



**PROPOLİSLE KAPLANAN DÜŞÜK
YOĞUNLUKLU POLİETİLEN
FİLMLEİN ANTİBAKTERİYEL
AKTİVİTELEİNİN İNCELENMESİ**
Gizem BAYATBALAY

**Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. İbrahim PALABIYIK**

2021

T.C.

TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PROPOLİSLE KAPLANAN DÜŞÜK YOĞUNLUKLU POLİETİLEN
FİLMERİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Gizem BAYATBALAY

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. İbrahim PALABIYIK

TEKİRDAĞ-2021

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PROPOLİSLE KAPLANAN DÜŞÜK YOĞUNLUKLU POLİETİLEN FİLMLEİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Gizem BAYATBALAY

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İbrahim PALABIYIK

Propolis, antibakteriyel ve antioksidan etkisinden dolayı ilaç, kozmetik, gıda sanayi ile apiterapi merkezlerinde çok yönlü olarak kullanılan bir maddedir. Son yıllarda gıdalarda mikrobiyel gelişmeyi kontrol altına alabilmek için propolise ve antimikrobiyel paketlemeye olan talep artmaktadır. Yapılan bu çalışmada, farklı çözümler kullanılarak oluşturulan propolis ekstraktlarının, plastik yüzeye tutunma özellikleri ve antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Çözgen olarak wax-yağ, yağ, gliserol, film solüsyonu, etanol, etil asetat ve propilen glikol kullanılmıştır. Belli konsantrasyonlarda hazırlanmış olan propolis ve antibakteriyel solüsyonlar püskürtme metodu uygulanarak Düşük Yoğunluklu Polietilen (LDPE) filmlere entegre edilmiştir. Yağ içeren solüsyonların film yüzeyinde tutunma göstermediği tespit edilmiştir. Propolisli solüsyonlar farklı antibakteriyel solüsyonlar ile kıyaslanarak, istenilen kriterlerde LDPE filme entegre edilebilecek en uygun sıvının etil asetatlı propolis solüsyonu olduğu tespit edilmiştir. Bu solüsyon püskürtülerek elde edilen propolisli LDPE filmlerde ISO 22196:2011 metodu uygulanmış ve filmlerin antibakteriyel etkileri incelenerek, *E.coli* ve *S.aures* için 24. saat itibari ile 7 kob/g azalıtığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Propolis, Antimikrobiyel aktivite, LDPE, Plastik yüzey

2021, 51 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF LOW DENSITY POLYETHYLENE FILMS COATED WITH PROPOLIS

Gizem BAYATBALAY

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Doç. Dr. İbrahim PALABIYIK

Due to its antibacterial and antioxidant effect, propolis is a versatile substance used in pharmaceutical, cosmetic, food industry and apitherapy centers. In recent years, the demand for antimicrobial packaging has been increasing in order to control microbial development in foods. In this study, the adhesion properties and antibacterial activity of propolis extracts produced by using different solvents were investigated. Wax-oil, oil, glycerol, film solution, ethanol, ethyl acetate and propylene glycol were used as solvents. Propolis and antibacterial solutions prepared in certain concentrations were integrated into Low Density Polyethylene (LDPE) films by using spraying method. It was determined that the oil containing solutions do not adhere on the film surface. By comparing propolis solutions with different antibacterial solutions, it was found that the most suitable liquid that can be integrated into the LDPE film in the desired criteria is propolis solution with ethyl acetate. The antibacterial effects of the films were determined by applying the ISO 22196: 2011 method on the propolis sprayed LDPE films, it was observed for *E.coli* and *S.aureus* were reduced by 7 cfu/g after 24 hour.

Keywords: Propolis, Antimicrobial activity, LDPE, Plastic surface

2021, 51 pages

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGE DİZİNİ.....	iv
ŞEKİL DİZİNİ.....	v
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI	3
2.1. Propolis Üretimi ve Kullanılabilirliği.....	3
2.2. Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	4
2.3. Propolisin Etki Ettiği Mikroorganizmalar	6
2.4. Propolisin Kullanım Alanları.....	8
2.4.1. Propolisin Gıda Sanayinde Kullanımı	9
2.5. Ekstraksiyonda Kullanılan Çözücülerin Çözücü Özellikleri.....	11
2.6. Gıda Ambalajlamada Kullanılan Başlıca Plastikler	12
2.7. Aktif Paketleme	14
2.7.1. Antimikrobiyel Paketleme	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.2. Yöntem	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	28
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	37
KAYNAKLAR.....	38
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 2.1. Propolisin içerdiği bileşik grupları ve sayıları (Kumova ve ark., 2002).....	5
Çizelge 2.2. Propolisin etki ettiği çeşitli mikroorganizmalar (Bogdanov, 2017).....	7
Çizelge 2.3. Bazı aktif ambalajlar ve ambalajlamada kullanılan yapılar (Dobručka, 2013)....	15
Çizelge 3.1. Antibakteriyel solüsyonların isimlendirilmesi	21
Çizelge 4.1. Plastik yüzeye entegre edilen solüsyonların ağırlıkları.....	28
Çizelge 4.2. Solüsyonların oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm)	30



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Arıların propolis üretimi.....	3
Şekil 2.2. Saf propolis	4
Şekil 2.3. Ham propolis ve propolis ekstresi	5
Şekil 2.4. Propolisli ürün örneği.....	10
Şekil 3.1. Propolis ekstraktının hazırlanma aşamaları.....	21
Şekil 3.2. LDPE filmlerin kaplanması.....	23
Şekil 3.3 Kumpas.....	24
Şekil 3.4. Hazırlanan LDPE filmler	25
Şekil 3.5. LDPE filmlere UV işleme uygulaması	26
Şekil 3.6. Petri kaplarına yerleştirilen LDPE filmler.....	26
Şekil 3.7. LDPE filmlerde bulunan bakterilerin ekilmesi	27
Şekil 4.1. <i>S.aureus</i> için propilen glikol içeren inhibisyon zonu	32
Şekil 4.2. <i>S.aureus</i> için gliserol içeren inhibisyon zonu.....	32
Şekil 4.3. Kaplanmış plastik filmlerin 24 saatlik maruziyet döneminde <i>S.aureus</i> gelişimi üzerine etkisi; (a) Propilen glikol, (b) Etanol, (c) D, (d) Etil asetat	34
Şekil 4.4. Kaplanmış plastik filmlerin 24 saatlik maruziyet döneminde <i>E.coli</i> gelişimi üzerine etkisi; (a) Propilen glikol, (b) Etanol, (c) D, (d) Etil asetat	36

SİMGELER VE KISALTMALAR

>	: Büyük
<	: Küçük
%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
g	: Gram
Kob	: Koloni Oluşturan Birim
Log	: Logaritma
L	: Litre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
LDPE	: Düşük Yoğunluklu Polietilen
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	: Ribo Nükleik asit
Rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
HSV	: Herpes Simpleks Virüsü
BHA	: Butillenmiş Hidroksiyanozil
BHT	: Butillenmiş Hidroksitoluen
MHA	: Müller-Hinton Agar
TSA	: Triptik Soy Agar
UV	: Ultraviyole Işınım
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarımın en baŐından itibaren her tŸrlŸ bilgi birikimini benimle paylaŐan ve yardımlarını esirgemeyen değerli tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. İbrahim PALABIYIK'a, laboratuvar çalıŐmalarım esnasında yol gŸsteren değerli hocam AraŐ. Gör. Didem SŸZERİ ATİK'e, tez çalıŐmamda karŐılaŐtıęım her sıkıntıda benden yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Ezgi KARPUZ ve Yaren ŖZER'e, yeni bir hayata başlarken yanımda olan ve benden desteğini eksik etmeyen değerli niŐanlım Cenk BİLGE'ye, hayatım boyunca bana her konuda gŸ veren, hoŐgŸrŸ ve anlayıŐlarını esirgemeyen değerli babam Faik BAYATBALAY, değerli annem Sevgi BAYATBALAY ve canım ablam GŸzde TAMERER'e sonsuz teŐekkŸrlerimi sunarım.

Mart, 2021

Gizem BAYATBALAY
Gıda MŸhendisi

1. GİRİŞ

Propolis, bal arılarının ağaç kabukları, yaprakları ve bitki salgılarından toplanan yapışkan bir maddedir. Fenolik asitler, esterler ve flavonoidler gibi çok sayıda aktif bileşik içeren propolis, biyolojik ve farmakolojik özellikler açısından da oldukça zengindir. Antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitumor, antiprotozoa, anti inflamatuvar ve anti ulser gibi çok farklı etkilere sahip olan propolis bu özellikleri nedeniyle, doğal bir antibiyotik olarak ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek yaygın olarak kullanılmıştır (Castaldo ve Capasso, 2002; Kutluca ve ark., 2006). Bunun yanı sıra günümüzde ilaç dışında, gıda sektöründe, apiterapi merkezlerinde, dermatolojik ve kozmetik uygulamalarda çok yönlü olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda iyileştirici etkisinden dolayı propolisin içeriğine ilgi oldukça artmaktadır. Biyolojik ve farmakolojik özellikleri ve ticari değeri konusundaki çalışmalar yürütülmektedir.

Gıdalarda mikrobiyel gelişmeyi önleyebilmek ya da kontrol altına alabilmek, dolayısıyla kalitede kayıpları azaltarak raf ömrünü artırabilmek için son yıllarda antimikrobiyel ambalajlama sistemlerinden yararlanılmaya başlanmıştır. Gıda ambalajlama ürünlerinde, gıdada ki mikroorganizmaların gelişmelerini kontrol altına alabilmek için antimikrobiyel maddelerden yararlanılabilmektedir (Üçüncü, 2011). Bir antimikrobiyel madde olan propolisin mikroorganizmalara etkisi ile ilgili birçok bilimsel çalışma gerçekleştirilmiştir.

Han ve Floros (1997), potasyum sorbat tozu ve LPDE (Düşük yoğunluklu polietilen) kullanılarak elde edilen antimikrobiyal filmlerin, paketleme materyali olarak esneklik, şeffaflık ve antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu bildirmişlerdir.

Propolis ile ilgili bazı çalışmalarda, propolisin yalnızca Gram (+) bakteri ve bazı funguslara karşı etki gösterdiği (Marcucci, 1995; Nieva ve ark., 1999), diğerlerinde ise Gram (-) bakterilere karşı etkisinin zayıf olduğu tespit edilmiştir. (Sforcin ve ark., 2000; Grange ve Davey, 1990; Dobrowolski ve ark., 1991). Çoğunlukla Gram (+) bakterilerin propolise karşı, Gram (-) bakterilere kıyasla daha etkilenebilir olduğu bildirilmiştir (Mirzoeva ve ark., 1997).

Muğla ilinden toplanan 45 farklı propolisin aseton ve dimetil sülfoksit (DMSO) ekstresinin antimikrobiyal özelliklerinin propolis örneğine, dozuna ve ekstraksiyon çözücüsüne göre farklılık gösterdiği kaydedilmiştir (Uğur ve Aslan, 2004). Etanol ile hazırlanmış propolis ekstresinin, Gram (+) bakterilere (*Staphylococcus aureus*) karşı yüksek antibakteriyel etki

gösterdiği, fakat Gram (-) bakteri (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) ve mayalara (*C. albicans*) karşı zayıf etki gösterdiği bildirilmiştir (Silici ve Kutluca, 2005).

Propolisin, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* *Candida albicans*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Trichophyton mentagrophytes* türlerine karşı antimikrobiyel etkisinin olduğu belirlenmiştir (Dığrak ve ark., 1995).

Propolisin belirli işlemlerden geçmeden saf olarak kullanılması insan sağlığına fayda yerine sakınca oluşturabilmektedir. Kovandan alınan propolisin saflaştırılması gerekmektedir. Bu nedenle su, etanol, metanol, eter vb. çözücülerde ekstrakte edilerek elde edilen ekstraktın kullanımı yaygındır.

