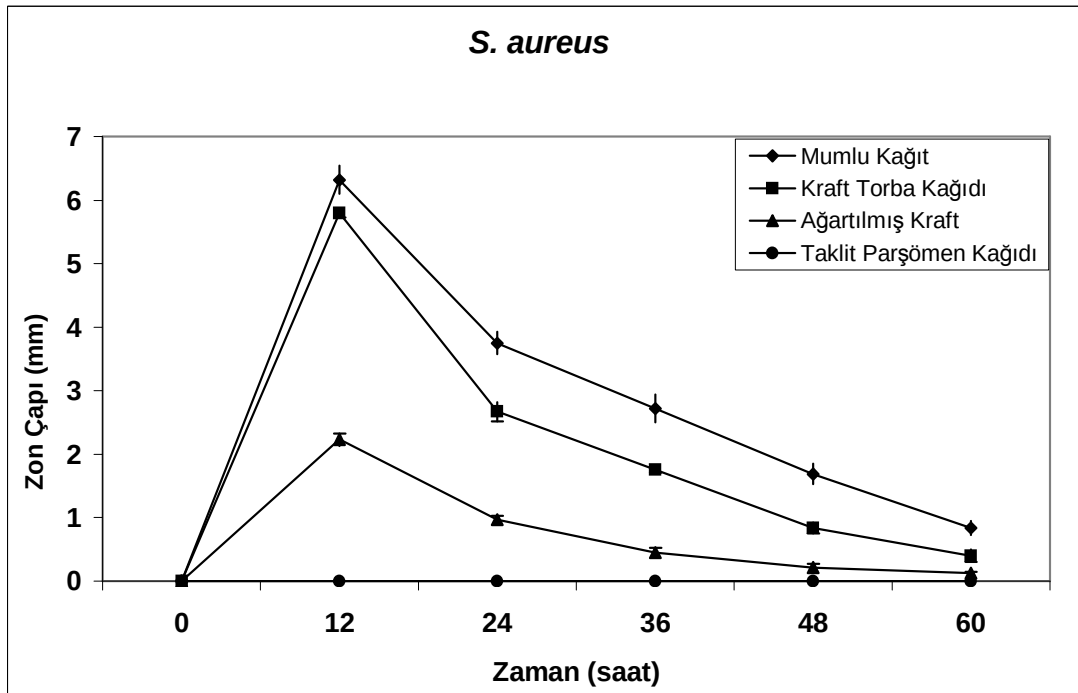
C. utilis mayasının lag fazı, biberiye ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdından disklerce 36 ıncı saate kadar geciktirilmiştir. 36 ıncı saatte meydana gelen üreme sırasında 5,53 mm'lik inhibisyon zonu meydana gelmiştir. 48 inci saatte inhibisyon zonu 3,53 mm'ye ve 60 ıncı saatte 2,26 mm'ye kadar gerilemiştir (Tablo 8.6.).

Biberiye ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdından disklerin etkili olduğu mikroorganizmanın **S. aureus** olduğu belirlenmiştir. Biberiye ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdı diskler (Resim 8.11.), biberiye ekstraktı ile birleştirilmemiş kraft torba kağıdı diskler (Resim 8.12.) ile karşılaştırıldığında aktif ambalajın antimikrobiyal aktivitesi görülebilmektedir.

İnhibisyon zonu değerleri incelendiğinde, biberiye ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdı, mikroorganizmalara karşı adaçayı ekstraktı ile birleştirilen kraft torba kağıdından daha aktif olarak bulunmuştur.

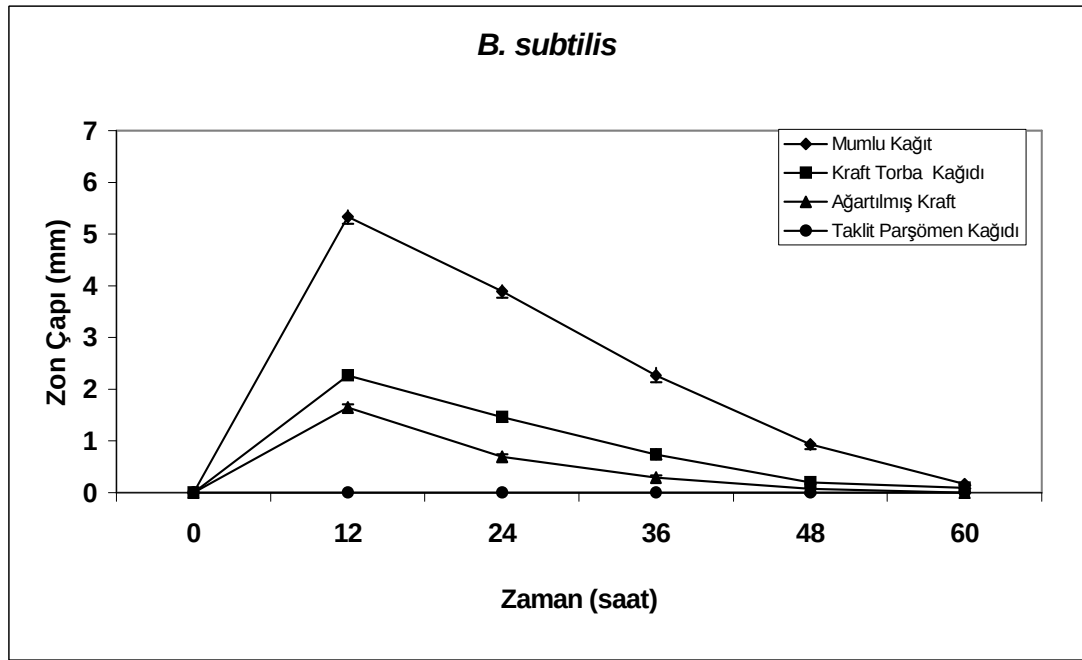
Adaçayı ya da biberiye ekstraktı ile birleştirilen taklit parşömen kağıdı diskler ise hiçbir mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etki göstermemiş, lag fazını uzatmamıştır.