Propolis ekstraksiyonunda kullanılan çözücülerin farklılaşmasıyla, propolisin antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitesi gibi özellikleri farklı sonuçlar gösterir. Bu nedenle, bu çalışmada propolisin, farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan solüsyonları arasından, istenilen kriterlere göre en uygun solüsyonun seçilmesi hedeflenmiştir. Propolisli solüsyonun plastik yüzeye tutunup, ISO 22196:2011 yöntemi kullanılarak gıda kaynaklı patojenlere (*Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*) karşı antibakteriyel etkisinin ve farklı antibakteriyel solüsyonlarla kıyaslanarak propolisli solüsyonun üstünlüğü incelenmiştir. Bu sayede propolisin koruyucu etkisinden faydalanılarak bakteriyel gelişmenin en aza indirgenmesi, gıdalarda raf ömrünün uzatılması ve propolisli antibakteriyel ambalaj sektöründe öncü olunması hedeflenmiştir.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

2.1. Propolis Üretimi ve Kullanılabilirliği

İşçi arılar tarafından çeşitli bitkilerin yaprak, tomurcuk, kabuk ve benzeri kısımlarından toplanan propolis, reçineli ve mumsu bir kıvamda olup oda sıcaklığında yarı katı halde bulunan bir maddedir. Arı bu maddeyi, polenle ve başı ile toraksı arasında bulunan bezlerden salgılamış olduğu aktif enzimlerle birleştirerek daha etkili bir hale getirmektedir. (Şahinler, 2000). Şekil 2.1'de arıların propolis üretimi gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Arıların propolis üretimi

Bal arıları propolisi, çiçeklerin ve tomurcukların koruyucu reçinelerini alt çeneleriyle kazıyarak toplar, ağızda nemlendirip yumuşatarak ve bu sırada bazı enzimler ekleyerek pelet haline getirir ve peleti ön bacaklarını kullanarak arka bacaklarındaki polen sepetine aktarırlar (Krell, 1996). Arılar propolisi kovanda birçok amaçla kullanırlar. Örneğin kovan içi yarıkların kapatılması, petek kenarlarının sertleştirilip onarılması, petek gözlerinin temizlenip, cilalanması gibi daha birçok farklı amaçlarla kullanırlar. Bir arı kolonisinin sağlıklı şekilde yaşamını sürdürebilmesi için ortalama 30 derece sıcaklığa ve %40-60 derece bağıl neme ihtiyacı vardır. Bu oran aynı zamanda risk unsurudur. Çünkü bu sıcaklık değerleri kovan içinde çeşitli virüs, bakteri ve mantar üremesine son derece elverişlidir. Arının ürettiği propolis ise kovanı bu tür zararlı mikroorganizmalara karşı korur ve kovanın nem ve sıcaklığını düzenler. Şekil 2.2'de saf propolis gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Saf propolis

Saf propolisin üretilmesi için propolis toplanmasında kullanılan malzemelerin ağır metaller içermemesi gerekmektedir. Aksi takdirde propolise ağır metallerin karışmasına ve kalitesine olumsuz yönde etki etmektedir. Propolis ve ekstraktları depolanırken, hafif koyu renk bir kaptaki ve karanlıkta, 12°C'den az sıcaklıkta olmasına dikkat edilmelidir. Alkol ile hazırlanan propolis ekstraktları ise daha uzun süre saklanabilmektedir. Hazırlanan propolisin uzun ömürlü olabilmesi için ilk olarak sert ve katı halde iken iyice ezilmeli, daha sonra cam bir kavanoza konulup, üzerine ılık su eklenerek iyice karıştırılmalıdır. Propolis, kavanozun içine çöken yabancı maddelerden arındırılmalıdır. Tüm bu işlemler uygulandıktan sonra propolis, biyolojik değerini kaybetmeden, kuru bir ortamda plastik torba içerisinde bir yıldan daha fazla süre muhafaza edilebilmektedir. (Ghisalberti, 1979).

2.2. Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Propolis, arılar tarafından bazı ağaçların ve bazı otsu bitkilerin tomurcuk, yaprak ve benzeri kısımlarından toplanan mumsu, yapışkan, rengi koyu sarıdan kahverengiye kadar değişkenlik gösteren bir maddedir. Bu madde kovan içerisinde birçok farklı amaca hizmet etmektedir. Propolisin rengi ve fiziksel özellikleri kaynağına göre değişkenlik gösterir (Şahinler, 2000; Hepşen ve ark., 1996). Esnek, yumuşak ve çok yapışkan bir madde olan propolis, 15 °C'den az sıcaklıklarda kısmen donmuş veya donmaya yakın halde olup, sert ve kırılabilir bir haldedir. 45 °C'nin üzerinde ise yapışkanlığı artar ve 60-70 °C'de ise sıvı hale geçer. Fakat erime noktasının 100 °C'yi bulduğu örneklerde mevcuttur (Krell, 1996).

Propolisin huş ağacı, diş budak, karaağaç, çam, meşe, okaliptüs, kavak, kestane gibi ağaçların tomurcuklarından, dal ve yapraklarından elde edildiği bildirilmiştir (Markham ve ark., 1996; Kartal ve ark., 2002). Propolis, içeriğinde %50 reçine ve zamksı madde, %30 bitkisel

mum, %10 esansiyel yağ, %5 polen, %5 organik bileşikler ve mineral maddeleri bulundurur (Kutluca ve Korkmaz, 2006). Bogdanov (2017) tarafından farklı coğrafik bölgelerden alınan propolisler incelenmiş olup çıkan sonuçlar ışığında toplam polifenol konsantrasyonunun artmasıyla antioksidan aktivitenin arttığı tespit edilmiştir ve polifenol içeriği brezilya propolisinden yüksek olan kavak propolisinin, antioksidan aktivite bakımından daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Şekil 2.3’de ham propolis ve propolis ekstresi birlikte gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Ham propolis ve propolis ekstresi

Propolis üzerinde yapılan çalışmalarda antimikrobiyel aktivitesinin güçlü olduğunu, insan sağlığı için önemli vitamin, mineral ve elementleri de içerdiğini göstermiştir. Propolis ve bal, 25 flavonoid çeşidini ortak bir şekilde içerir. Birçok faydası bulunan balın besin kaynağı açısından zengin olduğu düşünülürse bu benzerlik propolisi de değerli bir ürün olarak karşımıza çıkarmaktadır (Maciejewicz ve ark., 2001). Ayrıca propoliste Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn ve Fe gibi elementler ve çok sayıda yağ asidi bulunmaktadır. Bankova ve ark. (1982) ek olarak B1, B2, C ve E vitaminleri ile alüminyum, bakır, kalsiyum, stronsiyum ve vanadium elementlerinin bulunduğunu tespit etmişlerdir. Propolis içeriğinde, süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adozin trifosfataz ve asit fosfataz gibi enzimler bulundurmaktadır. (Doğan ve Hayoğlu, 2012). Çizelge 2.1’de propolisin içerdiği bileşik grupları ve sayıları verilmiştir.

Çizelge 2.1. Propolisin içerdiği bileşik grupları ve sayıları (Kumova ve ark., 2002)

Bileşikler	Tanımlanan Bileşik Sayısı (adet)
Flavanoidler	38

Hidroksiflavonlar	27
Hidroksiflavononlar	11
Kalkonlar	2
Benzoik Asit ve Türevleri	12
Asitler	8
Esterler	4
Benzaldehit Türevleri	2
Sinamil ve Sinamik Asit ile Türevleri	14
Alkoller, Ketonlar, Fenoller	8
Heteroaromatik Bileşikler	12
Terpen ve Sekuterpen ve Türevleri, Sehterpe	7
Alifatik Hidrokarbonlar	6
Sekuterpen ve Triterpen Hidrokarbonlar	11
Steroller Steroid Hidrokarbonlar	6
Minareller	22
Şeker	7
Aminoasitler	24

Propoliste bulunan flavonoidler, aromatik asitler ve esterler gibi bileşiklerin biyolojik aktiviteyi etkilediği düşünülmektedir. Fenolik ve resindeki diğer bileşiklerin sinerjistik etkisi ile bu aktivitenin meydana geldiği bildirilmiştir (Burdock, 1998). Pinosembrin, galangin ve kafeik asit fenil ester karışımlarının bakteriyel RNA (Ribo Nükleik asit) - polimerazı inhibe ederek antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Takaisi-Kikuni ve Schilcher, 1994). Ayrıca pinosembrin bileşiğinin fungistatik bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Mitro, 1996).

2.3. Propolisin Etki Ettiği Mikroorganizmalar

Propolis, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoa, antitumor, anti ulser ve anti inflamatuvar gibi çok farklı biyolojik ve farmakolojik özellikler göstermektedir. Bu özellikler

içerdiği çok sayıda fenolik asitler, esterler ve flavonoidler sayesinde oluşmaktadır. Çizelge 2.2’de propolisin etki ettiği çeşitli mikroorganizmalar listelenmiştir.

Çizelge 2.2. Propolisin etki ettiği çeşitli mikroorganizmalar (Bogdanov, 2017)

Gram Pozitif Bakteri	Gram Negatif Bakteri	Mantar	Virüsler
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Adenovirüs</i>
<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>E.coli</i>	<i>Candida: albicans</i>	<i>Coronavirüs</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Cryptococcus sp.</i>	<i>Herpes simplex</i>
<i>Diplococcus pneumonea</i>	<i>Klebsiella ozaemae</i>	<i>Histoplasma encapsulatum</i>	<i>Influenca A ve B virüs</i>
<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Microsporium: canis, cepleo</i>	<i>Polio virüs</i>
<i>Mycobacteria sp.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Saccharomyces sp.</i>	<i>Vaccinia</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Trichophyton sp.</i>	<i>Rotavirüs</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Shigella: dysintertiae, sonnei</i>	<i>Trichosporon cutaneum</i>	<i>Coronar virüs</i>

Etanol ile hazırlanan propolis ekstraktının, gram pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus*) gram negatif bakterilerden (*Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir (Silici ve Kutluca, 2005).

Grange ve Davey (1990) tarafından propolisin 1:20 dilisyonunda *Staphulococcus aureus*, *S. Epidermis*, *Enterococcus spp.*, *Crynebacterium spp.*, *Branhamella catarrhalis* ve *Bacillus subtilis*’in gelişmesini tamamen engellediği bulunmuştur. Aynı zamanda *Pseudomanas aeruginosa* ve *Escherichia coli*’nin gelişmesini kısmen engellerken *Klebsiella pneumoniae* üzerine etkili olmadığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada *Mycobacterium tuberculosis* suşunu 1:320 dilisyonunda tamamen, 1:640 dilisyonunda kısmen gelişmesini engellediğini bildirmişlerdir.

Silici ve Kutluca (2010), propolis ekstraktının, virüslerin, bitkiler (salatalık mosaik, tütün benek, tütün kangren gibi), hayvanlar (HSV-1, varicella zoster ve influenza) ve insanlar (human immunodeficiency-HIV) üzerinde sebep olduğu enfeksiyona etkisi olduğunu tespit

etmişlerdir. Propolisin, adenovirüs, herpes symplex, influenza A ve B virüs, rotavirüs, coronar virüs ve 2020-2021 yıllarında tüm dünyada ve ülkemizde pandemi şeklinde görülen corona virüs gibi türlere karşı etkili olduğu bilinmektedir (Güney ve Yılmaz, 2013).

Hegazi (1998) tarafından propolisin, in vitro ortamda influenza virüsünü (tip A) tamamen inaktif ettiği, sulu propolis ekstraktının ise çiçek hastalığı virüsünün etkisini 15 dakika içinde önemli miktarda azalttığı görülmüştür. Marcucci (1995), propolisin, DNA ve RNA virüsleri olan adenovirus tip 2, herpes simplex virüs (tip 1 ve 2), kabarcıklı ağız iltihabı virüsü ve poliovirus (tip 2)'e karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bogdanov (2017) tarafından Influenza virüsüne karşı özellikle farklı kaynaklardan toplanan propolisin ve Brezilya yeşil propolisinin büyük oranda etkisi olduğu kanıtlanmıştır.

Matsuno ve ark. tarafından (1997) propolis ekstraktının, hastalık oluşturan 17 mantar türü üzerinde antifungal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

2.4. Propolisin Kullanım Alanları

Propolis, yapılan çalışmalar sonucu göstermiş olduğu birçok fayda sayesinde, 1985'li yıllardan günümüze kadar özellikle Japonya başta olmak üzere dünya ticaretinde sürekli olarak alınıp satılan bir ürün haline gelmiştir. Kozmetik sanayinden tıba kadar çeşitli alanlarda ve formlarda kullanılan propolis, Türkiye'de dış macunu içeriğinde kullanılmaya başlanmıştır (Erdem, 2002). Yapılan çalışmalarda propolisin 30-60 mg' a kadar alındığı takdirde vücut direncini arttırdığı görülmüştür. Bu sayede propolis ekstaktı kullanılarak hazırlanan birçok propolisli ürün ortaya çıkmıştır.

Propolisin ilaç alanında kullanımı yaygın olup, kardiyovasküler sistem ve kan dolaşımı rahatsızlıklarında, kulak, burun, boğaz ve bronşial bölgelerde (boğaz enfeksiyonları, faranjit, laranjit, rinit, sünizit, kulak iltihabı) kapsül, sprey, tablet, gargara, sakız şekillerinde tedavi edici amaçla kullanılmaktadır (Şahinler, 1999 ve Choudhari, 2013). Mide ve onikiparmak bağırsağı ülserlerinde, romatizmal hastalıklarda propolisin ilaç olarak kullanılması olumlu etki göstermiştir. İşçi arılarının kovanlarını iklim koşullarından korumak için kullandığı propolis birçok mikroorganizmayı inaktif ettiği gibi cilt kanserine iyi geldiği bilinmektedir (Münstedt ve Zygmunt, 2001).

Dermatolojik ve kozmetik uygulamalarda farklı çalışmalar yapılarak propolisin, antibakteriyel ve antifungal özellikleri sayesinde hücre yenileme ve onarma özelliğinden

yararlanılarak birçok uygulamada fayda sağlamıştır (Lejeune ve ark., 1988). Kremler, losyonlar, yüz maskeleri, sabunlar, şampuanlar, burun spreyleri, diş macunları ve ticari kozmetik preparatlarında, propolisin özelliklerinden faydalanılmaktadır.

Propolis, günümüzde sürekli olarak alınıp satılarak, dünya ticaretinde ve marketlerde yer edinmiştir. Ülkelere göre propolisin fiyatı değişmekte olup, ABD ve Kanada'da fiyatı , propolisin sıkça kullanıldığı Yeni Zelanda'ya göre daha ucuzdur. Çin, Uruguay, Arjantin, Brezilya, Kanada, Şili ve bazı Doğu Avrupa ülkeleri başlıca üretim ülkeleridir. Brezilya, propolisin en çok üretildiği ülke olmakla beraber özel kovanlar ile propolis üretmektedir. Bu kovanlar işlenmek üzere Japonya'ya gönderilerek ülkeden tonlarda propolis ihraç edilmektedir. Japonya'da ki propolis talebi, Tayland'da o kadar fazla değildir. Fakat propolise talep gün geçtikçe artmaktadır (Kutluca ve ark., 2006). Günümüzde değerli bir arı ürünü olan propolise dünya marketlerinde ve ticaretinde büyük ilgi gösterilmektedir.

2.4.1. Propolisin Gıda Sanayinde Kullanımı

Birçok bilimsel çalışma yapılarak bulunan propolisin antimikrobiyel etkisinin, gıda ürünlerinin dayanıklılığı konusunda önemli derecede fayda sağladığı bilinmektedir. Aynı zamanda Katalinic ve ark. (2004) tarafından propolisin, insan beslenmesinde besleyici katkı maddesi ve gıda sanayisinde oksidasyona karşı, içerdiği yüksek antioksidan sebebiyle etkili olabileceği bildirilmiştir . Propolisin çeşitli bakteri, mantar, virüs ve diğer mikroorganizmalara karşı etkisi ile ilgili birçok bilimsel araştırma gerçekleştirilmiştir. Şekil 2.4'de propolisli ürün örneği gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Propolisli ürün örneği

Propolisin belirli işlemlerden geçmeden saf olarak kullanılması insan sağlığına fayda yerine sakınca oluşturabilmektedir. Kovandan alınan propolisin saflaştırılması gerekmektedir. Bu nedenle su, etanol, propilen glikol, etil asetat, gliserol vb. çözücülerde ekstrakte edilerek elde edilen ekstraktın kullanımı yaygındır. Propolis, gıda sektöründe ekstraksiyon işlemleri için farklı çözücülerle birlikte kullanılmaktadır.

Han ve Park (1995) tarafından propolisin, et ürünlerinde kimyasal koruyucu olarak kullanılabileceği antimikrobiyel etkisi sayesinde tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada propolisin, germisit ve insektisit etkisi sebebiyle gıda paketlemede kullanılmasıyla olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Mizuno, 1989). Ek olarak donmuş balıklarda propolisin kullanılmasının 2-3 kata kadar balıkların raf ömrünü uzattığı bulunmuştur (Donadieu, 1979).

Mısır'da yapılan bir araştırmada propolis eklenmiş yöresel bir sucuk tipinde, propolisin raf ömrüne etkisi çalışılmıştır. Kontrol grubu ve %0,6 propolis ekstraktı eklenen örnekler +5°C'de buzdolabında muhafaza edilmiş ve mikrobiyel gelişme süresi gözlemlenmiştir. 12. günde kontrol grubu örnekleri bozulmaya başlarken propolis katkılı sucuk örneklerinde mikrobiyel gelişme 21.güne kadar uzamıştır (Ali ve ark., 2010).

Bir başka çalışmada propolis, elma suyunda *E.coli* ve *E.coli* O157:H7 suşunun gelişimini önlemek amacıyla kullanılmıştır. Kontamine edilen 4 farklı grup örnek (kontrol, %1, %2 ve %5 propolis katkılı) 4 ve 25°C'de 18., 24., 48. ve 72. saatlerde mikroorganizma gelişimi tespit edilmiştir. Sonuç olarak %2 ve %5 propolis konsantrasyonlu elma suyu örneklerinde önemli bir antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir (Sağdıç ve ark., 2007).

Çin'de yapılan bir araştırmada propolis ilave edilen yoğurt üzerinde propolisin antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Çalışmada zararlı bakteriler ile birlikte (*S.aureus* ve *E.coli*) yararlı bakteriler olan *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* gibi bağırsak florasında da bulunan bakteriler üzerinde propolisin etkisi araştırılmıştır. Düşük konsantrasyonda propolis ilavesinin *S.aureus* ve *E.coli* gelişimini azaltıcı etki gösterirken, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* üzerinde oldukça düşük düzeyde antimikrobiyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Jian-xin ve ark. 2011).

Ordu Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada propolisin farklı konsantrasyonlarda eklenerek hazırlanan meyveli yoğurtlarda doğal bir koruyucu olabilme potansiyeli

incelenmiştir. Çalışmada propolis katılan meyveli yoğurtlarda antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite, kimyasal ve duyuşal özelliklere etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda propolis eklenen yoğurt örneklerinde mikrobiyel gelişme yavaşlarken antioksidan aktivite artmış, kimyasal ve duyuşal özellikler arasında ise propolis katkısının herhangi bir farklılığa neden olmadığı bildirilmiştir (Güney, 2016).

2.5. Ekstraksiyonda Kullanılan Çözücülerin Çözücü Özellikleri

Propolisin insan sağlığına fayda göstermesi için kovandan alındıktan sonra saflaştırılması gerekmektedir. Propolis, gıda sektöründe ekstraksiyon işlemleri için farklı çözücülerle birlikte kullanılmaktadır. Propolis ekstraksiyonunda en çok tercih edilen etanolün (Noureddine ve ark., 2017; da Silva ve ark., 2018) dışında su (Cottica ve ark., 2015; Ertürk ve ark., 2014), metanol (Segueni ve ark., 2017; Bakdash ve ark., 2018), metilen klorür (Seugeni ve ark., 2017), diklorometan (Ghamdi ve ark., 2017), hegzan (Mohtar ve ark., 2017), etil asetat, aseton (Ertürk ve ark., 2014), zeytinyağı ve β -siklodekstrin (Taddeo ve ark., 2016) dimetilsülfoksit (Netíková ve ark., 2013), propilen glikol, etil asetat ve kloroform (Arslan ve ark., 2010) propolisin ekstraksiyonu için tercih edilen diğer çözücü bileşenlerdir. Propolisin ekstraktında kullanılan solventlerden biri olan su, mevzuatta yer almasına karşın propolisin içerisindeki biyoaktif bileşenleri, alkollü çözücüler kadar iyi çözmemektedir. Propolis ekstraksiyonunda endüstride en çok tercih edilen çözücünün etanol olmasının sebebi daha fazla biyoaktif çözmesidir. Kullanılacak olan çözücüler tercih edilirken son ürüne odaklanılmalıdır. Özellikle sağlık ve gıda sektöründe su ve gliserol gibi toksik olmayan çözücüler propolis ekstraksiyonunda kullanımı uygun bulunmaktadır. Su, etanol, zeytinyağı, propilen glikol, etil asetat ve gliserol (gliserin) dışındaki çözücüler araştırmalarda kullanılsa da mevzuatta yer almadığı için ekstrakte edilen propolisler tüketiciye sunulmamaktadır. Bunun nedeni mevzuat dışındaki çözücülerin insan sağlığına uygun olup olmamasıyla ilgili yeterli çalışmaların yapılmamış olmasıdır.

Propolis ekstraksiyonunda kullanılan farklı çözücülerin çözücü özellikleri farklı olduğu gibi, propolisin sahip olduğu toplam fenolik madde miktarı, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitesi gibi özelliklerinin belirlenmesinde farklı sonuçlar elde edilmesine neden olmaktadır.

Kubiliene ve ark. (2015) yaptığı çalışmada propolisin etanol, su ve zeytinyağı ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini karşılaştırmıştır. Yapılan çalışma sonucunda etanollü

propolis ekstraktlarının, sulu ve zeytinyağlı ekstraktlara göre daha gcl antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür.

Arslan ve ark. (2010) tarafından farklı çözücülü propolis ekstraktlarının Streptococcus mutans üzerine in vitro antimikrobiyal etkisini araştırılmıştır. Kullanılan altı çözücüden (etanol, metanol, etil asetat, propilen glikol, kloroform ve hekzan) S. mutans üzerine en iyi inhibitör etkiyi metanol ve etil asetat ekstraktları göstermiştir.

Yapılan bir başka çalışmada Cunha ve ark. (2004) tarafından Brezilya propolisinde farklı ekstraksiyon metotları kullanılarak metotların fenolik içeriğe etkisi araştırılmıştır. Propolis ekstraktlarının Soxhlet cihazı ile ayrı ayrı 10 gün ve 20 gün boyunca alkolle muamele sonucu elde edildiği bildirilmiş. Sırasıyla polifenol değerleri %13.34, 11.50 ve 11.87 bulunduğu bildirilmiştir. Fenolik içerikler %30, %50 ve %70'lik alkol çözeltileri kullanılarak elde edildiği bildirilmiştir. Alkol oranı arttıkça bileşenlerin miktarının da arttığı rapor edilmiştir.

2.6. Gıda Ambalajlamada Kullanılan Başlıca Plastikler

Gıda sanayiinde ambalaj konusu teknik ve ekonomik yönden en önemli unsur olarak gelimi ve gelişmekte olan ülkeleri ilgilendiren bir konu olmuştur. Gelişen gıda teknolojisi ile ambalaj malzemelerinden ambalaj kabı yapımı, birbiriyle doğrudan ilişkilendirilerek ambalajların gıdaya etkileri geçmişten günümüze birçok çalışmada incelenmiştir. Petrol ve doğal gaz gibi doğal kaynaklardan elde edilen hidrokarbonların kullanımı ile plastikler üretilmektedir. Farklı bir tanımla, plastikler, monomerlerin kimyasal bağlarındaki değerlik ile polimerlere dönüşmesiyle elde edilmektedir. Çoğunlukla organik özdekler olan plastikler; ısı yada basınç etkisiyle yumuşak forma getirilip, çeşitli yöntemlerle biçimlendirir. Soğuduktan sonra da bu biçimlerini koruyabilmektedirler. Plastikler, ikiye ayrılırlar. Bunlar; termoplastikler ve termosetlerdir. Termoplastikler; ısı ve basınç altında herhangi bir değerlik göstermeden plastik özelliklerini korurken termosetler ise ısı ve basınç altında kimyasal tepkime gösterir. Termosetler, kimyasal tepkime gösterdikleri sırada katı bir ađ oluştururlar ve bu ađ yan yana olan polimer zincirleri birbirine çapraz biçimde bağlanarak, yeniden biçimlendirilmesi ile olmaktadır. Isı ve basınç uygulanan termoplastikler geri dönüştürülerek yeniden üretimde kullanılabilirler (Kılıç ve Yüce, 2014). Termoset plastikler; epoksi reçineler, furan reçineleri, fenolik reçineler, aminoasitler, alkitler, doymamış asit poliesterleri, poliüretanlar ve silikonlardır. Termoplastikler; Düşük yoğunluklu polietilen (LDPE), Yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE), Polistyrene (PS), Polypropylene (PP), Polyethylenetetrapythalate (PET

veya PETE), Polivimklorür (PVC) olmak üzere gruplara ayrılmaktadırlar. (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

LDPE, 0,910-0,940 g/cm³ yoğunluk aralığında tanımlanır. Yüksek oksidasyon etmenleri dışında oda sıcaklığında tepkisizdir. 80°C sıcaklıklarında sürekli ve 95°C de kısa bir süre dayanabilir. Tümüyle esnek yarısaydam ya da opak varyasyonlarla oluşur ve hemen hemen hiç kırılmayacak kadar güçlüdür. Sıklıkla ambalajlamada; shrink film, poşet ve sera örtüsü, elektrik sanayisinde kullanılmaktadır. Plastiklerin %18 ini oluşturan LDPE'nin %52 si paketleme amacıyla kullanılmaktadır. Paketlemede kullanılan miktarın %1 inin ve bütün miktarın %0,5 inin geri dönüşümle yeniden kullanılabilceği bildirilmiştir. Tüm dünyada sıklıkla kullanılan naylon torbaların çoğunluğu bu maddeden üretilmektedir. Geri dönüştürüldüğünde fırça yapımında ve yeni naylon torbalarda kullanılmaktadır (Kıralp ve ark., 2007).