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt (Tablo 8.1.), ağartılmış kraft kağıdı (Tablo 8.3.), kraft torba kağıdı (Tablo 8.5.) ve taklit parşömen kağıdından disklerin *S. aureus* bakterisi ekilmiş petrilere oluşturdukları inhibisyon zonu değerleri incelendiğinde, mumlu kağıdın en etkili ambalaj olduğu tespit edilmiştir (Grafik 8.1.).

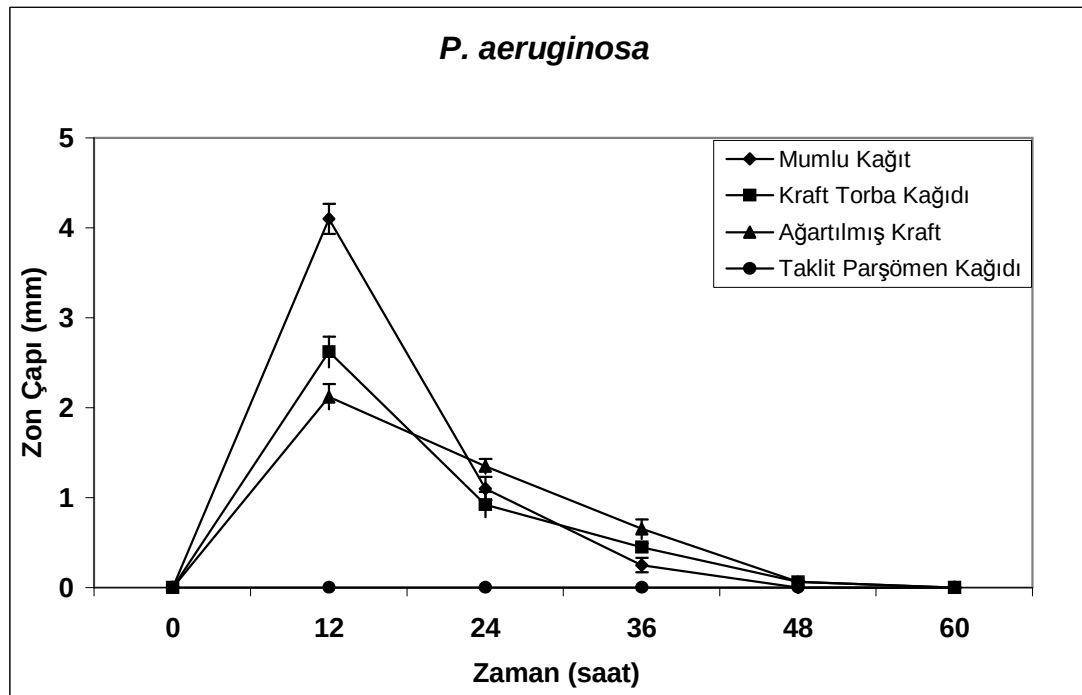


Grafik 8.1. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin *S. aureus* Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ambalaj materyallerinin *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* bakterileri ekilmiş olan petri kaplarında meydana getirdikleri inhibisyon zonu değerleri incelendiğinde, bu bakteriler için en etkili ambalaj materyalinin mumlu kağıt olduğu tespit edilmiştir (Grafik 8.2 ve Grafik 8.3.).



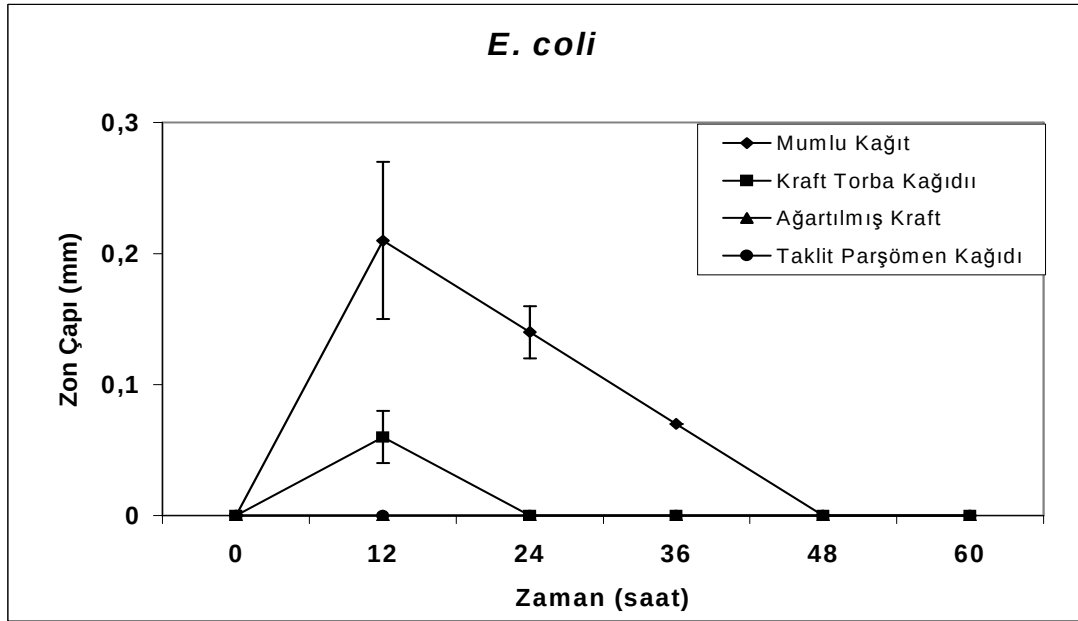
Grafik.8.2. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin *B. subtilis* Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri



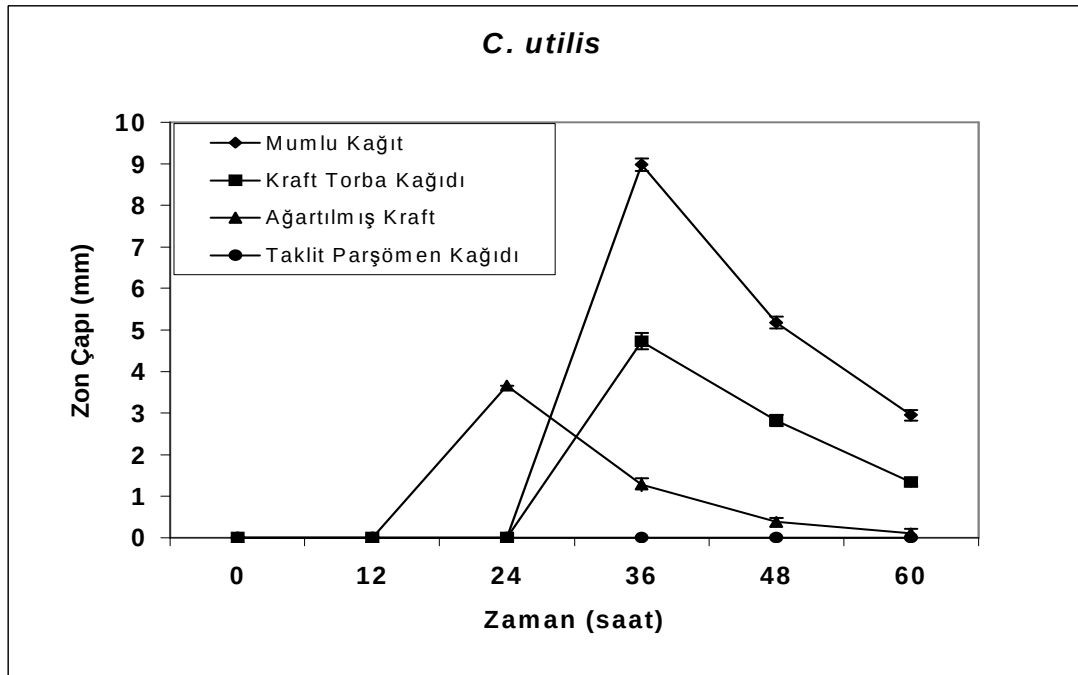
Grafik 8.3. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin *P. aeruginosa* Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri

E. coli bakterisi ekilmiş petri kaplarında, adaçayı ekstraktı ile birleştirilen mumlu kağıt diskler diğer ambalaj materyallerinden daha iyi antimikrobiyal etki göstermiştir (Grafik.8.4.).

Adaçayı ekstraktı ile birleştirilen ambalaj materyallerinin *C. utilis* ekilmiş perti kaplarında oluşturduğu inhibisyon zonu değerleri incelendiğinde bu bakteriye en etkili olan ambalajın, mumlu kağıt olduğu bulunmuştur (Grafik 8.5.)