Dayanıklı ve kolay üretilebilen bir özelliğe sahip olan HDPE, dış görünüş olarak LDPE'ye benzese de ondan çok daha sert, molekül kütlesi 150.000-400.000 civarında bir polimerdir. Suya ve kimyasal maddelere karşı dayanıklı olduğu halde ışık ve açık hava koşullarına alçak yoğunluklu polietilende olduğu gibi dayanıklı değildir. Direnç arttırmak için özel dolgulardan yararlanılabilir. Sıcaklık dayanımı 100 °C'nin üzerindedir. Esnek, dayanıklı ve saydamdır. Esnek, sağlam ve dayanıklı olan HDPE, içecek şişeleri, özellikle süt güğümleri, süt ve şekerli içecek kapları, boru , kablo ve film yapımında tercih edilmektedir. Tüm plastiklerin yaklaşık %15 ini oluştururken paketlemede %53 oranında kullanılmaktadır. Paketlemede kullanılan miktarın %6,3 ü ve tüm kullanımının %3,6 sı geri dönüşümle yeniden kullanılabilceği bildirilmiştir (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

PS, stiren monomerinin polimerizasyonu ile yapılan katı ve saydam bir plastik hammaddedir. Dünyada genel amaçlı en çok kullanılan plastik hammadde sıralamasında ilk beşe girmektedir. Maksimum kullanılabilir sıcaklığı 70°C' ve yoğunluğu 1,03-1,06 g/cm³ arasında değişmektedir. En tanınmış formlarından olan Styrofoam (köpük polistiren) Polistiren'den 30 kat daha hafiftir. Şeffaflığı, iyi işlenebilmesi, akışkanlığı, gıdaya uygunluğu, termal özelliği ve diğer birçok özellikleri nedeniyle tercih edilmektedir. Plastik ev eşyalarının, hazır yemek taşıma paketlerinin ve elektronik maddelerin üretiminde kullanılmaktadır. Evlerden kaynaklanan ambalaj atıkları içerisinde en az rastlanan ambalaj türüdür. Yoğurt ve margarin kaplarında yoğun olarak kullanılan polistirenin geri kazanımı oldukça yaygındır (Kıralp ve ark., 2007). Tüm plastiklerin %7,8 ini oluştururken üretimin %39 u paketlemede

kullanılmaktadır. Paketlemede kullanılanların %1,2 si bütün üretimin ise %0,5 i geri dönüşüme sokulmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Plastik şişeler, elektrik sanayi ve mutfak eşyası yapımı gibi birçok farklı kullanım alanına sahip polipropilen (PP), üstün fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Polipropilen genel olarak polietilenle benzerlik gösterir ve aynı zamanda ucuzdur. Polietilen filmlereden farkı daha parlak, transparan ve yüksek mukavemetli filmler olmalarıdır. Maksimum kullanılabilir sıcaklığı 135°C' ve yoğunluğu 0,90-0,92 g/cm³ arasında değişmektedir. Nemin uzaklaştırılması için PET'e göre 500 kez daha elverişlidir ve sıcak paketleme için uygundur (Kıralp ve ark., 2007). Bütün plastiklerin %13,2 sini oluştururken %18 i paketleme amacıyla tercih edilmektedir. Paketleme işlemlerinde kullanılanların %0,4 ü, tümünün ise %2,2 si geri dönüşüme sokulmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Yoğunluğu 1,33-1,37 g/cm³ olan PET, sağlam ve gaz geçişine dayanıklı, yarı saydam, suda yüzebilir bir maddedir. Maksimum kullanılabilir sıcaklığı 60°C ve erime sıcaklığı 250°C'dir (Sevencan ve Vaizoğlu, 2007). Fotograf filmleri, video teyp bantları, meşrubat şişeleri ve gıda ambalajı gibi çok çeşitli kullanım alanına sahiptir. Özellikle karbonat içeren içecekler için çok uygun bir maddedir. Tüm plastiklerin %2,3 ünü oluştururken paketleme amacıyla %54 ü kullanılır. Toplaması kolay olup toplayıcılar tarafından tercih edilmektedir. Bir çok kolalı içecek firması bu şişeleri kullanarak piyasaya ürün çıkmaya başlamıştır. Yeniden kullanıma girdiğinde halı, fiberdolgu maddesi, şişe ve kapların yapımında kullanılmaktadır.

PVC, dünyada ilk kullanılan termoplastiklerden birisi olup monomeri etilenden (%43) ve klordan (%57) elde edilen vinil klorürdür. Maksimum kullanılabilir sıcaklığı 70 °C ve yoğunluğu 1,32-1,42 g/cm³ arasında değişmektedir (Devlet Kalkınma Teşkilatı, 2001). Kağıt ve tekstilde, kaplama işlerinde, sert plastikten boru yapımında, kapı ve pencere yapımında, yer karoları gibi diğer inşaat malzemelerinin imalatında, ayakkabı yapımında tercih edilir. Üretilen plastiklerin %13,5 ini oluştururken %6 sının paketlemede amacıyla kullanıldığı, paketlemede kullanılan miktarın %0,2 sinin, tümünün ise %0,1 inin geri dönüşüme sokulmaktadır. Çoğu dayanıklı olduğundan kentsel çöp yüküne düşük oranda katılırlar (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

2.7. Aktif Paketleme

Gıda ambalajı, içerisine konulan ürünün son tüketiciye mikrobiyel gelişme olmadan ulaşmasını hedefleyen, güvenilir ve hijyenik malzemelerdir. Gıdanın, ambalaj veya ambalaj

teknolojisiyle uyum sağlaması önemli olup bu sayede gıdanın kalitesini ve tazeliğini korumayı amaçlar. Gıda ambalajları, taşıma ve stoklama ile kullanma kolaylığı sağlama, ürünü tanıtmaya, ürün durumu ile alakalı bilgi verme ve tüketiciyi satın almaya özendirme işlevlerinin yanında ülke ekonomisine önemli derecede katkı sağlamaktadır (Kocamanlar, 2009; Üçüncü, 2011). Günümüzde gıda ambalajları sadece gıda ürününü koruma ve pazarlama gibi görevlerin yanı sıra aktif ve akıllı ambalajlama kavramları ile gıdanın raf ömrünü uzatmak, gıda kalitesi ve güvenliğini geliştirmek veya izlemek gibi tüketiciye birçok yenilikçi çözümler sunmaktadırlar (Dobrucka, 2013). Aktif ambalajlama, ambalaj içindeki ortamın ambalaja aktif bileşenler yerleştirilerek değiştirilmesi ile bozulma reaksiyonlarının hızını en az düzeye indirmek, gıda kalitesini korumak ve gıdanın raf ömrünü uzatmak amacıyla tasarlanmış ambalajlama sistemidir (Pereira ve ark., 2012). Aktif ambalajlama sistemleri çalışma prensiplerine göre “aktif salıcı-yayıcı sistemler” ve “aktif emici-tutucu sistemler” olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar (Üçüncü, 2011). Aktif salıcı-yayıcı sistemlerde etanol salıcılar, karbondioksit salıcılar ve tat-koku salıcılar, aktif emici-tutucu sistemlerde ise karbondioksit tutucular, oksijen tutucular, etilen tutucular, nem tutucular, tat/koku tutucular kullanılmaktadır. Çizelge 2.3.’te bazı aktif ambalajlar ve ambalajlamada kullanılan yapılar uygulama alanları ile beraber verilmiştir

Çizelge 2.3. Bazı aktif ambalajlar ve ambalajlamada kullanılan yapılar (Dobrucka, 2013)

Aktif Ambalajlama Sistemi	Mekanizma	Gıda Uygulamaları
Oksijen tutucular	Demir esaslı metal / asit metal katalizörü (örneğin platin) Askorbat /metalik tuzları Enzim temelli	Ekmek, kek , pişmiş pirinç, bisküvi, pizza, makarna, peynir, salam ve balık, kahve, kurutulmuş gıdalar ve içkiler
Karbondioksit tutucular/salıcılar	Demir oksit/ kalsiyum hidroksit kalsiyum oksit/ aktif kömür askorbat / sodyum bikarbonat	Kahve, taze et ve balık, fındık ve diğer aperatif yiyecekler, sünger kek
Etilen tutucular	Aktive edilen potasyum permanganat Aktif karbon	Meyve, sebze ve diğer bahçecilik ürünleri

Koruyucu madde salıcılar	Organik asitler, gümüş zeolit, baharat ve bitki özleri, BHA/BHT antioksidanlar, E vitamini antioksidan, uçucu klor dioksit / kükürt dioksit	Tahıllar, et, balık, ekmek, peynir, aperatif yiyecekler, meyve ve sebze
Etanol salıcılar	Kapsüle edilmiş etanol	Pizza, kek, ekmek, bisküvi, balık ve unlu mamuller
Nem tutucular	Minareller Silika jel	Balık, et, kümes hayvanları, aperatif yiyecekler, hububat, kurutulmuş gıdalar, sandviç, meyve ve sebzeler
Lezzet / koku tutucular	Selüloz triasetat, sitrik asit, askorbat, aktif karbon / kil / zeolitler	Meyve suları, kızarmış aperatif yiyecekler, balık, tahıllar, kümes hayvanları, süt ürünleri ve meyve

2.7.1. Antimikrobiyel Paketleme

Gıda ürünlerinde en az maliyet ile raf ömrünü uzatmak, kaliteyi ve gıda güvenliğini en üst seviyede tutmak ambalajlama endüstrisinin ilk hedefidir. Günümüzde tüketicilerin doğala en yakın ve en az işlem görmüş, taze ve güvenli gıda ürünlerine olan talebi artmaktadır. Yenilikçi bir aktif ambalajlama şekli olan antimikrobiyel ambalajlama, doğal yollarla gıdanın kalitesini ve güvenliğini, gıdadaki mikroorganizma gelişme hızını azaltarak veya lag dönemini uzatarak arttırmaktadırlar. Bu sayede antimikrobiyal paketleme ile gıdaların bozulmasına neden olan mikroorganizmalar inaktif hale getirilerek, gıdanın raf ömrünün uzatılmasında katkı sağlamaktadır. Gıdaların kalite kontrolü yapılarak tüketici sağlığının korunması ve minimum hasarla saklanması antimikrobiyal ambalajlama teknolojileri ile gerçekleştirilmektedir.

Bir gıdanın raf ömrünü belirleyen birçok evre vardır. Paketleme işlemi en önemli basamaklardan biridir. Geleneksel besin paketlenmesinde 3 ana hedef vardır. Bunlar, kalitenin korunması, raf ömrünün uzunluğu ve kalite güvencesine inanç etkenleridir. Bu 3 faktör üzerinde etkili olan mikroorganizma gelişiminin kontrol altına alınması ile özellikle kontaminasyona karşı hassas, kolay bozulabilen gıdalar için antimikrobiyal paketleme sistem oluşturulmuştur. Antimikrobiyal fonksiyon; paketleme sistemine antimikrobiyal ajanların ilave edilmesi ile ya

da serbest kalabilme, absorpsiyon ve sabit kalma şeklinde 3 değişik tarz gösteren antimikrobiyel polimerik materyal kullanılarak oluşturulur. Serbest kalabilen sistemler, besinlerin içine ya da paketin içerisindeki üst boşluğa yerleşerek antimikrobiyal ajanların hareketine olanak sağlar. Antimikrobiyal ajanlar, eriyebilen madde ya da gaz olarak tercih edilebilir ve eriyebilen antimikrobiyal ajanlar, besin maddesi ile paket arasındaki tüm boşluklara dağılabilirler (Kaba ve Duyar, 2008).

Propolis, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri sayesinde gıda teknolojisi alanında sıklıkla tercih edilmektedir. Bu sebeple propolis ekstraktının, arının üretimi olan arı sütü, polen, bal gibi ürünlerle birleştirilmesiyle insan sağlığına fayda sağlayan gıda alanında geniş bir ürün skalası oluşmuştur (Yücel, 2004). Aynı zamanda gıdanın son tüketiciye bozulmadan, güvenilir bir şekilde ulaşması, istenilen kriterler arasındadır.

Torlak ve Sert (2013) tarafından kitosan-propolis kaplı polipropilen filmlerin gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyel etkinliği incelenmiş olup, propolisin etanolik ekstraktı olan EPP'nin kaplamaya %10 (propolis reçinesi / kitosan) dahil edilmesi, *Bacillus cereus*, *Cronobacter sakazakii*, *Escherichia coli O157: H7*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* patojenlerine karşı antibakteriyel aktiviteyi arttırdığı görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları, kitosanın film formunda antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu ve propolisin gıda paketlenme uygulamaları için umut verici bir antimikrobiyal olduğunu ortaya koymuştur.

Propolisin antimikrobiyel etkisi, gıda ürünlerinin dayanıklılığı konusunda önemli derecede katkı sağlayan özelliklerden biridir. Bu çalışmada farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan propolis ekstraktlarının, antibakteriyel paketlenmeye uygunluğu ve antibakteriyel etkisi incelenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Kırklareli bölgesinde, meşe ağacı (*Quercus* spp.) bitki orijininin yoğunlukta olduğu bir habitatta yaşayan arı topluluğunun ürettiği ham propolis, Demirköy Bal Üreticiler Birliği yardımı ile sabit arıciydan temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan mikroorganizma suşları Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı Kültür koleksiyonundan alınmıştır. *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P) ve *Escherichia coli* (ATCC 8739) suşları kullanılmıştır. Mikrobiyolojik analizde, solüsyonları antibakteriyel aktivite açısından agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile karşılaştırmak için Müller-Hinton Agar (Merck), bakterilerinin sayımı için Triptik Soy Agar (Merck), bakterilerin sıvı ortamda gelişmesi için Nutrient Broth (Merck), antiseptikleri ve dezenfektanları nötralize etmek ve işlemiden sonra kalan organizmaları tespit etmek için Difco D/E Neutralizing Broth (Becton Dickinson 281910), ISO 22196:2011 metodunda bakterilerin geliştirilmesi için Brain Heart Infusion Broth (Thermo Scientific CM1135) kullanılmıştır.

ISO 22196:2011 metodunda inkübatör ortamının istenilen sıcaklık, nem seviyesinde olması ve test aşılarını hazırlama prosedürüne uyulması oldukça önemlidir. Uygun ortam sağlanmadığı takdirde bakterilerin hem katı hem sıvı besiyerinde gelişmediği gözlemlenmiştir.

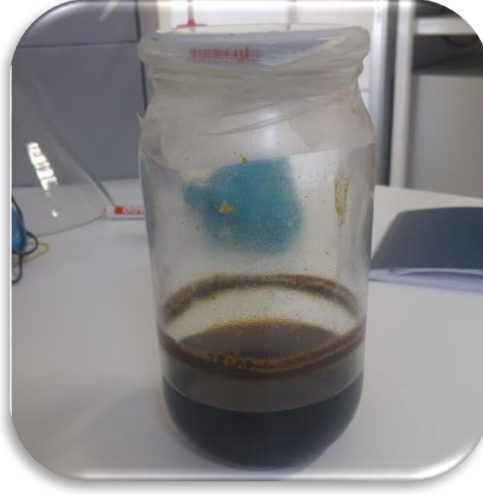
3.2. Yöntem

Kaplama solüsyonlarının hazırlanması:

Ham propolis, her biri %10 olacak şekilde propilen glikol, etil asetat, yağ, gliserin, etil alkol, %5 wax ve ayçiçek yağı karışımı hazırlanmış ve film solüsyonu için 495 ml saf su, 5 ml asetik asit, 10 g kitosan ölçülerek içerisinde tartılmıştır. Çalkalayıcı inkübatörde (Precise Shaking Incubator, BenchTop Type-WIS20R) 60 °C’ de 150 rpm’ de 3-4 saat bekletilmiştir. Bu işlem sonucunda analizde kullanılmak üzere +4°C’de buzdolabında saklanmıştır. Şekil 3.1’de propolis ekstraktının hazırlanma aşamaları gösterilmiştir.