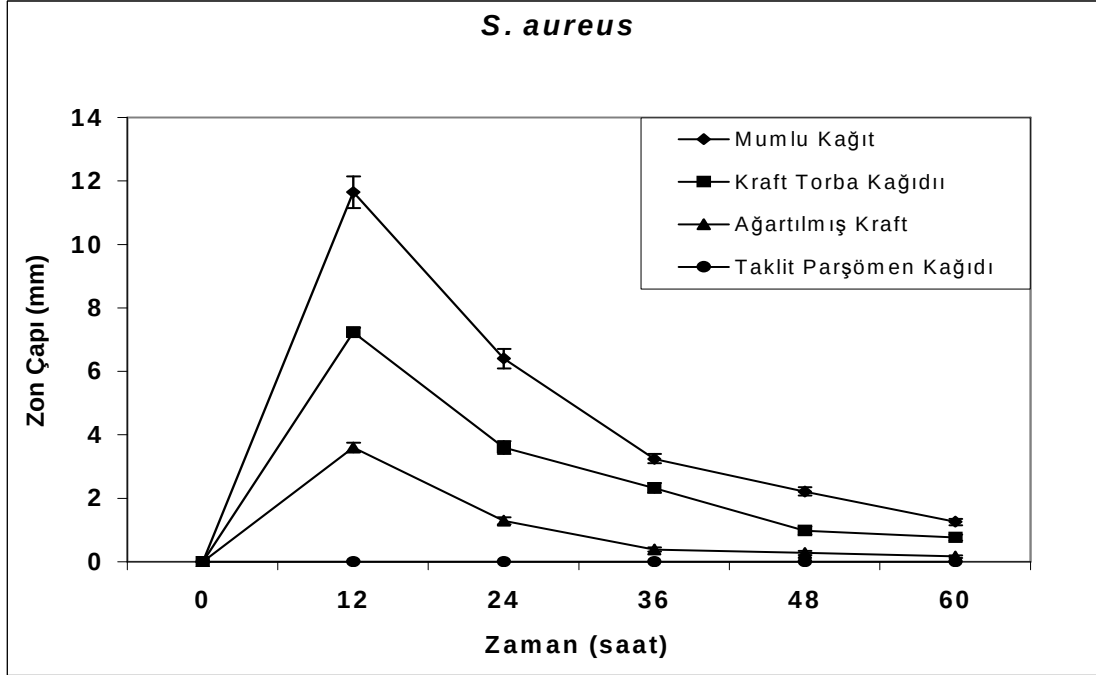


Grafik 8.4. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin *E. coli* Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri

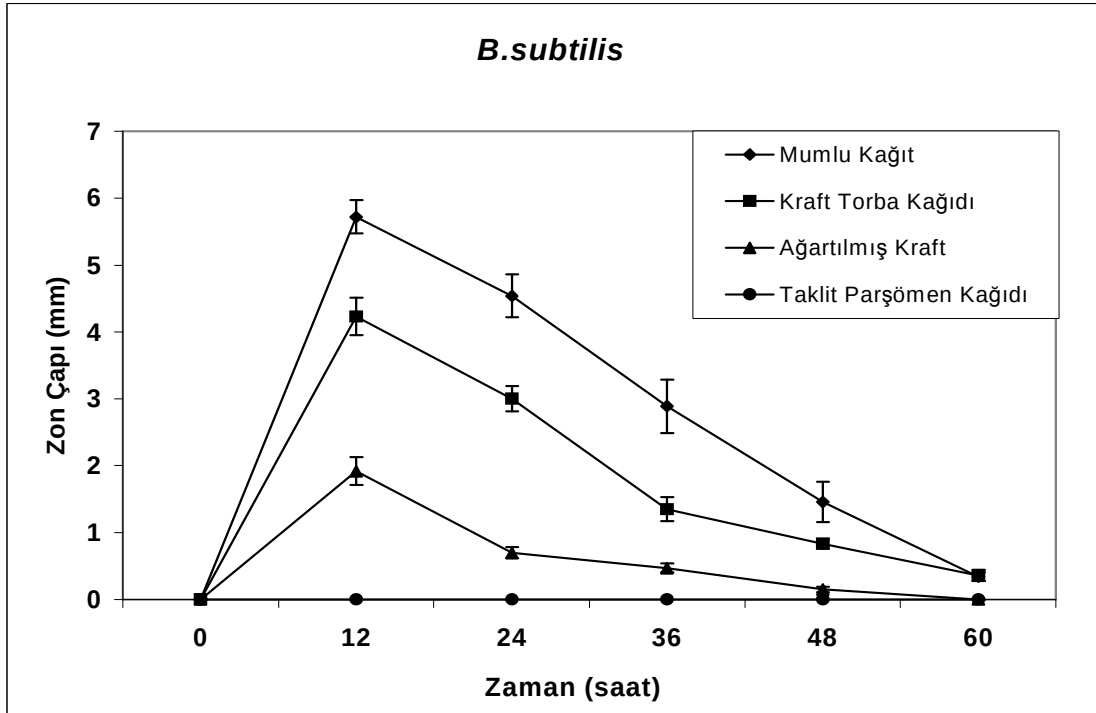


Grafik 8.5. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin *C. utilis* Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkileri

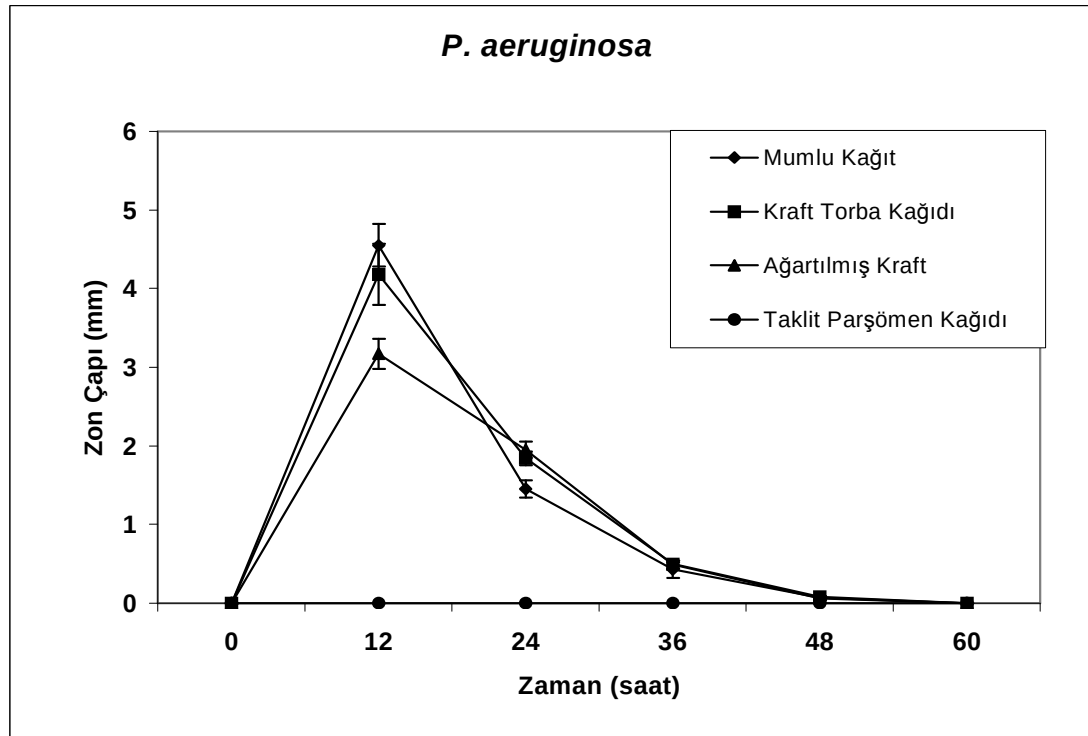
Biberiye ekstraktı ile birleştirilen ambalaj materyallerinin *S. aureus* (Grafik 8.6.) *B. subtilis* (Grafik 8.7.), *P. aeruginosa* (Grafik 8.8), *E. coli* (Grafik.8.9.) ve *C. utilis* (Grafik 8.10.) petrilerinde oluşturdıkları inhibisyon zonu değerleri incelendiğinde biberiye ekstraktında bekletilen mumlu kağıdın en güçlü antimikrobiyal etkiye sahip ambalaj olduğu tespit edilmiştir.



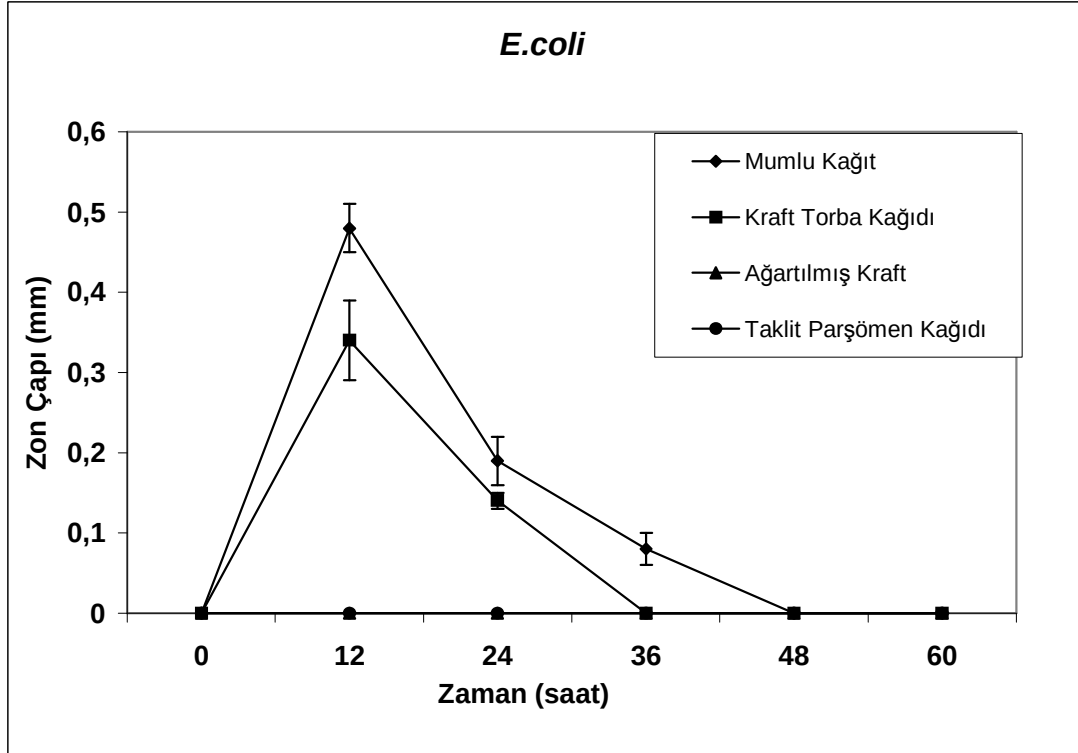
Grafik 8.6. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin *S. aureus* Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri



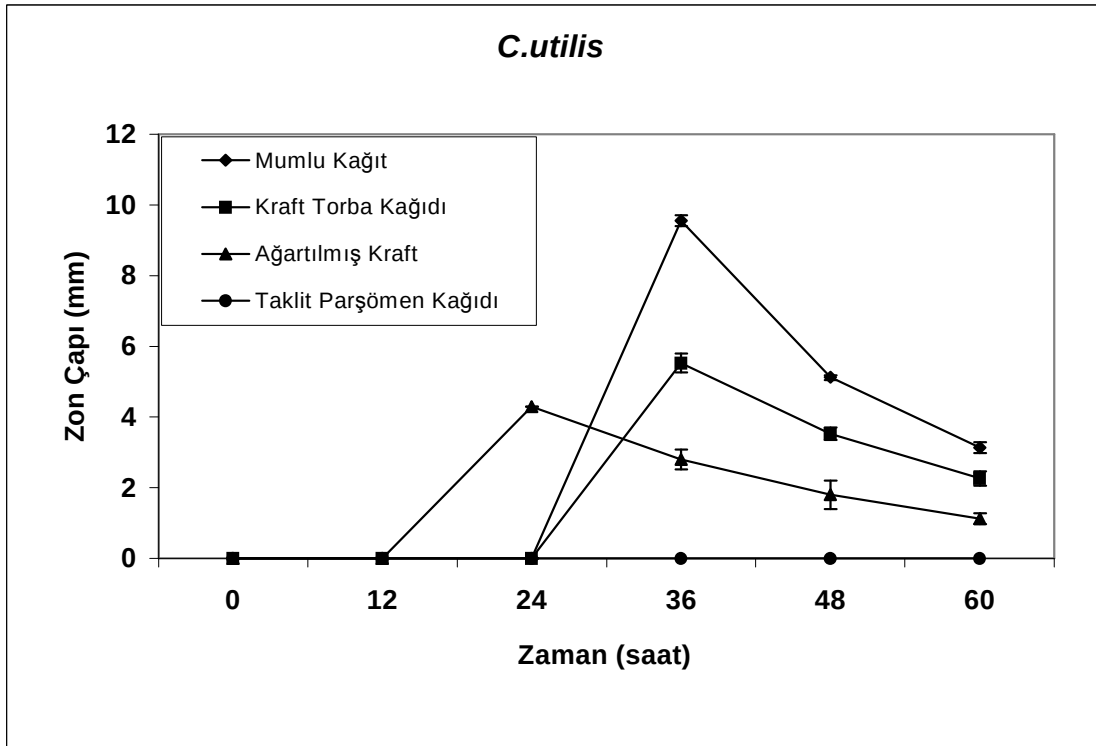
Grafik 8.7. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin *B. subtilis* Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri



Grafik 8.8. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin *P. aeruginosa* Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri



Grafik 8.9. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin *E. coli* Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkileri



Grafik 8.10. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kağıt Esaslı Ambalaj Materyallerinin *C. utilis* Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkileri

Tüm bu verilere dayanarak;

- biberiye ekstraktı ile birleştirilen ambalaj materyallerinin, adaçayı ekstraktı ile birleştirilen benzerlerinden daha aktif olduğu,
- ***S. aureus***'un adaçayı veya biberiye ekstraktları ile birleştirilen ambalaj materyallerine en duyarlı Gram (+), ***P. aeruginosa***'nın ise en duyarlı Gram (-) bakteri olduğu,
- ***E. coli***'nin, adaçayı veya biberiye ekstraktları ile birleştirilen tüm ambalaj materyallerine karşı en dayanıklı mikroorganizma olduğu,
- ***C. utilis*** mayasının lag fazının antimikrobiyal ambalajlar tarafından bakterilerinkinden daha uzun süreyle geciktirilmekte olduğu,
- kullanılan ambalaj materyalleri içinde, mumlu kağıdın adaçayı ve biberiye ekstraktları ile iyi derecede birleştirildiği ve dolayısıyla en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu,
- taklit parşömen kağıdı adaçayı ve biberiye ekstraktları ile birleştirildiğinde antimikrobiyal bir ambalaj materyalinin oluşmadığı tespit edilmiştir.