Şekil 3.1. Propolis ekstraktının hazırlanma aşamaları

Propolisli solüsyonlar ile kıyaslanması için antibakteriyel solüsyonlar belirlenmiştir ve Çizelge 3.1’de antibakteriyel solüsyonların isimlendirilmesi gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Antibakteriyel solüsyonların isimlendirilmesi

	Antibakteriyel Solüsyon	Marka
A	Dianatura Base	Diatek
B	Dianatura Safe	Diatek
C	Proallium DMC	Diatek
D	Herbal Liquid Extract Mixture	Asatim

Düşük Yoğunluklu Polietilen Filmlerin (LDPE) kaplanması:

LDPE: A4 kağıdı boyutunda kesilerek tek tek boş olarak tartılmıştır. Belli konsantrasyonda hazırlanmış olan propolisli solüsyonlar ve diğer antibakteriyel solüsyonlar filmlere Black&Decker HVLP200 püskürtme makinesi ile uygulanıp, tekrar tartıma alınmıştır. 2 gün tamamen kuruması beklendikten sonra tartılıp, plastik yüzeye tutunabilirliği incelenmiştir. Şekil 3.2’de LDPE filmlerin kaplanması aşamalarıyla birlikte gösterilmiştir.





Şekil 3.2. LDPE filmlerin kaplanması

%propolis miktarını belirleyecek denklem aşağıda verilmiştir;

$$\frac{\text{Kuruduktan sonra (g)} - \text{Normal (g)}}{\text{Normal (g)}} \times \frac{10}{100}$$

(3.1)

Antibakteriyel Aktivite Düzeyinin Belirlenmesi (Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu ile)

Antibakteriyel aktivite düzeyinin belirlenmesi için Müller-Hinton Agar (MHA) kullanılmıştır. McFarland 0.5 (10^8 mikroorganizma/mL) bulanıklığa eşdeğer bulanıklıkta ayarlanarak standart bir bulanıklık oluşturulmuştur. Bu süspansiyondan 100 mikrolitre alınan örnek steril bir eküvyon yardımıyla Müller-Hinton agar yüzeyine yayılmıştır. Takiben agar yüzeyine otoklavlanmış sarı pipetin arka kısmıyla eşit uzaklıkta olacak şekilde 2 tane kuyucuk açılıp, solüsyonlar farklı petriyeler olacak şekilde 10 µL ve 15 µL enjekte edilir. Bu işlem yapılırken, oluşacak zonların birbiri üzerine gelmemesi için delikler arasında 22 mm, petri kenarından ise 14 mm uzaklık olmasına dikkat edilmiştir. Daha sonra besiyerleri 18-24 saat süreyle 37°C'de inkübe edilip, oluşan inhibisyon zon çapları kumpas ile ölçülmüştür. Bunun ardından, ISO 22196:2011 metodu ile antibakteriyel aktivite incelemesi, plastik yüzeye tutunan ve bu analizde en etkili sonuç veren solüsyonlar arasında yapılmıştır. Şekil 3.3'de inhibisyon zon çaplarının ölçüldüğü kumpas gösterilmiştir.



Şekil 3.3 Kumpas

ISO 22196: 2011 Metodu ile Antibakteriyel Aktivite İncelenmesi

ISO 22196:2011 Test Aşılarının Hazırlanması:

Bu metotta ilk olarak bakteri kültürünün bulanıklığı 0.5 McFarland (10^8 mikroorganizma/mL) bulanıklığa eşdeğer olacak şekilde ayarlanarak standart bir bulanıklık

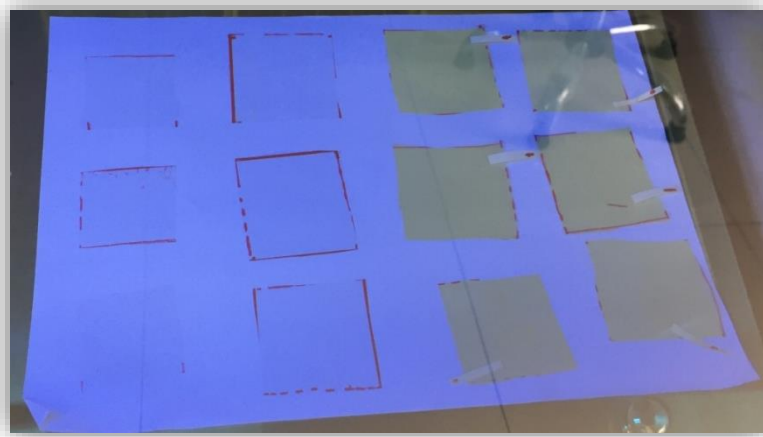
oluşturulmuştur. Bakterilerin geliştirilmesi için hazırlanan 10 mL Brain Heart Infusion Broth çözeltisine (pH'ı sodyum hidroksit veya hidroklorik asit ile 6.8 ile 7.2 arasında bir değere ayarlanmış ve otoklavlanmış) 0.5 McFarland bulanıklıkta bakteri süspansiyonundan 10 mikrolitre eklenerek çözelti hazırlanmıştır.

ISO 22196:2011 Düşük Yoğunluklu Polietilen Filmlerin (LDPE) Hazırlanması:

Solüsyon entegreli LDPE filmler (50 ± 2) mm \times (50 ± 2) mm, boş LDPE filmler (40 ± 2) mm \times (40 ± 2) mm kesilerek küçük kareler oluşturulmuştur. UV işlemi uygulanarak filmlerin steril olması sağlanmıştır. şekil 3.4'de hazırlanan LDPE filmler ve şekil 3.5'de filmlere uygulanan UV işlemi gösterilmiştir.



şekil 3.4. Hazırlanan LDPE filmler



Şekil 3.5. LDPE filmlere UV işlemleri uygulaması

ISO 22196:2011 Test Örneklerinin Aşılması:

UV işlemleri ile steril edilen solüsyon entegreli (50±2) mm × (50±2) mm olarak hazırlanan LDPE filmler, boş bir petri kabına test edilecek yüzey, ürünün açıkta kalan dış yüzeyi olacak şekilde yerleştirilerek, hazırlanan test aşısı 200 µL olacak şekilde test yüzeyine pipet yardımıyla konulmuştur. Daha sonra (40±2) mm × (40±2) mm olarak hazırlanan boş LDPE filmler, üzerine örtülerek filme hafifçe bastırılıp, petri kabının kapağı kapatılarak 35°C’de belirli sürelerle inkübe edilmiştir. Şekil 3.6’da petri kaplarına yerleştirilen LDPE filmler gösterilmiştir.

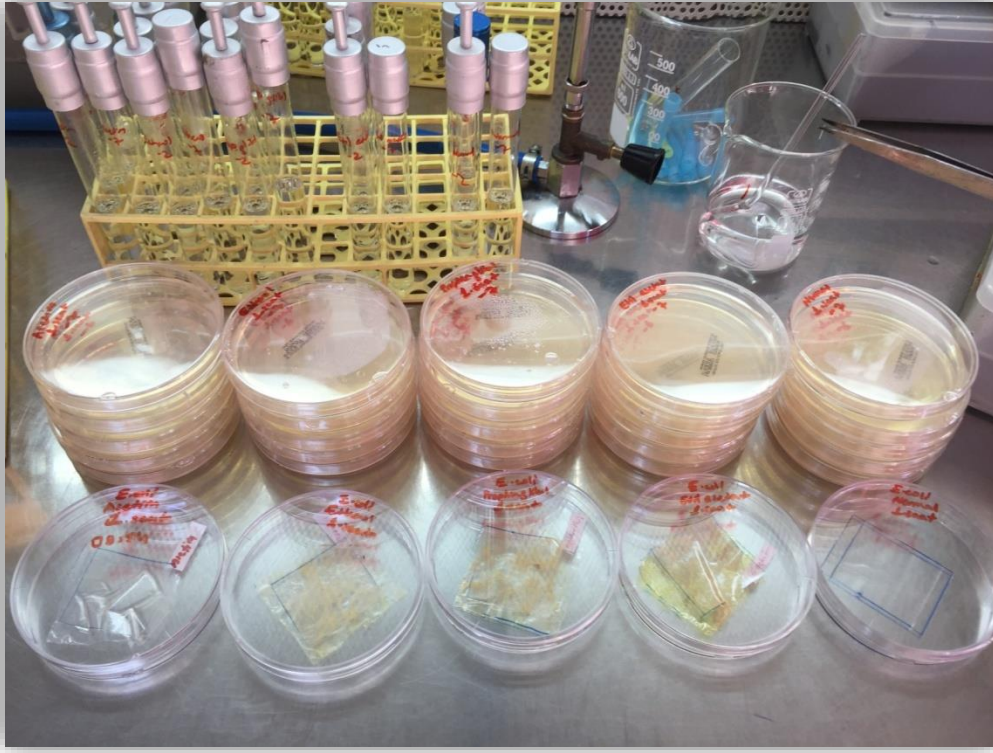


Şekil 3.6. Petri kaplarına yerleştirilen LDPE filmler

ISO 22196:2011 Test Örneklerinden Bakteri Geri Kazanımı:

Aşılardan hemen sonra 0. saat için numuneler test edilmiştir. Diğer saatler için petri kabına 10 mL Difco D/E Neutralizing Broth eklenerek test numuneleri işlenmiştir. Bu değer, araştırılan test numunelerinden bakterilerin geri kazanım oranını belirlemek için kullanılmıştır. Bir pipet yardımıyla petrinin içine konmuş olan broth en az 4 kez çekilip bırakılarak karıştırılması sağlanmıştır. Fizyolojik tuzlu su (FTS) ile seyreltme işlemi yapılmış olup

bakterilerinin sayımı için Triptik Soy Agar'a (TSA) 100 µL olacak şekilde ekim gerçekleştirilmiştir. 24 saat 35°C de inkübe edildikten sonra bakteri sayımı yapılmıştır. Bu işlem 1. 6. ve 24. saat için tekrarlanmıştır. Şekil 3.7'de LDPE filmlerde bulunan bakterilerin ekilmesi gösterilmiştir.



Şekil 3.7. LDPE filmlerde bulunan bakterilerin ekilmesi

İstatiksel Analiz:

Verilerin analizinde çalışılan parametrelerin etkilerinin kıyaslamasında JMP (release 6.0,USA) paket programı kullanılmıştır. Tukey çoklu karşılaştırma testi ile ortalamalar arasındaki önem dereceleri belirlenmiştir ($p < 0.05$). Çalışmada her bir analiz 3 tekerrür olarak yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Düşük Yoğunluklu Polietilen Filmlerin (LDPE) kaplanması

Antibakteriyel ambalaj yapımındaki solüsyonların LDPE filmlere entegre edildiğinde plastik yüzeye tutunup homojen dağılması çalışılmış ve tutunan solüsyonun %propolis miktarı tespit edilmiştir. Çizelge 4.1.'de plastik yüzeye entegre edilen solüsyonların ağırlıkları değerlerle birlikte gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Plastik yüzeye entegre edilen solüsyonların ağırlıkları

Solüsyonlar	Normal (g)	Solüsyonlu (g)	Kuruduktan sonra (g)	Propolis oranı (g propolis/g film)
Wax-Yağ	0,68	1,9	1,62	% 14
Yağ	0,64	1,81	1,52	% 14
Gliserol	0,69	1,55	1,21	% 7
Film Solüsyonu	0,59	1,9	0,78	% 3
Etanol	0,64	1,18	0,86	% 3
Etil Asetat	0,57	1,59	1,44	% 15
Propilen Glikol	0,64	1,18	0,93	% 4,5
A	0,58	1,31	1,01	-
B	0,65	1,43	0,79	-
C	0,6	1,58	0,78	-
D	0,72	1,88	1,37	-

Wax-yağ, yağ, gliserol içeren propolisli solüsyonlar, filme tutunan propolis oranının yüksek olmasına karşı yüzeyde damlacıklar halinde kalarak kuruma göstermemiştir. Film solüsyonu, %3 oranında yüzeye tutunmuş fakat koyu lekeler olarak gözlenmiştir. Etanol, propilen glikol, etil asetat sırasıyla %3, %15, %4,5 oranında plastik yüzeyde kalarak homojen bir şekilde tutunma göstermiştir. Propolisli solüsyonlar ile karşılaştırma yapmak üzere belirlenen solüsyonlar arasından sadece D yüzeyde tutunma göstermiş olup A, B ve C yüzeye tutunma göstermemiştir. Yapılan çalışma incelendiğinde yağ içeren solüsyonların plastik yüzeye tutunma özelliğinde olmadığı tespit edilmiştir. Solüsyonlarda istenilen kriterler; LDPE filmlere homojen bir şekilde tutunma göstermesi ile yüzeyde tutunan propolis miktarının % olarak daha etkin olması varsayılırsa bu kriterlere göre plastik yüzeye uygulanan tüm solüsyonlar arasından yüzeyde homojen olarak kuruma gösteren ve %15 propolis miktarı ile plastik yüzeye en iyi tutunan çözgenin etil asetat olduğu görülmüştür.