Resim 8.1. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Mumlu Kağıt Disklerin ***C. utilis*** Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.2. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Mumlu Kağıt Disklerin ***C. utilis*** Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.3. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Mumlu Kağıt Disklerin ***S. aureus*** Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.4.Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Mumlu Kağıt Disklerin ***S. aureus*** Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.5. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Ağartılmış Kraft Kağıdı Disklerin ***C. utilis*** Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.6. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Ağartılmış Kraft Kağıdı Disklerin ***C. utilis*** Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.7. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Ağartılmış Kraft Kağıdı Disklerin ***C. utilis*** Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.8. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Ağartılmış Kraft Kağıdı Disklerin ***C. utilis*** Mayası Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.9. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilen Kraft Torba Kağıdı Disklerin ***S. aureus*** Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.10. Adaçayı Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Kraft Torba Kağıdı Disklerin ***S. aureus*** Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.11. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilen Kraft Torba Kağıdı Disklerin ***S. aureus*** Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Resim 8.12. Biberiye Ekstraktı İle Birleştirilmeyen Kraft Torba Kağıdı Disklerin ***S. aureus*** Bakterisi Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

9. TARTIŞMA ve ÖNERİLER

Adaçayı ve biberiye ekstraktları ile birleştirilerek antimikrobiyal özellik kazandırılan mumlu kağıdın, tüm mikroorganizmalar üzerine olan etkisi kağıt esaslı diğer ambalaj materyallerinden daha yüksektir. Bunun sebebi, mumlu kağıdın kullanılan yağ esaslı antimikrobiyal ekstraktlara benzer şekilde vax içermesidir.

En etkili antimikrobiyal ambalaj olarak belirlenen adaçayı veya biberiye ekstraktı ile birleştirilmiş mumlu kağıt, gıda örnekleri üzerinde denenerek, bu gıdaların raf ömürlerinde meydana gelen değişikliklerin tespiti yapılabilir.

Adaçayı ve biberiye ekstraktlarının içinde bulunan ve antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olan bileşiklerin sadece kağıt esaslı ambalaj materyalleriyle değil, plastik esaslı ambalaj materyalleriyle de birleştirilerek antimikrobiyal etkileri test edilebilir. Bu sayede, gıda sanayiinde yaygın olarak kullanılan plastik esaslı malzemelerin de antimikrobiyal etki kazanmaları sağlanabilir.

Bitki ekstraktlarının paket materyallerinden salınım durumlarına bakılabilir. Elde edilen bilgiler, antimikrobiyal maddenin ambalaj içersinde nasıl hareket ettiğini gösterecektir. Bu da salınım kontrollü aktif ambalajların imali sırasında yardımcı olacaktır.

Antimikrobiyal maddelerin, ambalaj materyallerinin fiziksel yapılarında ya da mekanik özelliklerinde kısmi de olsa değişiklik yaptığı bilinmektedir. Bu değişikliklerin neler olduğuna bakılarak, gıdaların raf ömrü üzerine etkileri araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- 1) Chang, S.S., Matijasevic, B.O., Hsieh, O.A.L. and Huang, C.L. 1977. Natural antioxidants from rosemary and sage. J. Food Sci. 42 (4) : 1102-1106.
- 2) Ciani, M., Menghini, L., Mariani, F., Pagiotti, R., Menghini, A. and Fatichenti, F. 2000. Antimicrobial properties of essential oil of **Satureja montana L.** on pathogenic and spoilage yeasts. Biotech. Letters. 22 : 1007-1010.
- 3) Conner, D.E. and Beuchat, L.R. 1984. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. J. Food Sci. 49 : 429-434.
- 4) Cutter, C.N. 2000. Antimicrobial effect of herb extracts against **E.coli 0157: H7**, **Listeria monocytogenes** and **S. typhimurium** associated with beef. J. Food Protec. 63 (5) : 601-607.
- 5) Daouk, R.K., Dagher, S.M. and Sattout, E.J.1995. Antifungal activity of the essential oil of **Origanum syriacum L.** J. Food Protec. 58 (10) : 1147-1149
- 6) Fang, T.J., Chen, C.Y. and Chen, H.H.L. 1997. Inhibition of **Staphylococcus aureus** and **Bacillus cereus** on a vegetarian food treated with nisin combined with either potassium sorbate or sodium benzoate. J. Food Safety 17 : 69-87.
- 7) Farag, R.S, Daw, Z.Y., Hewedi, F.M. and El-Baroty, G.S.A. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. J. Food Protec. 52 (9) : 665-667.
- 8) Garcia, O.B., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A. and Delrio, J.A. 1997. Uses and properties of **Citrus** flavonoids. J. Agric. Food Chem. 45 (12) : 4505-4515.
- 9) Giese, J. 1994. Spices and seasoning blends: A taste for all seasons. Food Tech. : 88-96.
- 10) Haas, G.J. and Barsoumian, R. 1994. Antimicrobial activity of **Hop reins**. J. Food Protec. 57 (1) : 59-61.
- 11) Han, J.H. 2000. Antimicrobial food packaging. Food Tech. 54 (3) : 56-65.