Bu işlemin yapılmasındaki amaç; antibakteriyel solüsyonların LDPE filmlere entegre edildiğinde plastik yüzeye tutunup homojen dağılmasını incelemek ve tutunan solüsyonun %propolis miktarını belirlemektir. Bu sayede filmler gıdaya kaplandığında gıdanın yüzeyine eşit miktarda solüsyon temas ederek antibakteriyel etkisinden dolayı gıdanın raf ömrünü uzatacaktır.

Antibakteriyel Aktivite Düzeyinin Belirlenmesi

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel aktivite kıyaslaması yapılmıştır. *S.aureus* için C solüsyonunun, 85 mm inhibisyon zonu oluşturarak petri kabındaki tüm bakteriyi inaktif ettiği görülmüştür. Film solüsyonu ise diğer solüsyonlara kıyasla en az zonu oluşturarak düşük etki gösterdiği tespit edilmiştir. Propolis ekstraktlarının antibakteriyel aktivite düzeylerinin belirlenmesinde oluşan inhibisyon zon çaplarına göre wax-yağ ve yağ içeren solüsyonların *E.coli* gelişimini engellemediği görülmüştür. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi için en etkili antibakteriyel solüsyon olarak tespit edilen C, plastik yüzeye tutunmadığından dolayı LPDE filmlerde uygun olmadığı anlaşılmıştır. *S.aureus* 10 µL için oluşan inhibisyon zonu propilen glikol solüsyonunda 19,1 mm, etanol solüsyonunda 15,5 mm, etil asetat solüsyonunda 31,6 mm olarak görülmüştür.

Kontrol örneklerinde *S.aureus* 10 µL için oluşan inhibisyon zonu etil asetat 9,6 mm olarak görülmüş, propilen glikolde görülmemiştir. *E.coli* 10 µL için oluşan inhibisyon zonu propilen glikol solüsyonunda 9,1 mm, etanol solüsyonunda 8,6 mm, etil asetat solüsyonunda

16,8 mm olarak görülmüştür. Kontrol örneklerinde *E.coli* 10 µL için oluşan inhibisyon zonu etil asetatı 13,6 mm olarak görülmüş, propilen glikolde görülmemiştir. Çizelge 4.2. de Solüsyonların oluşturduğu inhibisyon zon çapları gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Solüsyonların oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm)

Solüsyonlar	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	10 µL	15 µL	10 µL	15 µL
Wax-Yağ	-	-	-	-
Yağ	-	-	-	-
Gliserol	10,5±0,03 ^{cd}	14,05±3,6 ^{de}	7,3±1,5 ^{bc}	6,55±0,3 ^{de}
Film Solüsyonu	7,1±0,03 ^d	7,9±0,5 ^e	6,4±0,01 ^{bc}	7,59±0,4 ^{de}
Etanol	15,5±2,5 ^{cd}	18,8±0,5 ^{cde}	8,6±1,3 ^{bc}	11,9±2,3 ^{cde}
Etil Asetat	31,6±3,0 ^b	38,8±2,1 ^b	16,8±0,7 ^{bc}	2,8±4,5 ^b
Propilen Glikol	19,1±7,5 ^{bcd}	24,9±6,1 ^{cd}	9,1±2,6 ^{bc}	14,27±2,3 ^{bcd}
A	17,9±0,6 ^{cd}	22,0±2,8 ^{cd}	18,1±1,45 ^b	16,92±2,0 ^{bc}
B	22,8±6,0 ^{bc}	29,15±0,5 ^{bc}	16,9±0,4 ^{bc}	22,17±1,2 ^b
C	85,0±0,0 ^a	85,0±0,0 ^a	36,69±10,0 ^a	45,82±0,8 ^a
D	12,15±1,6 ^{cd}	17,0±4,0 ^{de}	12,89±0,7 ^{bc}	14,88±4,0 ^{bcd}

Her bir değer üç tekrarın ortalaması ± standart sapma olarak gösterilmiştir (n=3)

Her bir sütunda aynı harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır. (p<0.05)

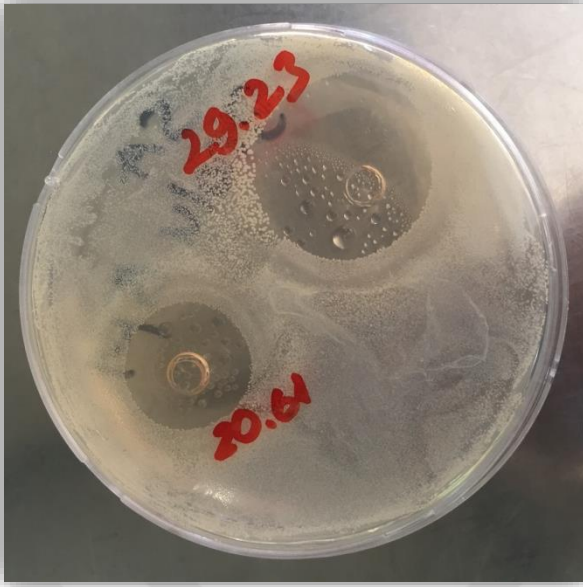
Burada ulaşılan sonuçlar ışığında *S.aureus* ve *E.coli* inaktif edilmesinde propilen glikol çözeltisinin etanol çözeltisine göre daha etkili olduğu görülmüştür. %10 ve %15 olarak belirlenen solüsyon oranlarında inhibisyon zonlarının, solüsyon miktarlarına bağlı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca propolisli solüsyonların geniş bir antibakteriyel aktivite spektrumuna sahip olduğu ortaya konulmuştur. Propolisli solüsyonların Gram pozitif

bakterilere karşı antibakteriyel etkinliğinin, Gram negatif bakterilere kıyasla daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır.

Tosi ve ark. (1996) tarafından %60'lık etanol, yağ, propilen glikol ve gliserol kullanılarak hazırlanmış propolis ekstraktlarının, bazı bakteriler, dermatofitler ve mayalardan oluşan toplam 10 adet mikroorganizmaya karşı gösterdiği antimikrobiyal özelliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, yağ bazlı ekstrakt ile gerçekleştirilen analizde tüm mikroorganizma türleri üzerinde inhibe edici özellik gösterdiği gözlemlenmiş olup, etanol ve gliserollü propolis ekstraktlarının yağ ve propilen glikol ekstraktlarına göre nispeten daha az mikroorganizma türünde etkili olabildiği gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada ise yağ içeren propolis ekstraktlarının inhibe edici özellik göstermediği ve propilen glikol ile hazırlanan propolisli solüsyonun, etanol ile hazırlanan propolisli solüsyona kıyasla daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca gliserol ile hazırlanan propolisli solüsyonun, etanol ve propilen glikol ile hazırlanan propolisli solüsyona göre daha az inhibe edici özelliğinin olduğu görülmüştür.

Bakkaloğlu ve Arıcı (2019) tarafından yapılan çalışmada sulu ve zeytinyağlı ekstraktların antibakteriyel aktiviteye sahip olmadığı fakat etanollü propolis ekstraktların, önemli antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Bu çalışmada ise etil asetat ve propilen glikol ile hazırlanan solüsyonların, etanolik propolis ekstraktına göre antibakteriyel aktivitesinin daha yüksek olduğu oluşan inhibisyon zonları ile tespit edilmiştir. Wax-yağ-propolis ve yağ-propolis solüsyonların yağ içeriğinden dolayı antibakteriyel etki göstermediği kanıtlanmıştır. Plastik yüzeye homojen bir şekilde tutunan ve antibakteriyel etkisi en yüksek olan solüsyonun etil asetat içeren propolis ekstraktı olduğu görülmüştür.

Silici ve Kutluca (2007) tarafından propolisin Gram pozitif bakterilere karşı güçlü aktiviteye sahip olduğu fakat Gram negatif bakterilere karşı sadece sınırlı aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmada ise antibakteriyel aktivite incelemesi için 24 saatin ardından sayılan mikroorganizmalarda, etil asetat, etanol ve propilen glikol içeren propolisli solüsyonların hem Gram pozitif hem Gram negatif bakterilere karşı önemli ölçüde etki ettiği tespit edilmiştir. Şekil 4.1'de *S.aureus* için propilen glikol içeren inhibisyon zonu ve Şekil 4.2'de *S.aureus* için gliserol içeren inhibisyon zonu gösterilmiştir.



Şekil 4.1. *S.aureus* için propilen glikol içeren inhibisyon zonu

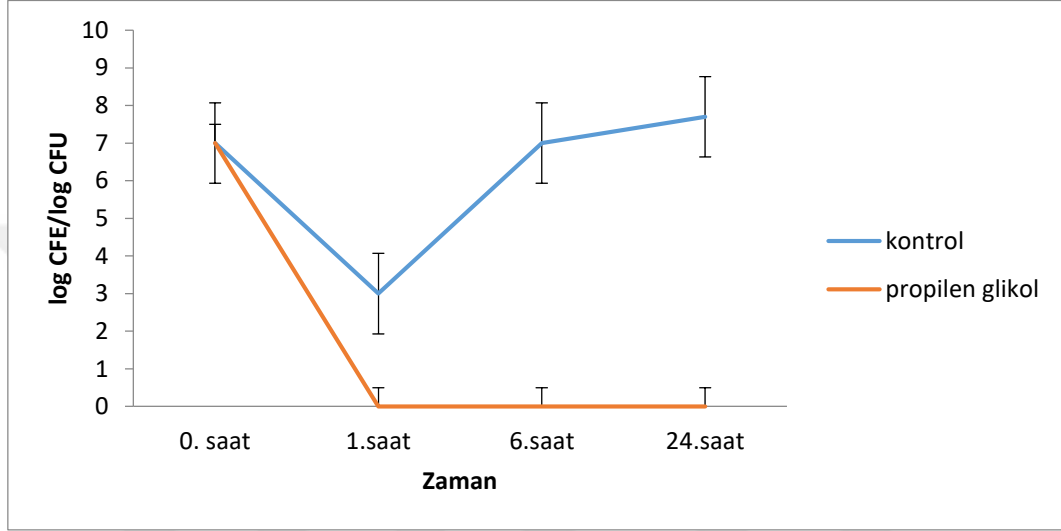


Şekil 4.2. *S.aureus* için gliserol içeren inhibisyon zonu

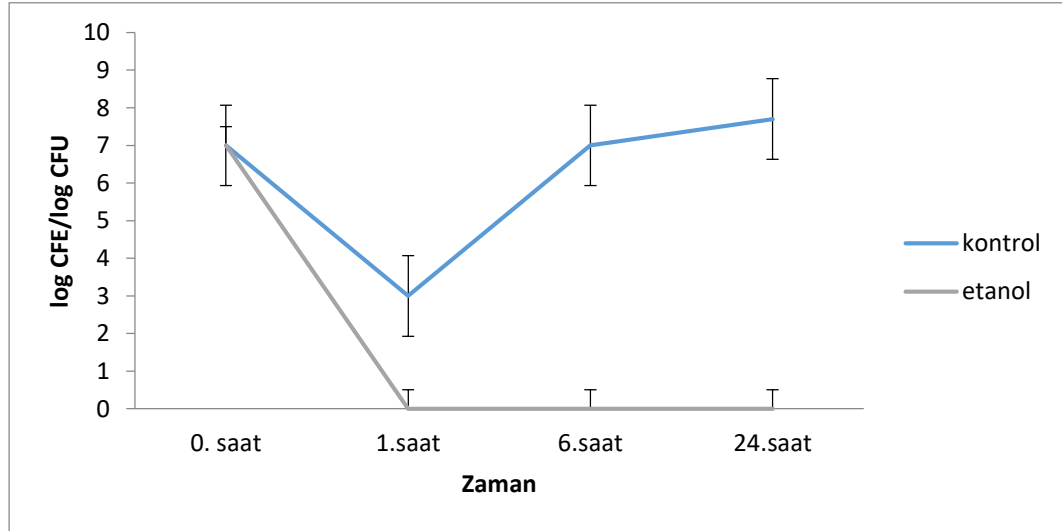
ISO 22196: 2011 Metodu ile Antibakteriyal Aktivite İncelenmesi

Kaplanmış plastik filmlerin 24 saatlik bakterilere maruziyet döneminin *S.aureus* gelişimi üzerine etkisi Şekil 4.3. de gösterilmiştir. Propolis kaplı filmler üzerinde yapılan

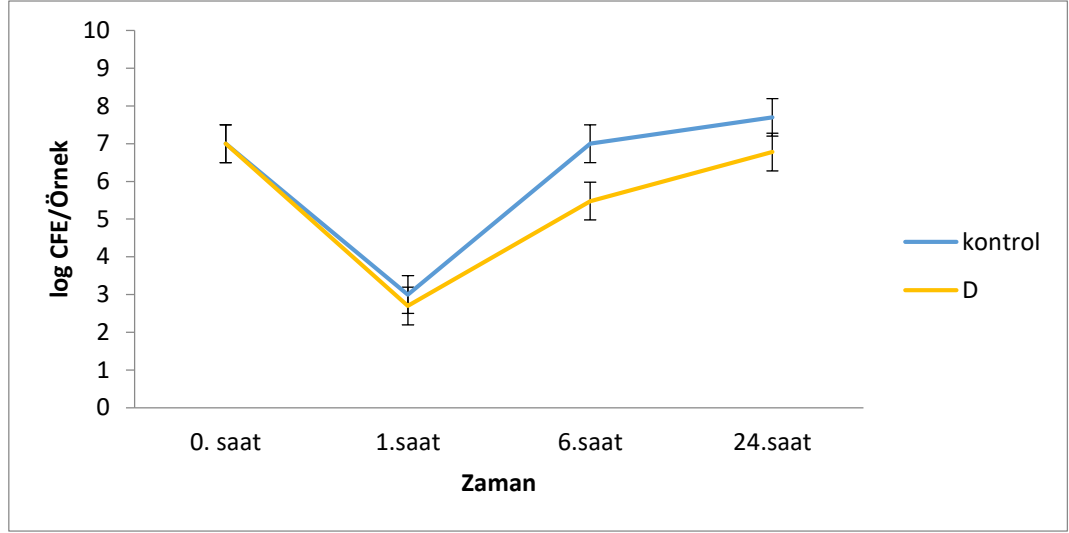
antibakteriyel aktivite incelemesinde, *S.aureus* için propilen glikol, etanol ve etil asetat çözücülerin 1. saat itibari ile 7 kob/g düşüş gösterdiği görülmüştür. Kontrol filminde ise 1. saatte 4 kob/g düşüş yaşanmış ve 6.saatte ise tekrar 7 kob/g bakteri sayısına ulaşarak 24. saatte de artmaya devam etmiştir. D solüsyonu kaplı filmler incelendiğinde 1. saat itibari ile 4,30 kob/g düşüş göstermiş ve 6. saatte 5,48 kob/g, 24. Saatte 6,78 kob/g bakteri sayısına ulaşmıştır.



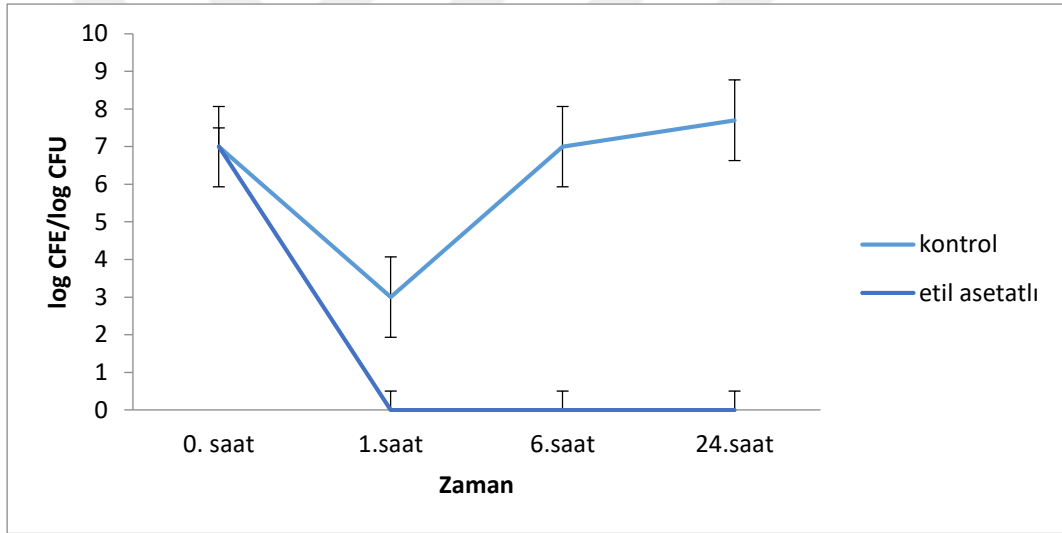
(a)



(b)



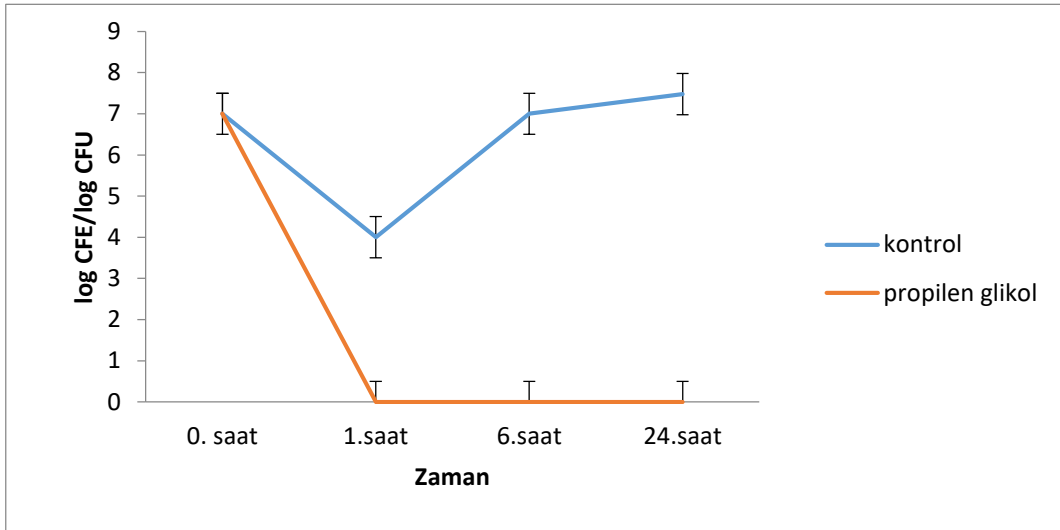
(c)



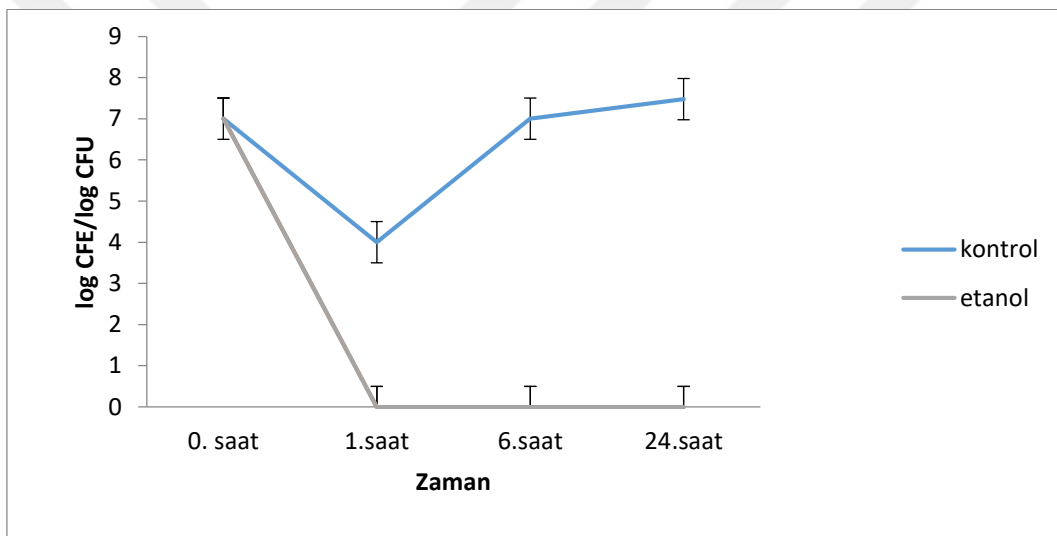
(d)

Şekil 4.3. Kaplanmış plastik filmlerin 24 saatlik maruziyet döneminde *S.aureus* gelişimi üzerine etkisi; (a) Propilen glikol, (b) Etanol, (c) D, (d) Etil asetat

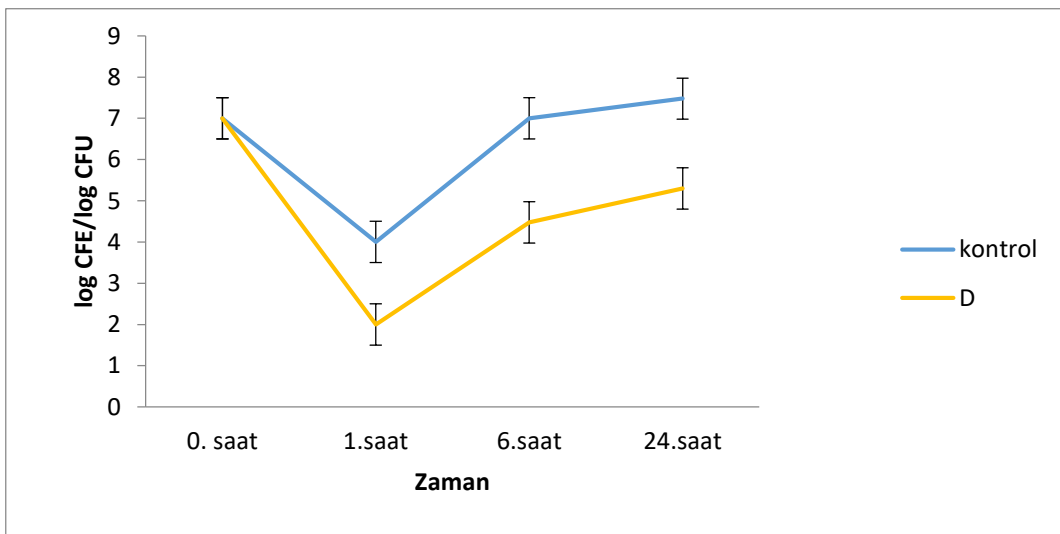
Kaplanmış plastik filmlerin 24 saatlik maruziyet döneminde *E.coli* gelişimi üzerine etkisi Şekil 4.4. de gösterilmiştir. Propilen glikol, etanol ve etil asetat içeren propolis ekstraktlarının kaplandığı filmler incelendiğinde *E.coli* için 1. saat sonunda 7 kob/g azalma gözlemlenmiş olup 24 saat maruziyet döneminde herhangi bir bakteri artışı görülmemiştir. Kontrol filminde *E.coli* sayısının 1. saat 4 kob/g, 6. saat tekrar 7 kob/g seviyesine ulaştığı ve 24 saatlik maruziyet sonucunda 7,48 kob/g seviyesinde bakteri artışı gözlemlenmiştir.



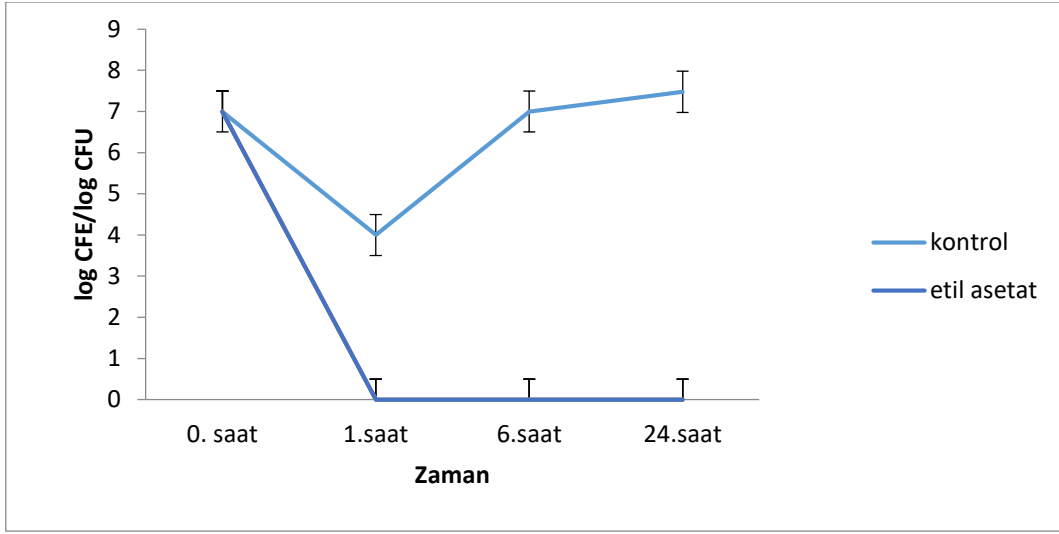
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 4.4. Kaplanmış plastik filmlerin 24 saatlik maruziyet döneminde E.coli gelişimi üzerine etkisi; (a) Propilen glikol, (b) Etanol, (c) D, (d) Etil asetat

Torlak ve Sert (2013), kitosan-propolis kaplı polipropilen filmlerin gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyel etkinliğini incelemiştir. 24 saat maruziyetten sonra etanolik propolis ekstraktı, *E.coli* bakterisinde ≥ 2 log, *S.aureus* bakterisinde ise ≥ 3 log düşüş göstermiştir. Bu çalışmada ise LDPE filmler için etanolik propolis ekstraktı her iki bakteri için de 1. saat itibari ile ≥ 7 log düşüş göstermiştir.

Mascheroni ve ark. (2010) propolisin biyopolimer bazlı filmlerden gıda simüle edici sıvıya göçünü incelemiş ve polifenollerin film matrisinden belirli miktarda salınacağını tespit etmişlerdir. Marti ve ark. (2018) tarafından antibakteriyel biyomühendislik uygulamalar için gelişmiş malzeme karakterizasyonu yapılmış ve birbirini tamamlayan disk difüzyon yöntemi ile ISO 22196:2011 kullanılarak bir protokol hazırlanmıştır. Bu çalışmada, plastik yüzeylerde detaylı antibakteriyel aktivite incelenmesinde, agar kuyucuk difüzyon testi ve ISO 22196: 2011 birlikte kullanılmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

S. aureus ve *E.coli* için hücre sayısı, etil asetatlı, etanollü ve propilen glikollü solüsyonlarda 1. saat sonunda 7 kob/g düşüş göstererek tamamen inaktif olmuştur. Şekillerde gösterilen indirgeme değerleri, ISO 22196 ile aynı olan Japon standardı JIS Z 2801 'da tanımlanan kritere (≥ 2 log) göre propolisli solüsyonların antibakteriyel etkisinin olduğunu net olarak ifade etmiştir.