- 12) Hayashi, T., Sano, K. and Ohsumi, C. 1993. Gas chromatographic analysis of alliin in the callus tissues of ***Allium sativum***. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 57 (1) : 162-163.
- 13) Himejima, M. and Kubo, I. 1991. Antimicrobial agents from the cashew ***Anacardium occidentale*** (Anacardiaceae) nut shell oil. J. Agric. Food Chem. 39: 418-421.
- 14) Kabuki, T., Nakajima, H., Arai, M., Ueda, S., Kuwabara, Y. and Dosako, S. 2000. Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (***Mangifera indica* L.**) kernel seeds. Food Chem. 71 : 61-66.
- 15) Kubo, I., Himejima, M. and Muroi, H. 1991. Antimicrobial activity of flavor components of ***Cardamom elattaria cardamomum*** (Zingiberaceae) seed. J. Agric. Food Chem. 39 : 1984-1986.
- 16) Kubo, I., Muroi, H. and Himejima, M. 1993. Antimicrobial activity against ***Streptococcus mutans*** of mate tea flavor components. J. Agric. Food Chem. 41 : 107-111.
- 17) Kubo, A., Lunde, C.S. and Kubo, I. 1995. Antimicrobial activity of the olive oil flavor compounds. J. Agric. Food Chem. 43 : 1629-1633.
- 18) Kyung, K.H. and Fleming, H.P. 1997. Antimicrobial activity of sulfur compounds derived from cabbage J. Food Protec. 60 (1) : 67-71.
- 19) Lean, L.P. and Mohamed, S. 1999. Antioxidative and antimycotic effects of turmeric, lemon-grass, betel leaves, clove, black pepper leaves and ***Garcinia atriviridis*** on butter cakes. J Sci. Food Agric. 79 : 1817-1822.
- 20) Marino, M., Bersani, C. and Comi, G. 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of ***Thymus vulgaris* L.** measured using a bioimpedometric method. J. Food Protec. 62 (9) : 1017-1023.
- 21) Muroi, H., Kubo, A. and Kubo, I. 1993. Antimicrobial activity of cashew apple flavor compounds. J. Agric. Food Chem. 41 : 1106-1109.
- 22) Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A, Prette, G.J.P. and Begin, A. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acid and essential oils against six meat spoilage organisms. Int. J. Food Microbiol. 37 : 155-162.
- 23) Ötleş, S. 2001. Baharat esansiyel yağlarının gıda sanayiinde kullanımı. Gıda : 56-60.

- 24)Özdemir, M. 1999. "Antimicrobial Releasing Edible Whey Protein Films and Coatings" Chapter 9 : 154-171 Ph. D. Dissertation. Purdue University, Indiana, USA.
- 25)Özdemir, M., Yurteri, C.U. and Sadıkoğlu, H. 1999. Physical polymer surface modification methods and applications in food packaging polymers. Critical Reviews in Food Sci. and Nutrition, 39: 457-477.
- 26)Özdemir, M. and Floros, J.D. 2001. Analysis and modeling of potassium sorbate diffusion through edible whey protein films. J. Food Engineering. 47 : 149-155.
- 27)Padgett, T., Han, I.Y. and Dawson, P.L. 1998. Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. J. Food Protec. 61 : 1330-1335.
- 28)Pandit, V.A. and Shelef, L.A. 1994. Sensitivity of *L. monocytogenes* to rosemary. Food Microbiol. 11 : 57-63.
- 29) Satoh, A., Utamura, H., Ishizuka, M., Endo, N., Tsuji, M. and Nishimura, H. 1996. Antimicrobial benzopyrans from the receptacle of sunflower. Bioscience, Biotech, Biochem. 60 (4) : 664-665.
- 30)Shelef, L.A., Naglik, O.A. and Bogen, D.W. 1980. Sensitivity of some common food- borne bacteria to the spices sage, rosemary and allspice. J. Food Sci. 45 : 1042-1044.
- 31) Shim, S.T. and Kyung, K.H. 1999. Natural microflora of prepeeled garlic and their resistance to garlic antimicrobial activity. Food Microbiol. 16 : 165-172.
- 32)Synder, O. P. 1997 Antimicrobial effects of spices and herbs. Hospitality Institute of Technology and Management. St. Paul, Minnesata.
- 33)Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T. and Arsenokis, M. 1995. Antimicrobial activity of mint essential oils. J. Agric. Food Chem. 43 : 2384-2388.
- 34)Sivropoulou, A., Pananikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T. and Arsenakis, M. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. J. Agric. Food Chem. 44 : 1202-1205.
- 35)Üçüncü, M. (2000) "Gıdaların Ambalajlanması" Bornova-İzmir

- 36)Vargas, I., Sanz, I., Moya, P. and Yufera, E.P. 1999. Antimicrobial and antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed orange essential oil. *J. Food Protec.* 62 (8) : 929-932.
- 37)Zaika, L.L., Kissinger, J.C. and Wasserman, A.E. 1983. Inhibition of lactic acid bacteria by herbs. *J. Food Sci.* 48 : 1455-1459.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimi Yalova'da tamamladı. 1994 yılında girdiği Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümünden, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalından 1998 yılında mezun oldu. 1998 yılında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. 2000 yılında tez konusu kapsamındaki laboratuvar çalışmalarını Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarında sürdürdü. 2000-2001 eğitim yılından beri Özel Ahmet Şimşek Lisesi'nde biyoloji ve fen bilgisi öğretmenliği yapmaktadır.