Yapılan uygulamalar doğrultusunda plastik yüzeye homojen bir şekilde tutunan ve seçilen solüsyonlar arasında antibakteriyel etkisi en yüksek olan solüsyonun etil asetat içeren propolis ekstraktı olduğu görülmüştür. Propilen glikol ve etanol ekstraktlarının etil asetata kıyasla *E.coli* ve *S.aureus* için antibakteriyel etkinliğinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca propolisli solüsyonların geniş bir antibakteriyel aktivite spektrumuna sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Tüm bu sonuçların ışığında, LDPE filmlere entegre edilmesi en uygun propolisli antibakteriyel solüsyonun çözücü olarak etil asetat ile oluşturulması gerektiği görülmüştür. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinin ve Gıda Bileşenlerinin Üretiminde Kullanılan Ekstraksiyon Çözücüleri Tebliği'nde bulunan ve propolis ekstraksiyonunda kullanılan etil asetatın, plastik ambalaj endüstrisinde kullanıldığı takdirde insan sağlığına ve gıdanın raf ömrüne olan etkisi göz önünde bulundurulmalıdır. Bununla birlikte, çalışmada kullanılan diğer antibakteriyel ürünlere kıyasla propolisli solüsyonların, gıdaların saklanması için kullanılan filmlere entegre edilmesinin daha uygun olduğu, bakteri gelişimini daha etkili bir şekilde durdurup, yok ettiği görülmüştür. Bu çalışma, propolis entegreli plastik filmlerin, propolisin doğal antibakteriyel etkisinden dolayı gıdaların raf ömrünün uzatılmasında umut verici olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Ali, F. H., Kassem, G. M., Atta-Alla, O. A. (2010). Propolis as a natural decontaminant and antioxidant in fresh oriental sausage. *Veterinari Italiana* Apr-Jun; 46(2):167-72.
- Arslan, S., Perçin, D., Silici, S., Er, Ö. (2010). Farklı çözücülerle hazırlanan propolis özütlerinin mutans streptokoklar üzerine in vitro antimikrobiyal etkisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 19(1), 68.
- Bakdash, A., Almohammadi, O.H., Taha, N.A., Abu-Rumman, A., Kumar, S. (2018). Chemical composition of propolis from the Baha Region in Saudi Arabia. *Czech Journal of Food Science*, 36(2), 00-10.
- Bakkaloğlu, Z., Arıcı, M. (2019). Farklı çözücülerle propolis ekstraksiyonunun toplam fenolik içeriği, antioksidan kapasite ve antimikrobiyal aktivite üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(4) 538-545.
- Bankova, V., Dyulgerov, A., Popov, S. (1982). Propolis produced in Bulgaria and Mongolia-phenolic compounds and plant origin. *Apidologie*, 23(1) 79-85.
- Bogdanov, S. (2017): Propolis: Composition, Health, Medicine: A Review. *Bee Product Science*, 1-28.
- Burdock, G.A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food and Chemical Toxicology*, 36, 347– 363.
- Castaldo, S. ve Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73, 51–56.
- Choudhari, M.K., Haghniaz, R., Rajwade, J.M., Paknikar, K.M. (2013). Anticancer activity of Indian stingless bee propolis: An in vitro study. *Evidence-based Complementary Alternat Medicine*, doi: 10.1155/2013/928280.
- Cottica, S.M., Sabik, H., Antoine, C., Fortin, J., Graveline, N., Visentainer, J.V., Britten, M. (2015). Characterization of Canadian propolis fractions obtained from two-step sequential extraction. *Food Science and Technology*, 60(1), 609-614.
- Cunha, I.B. S., Sawaya, A. C.H.F., Caetano, F.M., Shimizu, M.T., Marcucci, M.C., Drezza, F.T., Povia, G.S., Carvalho, P. (2004). Factors that Influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. *Journal of the Brazilian. Chemical Society*, 15 (6): 964-970.

- Devlet Planlama Teşkilatı. (2001). Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı, Plastik Ürünleri Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu, DPT: 2547 ÖİK:563.
- Diğrak, M., Yılmaz, Ö., Çelik, S., Yıldız, S. (1995). Propolisteki yağ asitleri ve antimikrobiyal etkisi üzerinde in vitro araştırmalar. *Gıda*, 20(4), 249-255.
- Dobrowolski, J.W., Vohora, S.B., Sharma, K., Shah, S.A., Naqvi, S.A.H., Dandiya, P.C. (1991). Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal of Ethnopharmacol*, 35, 77–82.
- Dobrucka, R. (2013). The Future of Active and Intelligent Packaging Industry. *Scientific Journal of Logistics*, 9 (2): 103-110.
- Doğan, N., Hayoğlu, İ. (2012). Propolis ve kullanım alanlar. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(3): 39-48
- Donadieu, Y. (1979). La propolis thérapeutique naturelle, 4^o Edition. *Maloine edit.*, 61p.
- Erdem, G.B. (2002). Propolisin Diş Çürüklüğü Oluşumuna Etkisinin Sıçan Dişlerinde Araştırılması. *Teknik Arıcılık*, 77, 27-28.
- Ertürk, Ö., Yavuz, C., Sıralı, R. (2014). The antimicrobial activity of propolis from Ordu province of Turkey. *Mellifera*, 14(27-28), 11-16.
- Ghamdi, A.A., Bayaqoob, N.I., Rushdi, A.I., Alattal, Y., Simoneit, B.R., El-Mubarak, A.H., Al-Mutlaq, K.F. (2017). Chemical compositions and characteristics of organic compounds in propolis from Yemen. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 1094-1103.
- Ghisalberti, E. L. (1979). Propolis: A review, *Bee World*, 60, 59-84.
- Grange, J. M. and Davey, R. W. (1990). Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. Royal. Soc. Med.*, 83, 159-160.
- Grange, J.M., Davey, R.W. (1990). Antibacterial properties of propolis (bee glue). *Journal of the Royal Society of Medicine*, 83, 159–161.
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. (1997). Plastikler, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, 46, 18-20.
- Güney, F. (2016). Bazı propolis özütlerinin meyveli yoğurtların biyokimyasal, fizikokimyasal ve raf ömrü üzerine etkilerinin araştırılması .Yüksek Lisans Tezi. Ordu Üniversitesi,Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Güney, F., Yılmaz, M. (2013). Propolisin kimyasal içeriği ile antibakteriyel, antiviral, antitümör, antifungal ve antioksidan aktivitesi. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 10(5) 25-27.

- Han, J.H., J.D. Floros. (1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13(4), 287-298.
- Han, S. K. ve Park, H. K. (1995). A study on the preservation of meat products by natural propolis: effect of EEP on protein change of meat products. *Korean Journal Of Animal Science*, 37(5):551–557.
- Hegazi, A. G. (1998). Propolis an overview. Congreso Internacional de Propóleos ,*Buenos Aires 1-2nd*, pp. 35-53.
- Hepşen, İ.F., Tilgen, F., Hamdi, E. (1996). Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 3(4), 386-391.
- ISO 22196: (2011). Plastics-Measurement of Antibacterial Activity on Plastics and Other Non-porous Surfaces.
- JIS Z 2801. (2010). Antibacterial Products – Test for Antibacterial Activity and Efficacy.
- Jian-xin, G., Hai-ying, C., Zhao-yun, L. (2011). The Influence of Propolis on Bifidobacteria And Lactobacillus in Yogurt. *Chinese Journal of Disinfection*, 2: 21.
- Kaba, N., Duyar, H. (2008). Antimikrobiyel paketleme. *E.U. Su Ürünleri Dergisi*, 25(2): 181–185.
- Kartal, M., Kaya, S., Kurucu, S. (2002). GC-MS Analysis of Propolis Samples from Two Different Regions of Turkey. *Z. Naturforsch*, 57, 905-909.
- Katalinic, V., Radic, S., Ropac, D., Mulic, R., Katalinic, A. (2004). Antioxidative activity of propolis from Dalmatia (Croatia). *Acta medica Croatica : casopis Hrvatske akademije medicinskih znanosti*, 58(5):373–376.
- Kılıç, M., Yüce, A.E. (2014). PVC ve PET atıkların seçimli flotasyonu. *Çukurova Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 29(2), 79-93.
- Kıralp, S., Özkoç G., Erdoğan, S., Çamurlu, P., Doğan, M., Baydemir, T. (2007). Modern çağın malzemesi plastikler, ODTÜ Bilim ve Toplum Kitapları Dizisi ODTÜ Yayıncılık.
- Kocamanlar, E. (2009). Ambalaj ve Fonksiyonları. *Ambalaj Bülteni Dergisi*, Ekim: 34-38.
- Krell, R. (1996). Value-Added products from beekeeping. *FAO, Agricultural Services Bulletin* No. 124, Chapter 3, Pollen.

- Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K., Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 156.
- Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B. C., Ceyran, G. (2002). Önemli Bir Arı Ürünü: Propolis. *Uludag Bee Journal*, 2 (2): 10-24.
- Kutluca, S., Genç, F., Korkmaz, A. (2006). Propolis. Samsun Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi, Samsun, p. 57.
- Lejeune, B., Pourrat, A., Dehmouche, H. (1988). Propolis Utilisation en Dermocosmetologie. *Parfums, Cosmetiques, Aromes*, 8(2): 73- 77.
- Maciejewicz, W., Daniewski, M., Markowski, W. (2001). GC-MS Identification of the Flavanoid Aglycones Isolated from Propolis. *Chromat*, 53(5/6), 343-346.
- Marcucci, M.C. (1995). Propolis: Chemical Composition, Biological Properties And Therapeutic Activity. *In Apidologie*, 26, 83-99
- Markham, K.R., Mitchell, K.A., Wilkins, A.L., Daldy, J.A., Lu, Y. (1996). HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. *Phytochemistry*, 42, 205–211.
- Martí, M., Frígols, B., Serrano-Aroca, A. (2018). Antimicrobial characterization of advanced materials for bioengineering applications. *The Journal of Visualized Experiments*, 28(4), 138.
- Mascheroni, E., Guillard, V., Nalin, F., Mora, L., Piergiovanni, L. (2010). Diffusivity of propolis compounds in Polylactic acid polymer for the development of anti-microbial packaging films. *Journal of Food Engineering*, 98, 294-301.
- Matsuno, T., Chen, C., Basnet, P. (1997). A tumoricidal and antioxidant compound isolated from an aqueous extract of propolis. *Medical Science Research*, 25, 583–584.
- Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., Calder, P. C. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological Research*, 152, 239–246.
- Mitro, S. (1996). Information zu Honig und anderen Bienenprodukten aus medizinischer und mikrobiologischer Sicht. *Tierärztliche Umschau*, 51: 232- 240.

- Mizuno, M. (1989). Food packaging materials containing propolis as a preservative. Japanese Patent No. JP 01 243 974 (89 243 974), 5 s.
- Mohtar, L.G., Rodríguez, S.A., Nazareno, M.A. (2017). Comparative analysis of volatile compound profiles of propolis from different provenances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(9), 3409-3415.
- Münstedt, K., Zygmunt, M. (2001). Propolis-Current and Future Medical Uses. *Am. Bee J.*, 141 (7), 507-510.
- Netíková, L., Bogusch, P., Heneberg, P. (2013). Czech ethanol-free propolis extract displays inhibitory activity against a broad spectrum of bacterial and fungal pathogens. *Journal of Food Science*, 78(9), 1421-1429.
- Nieva, M.M.I., Isla, M.I., Cudmani, N.G., Vattuone, M.A., Sampietro, A.R. (1999). Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucuman, Argentina) propolis. *Journal of Ethnopharmacol*, 68, 97–102.
- Noureddine, H., Hage-Sleiman, R., Wehbi, B., Fayyad-Kazan, A.H., Hayar, S., Traboulssi, M., ElMakhour, Y. (2017). Chemical characterization and cytotoxic activity evaluation of Lebanese propolis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 298-307.
- Pereira De Abreu, D.A., Cruz, J.M., Losada, P.P. (2012). Active and Intelligent Packaging for The Food Industry. *Food Reviews International*, 28: 146–187.
- Sağdıç, O., Silici, S., Yetim, H. (2007). Fate of Escherichia coli and E. coli O157:H7 in apple juice treated with propolis extract. *Annals of Microbiology*, 57 (3) 345-348.
- Segueni, N., Khadraoui, F., Rhouati, S. (2017). Volatile compounds as propolis characterization markers. In Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration. *Springer*, 16(4), 1271-1273.
- Sevencan, F., Vaizoğlu, S. A. (2007). Pet ve Geri Dönüşümü, *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, Cilt.6 (4), s.307–312.
- Sforcin, J.M., Fernandes, Jr., A., Lopes, C.A.M., Bankova, V., Funari, S.R.C. (2000). Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacol*, 73, 243–249.
- Silici, S., Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology* 99: 69-73.

- Silva, C., Prasniewski, A., Calegari, M.A., de Lima, V.A., Oldoni, T.L. (2018). Determination of total phenolic compounds and antioxidant activity of ethanolic extracts of propolis using ATR-FT-IR
- Şahinler, N. (1999). Propolisin bileşimi ve kullanma olanakları. *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(1-2):167-180
- Şahinler, N. (2000). Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(1-2), 139-148.
- Taddeo, V.A., Epifano, F., Fiorito, S., Genovese, S. (2016). Comparison of different extraction methods and HPLC quantification of prenylated and unprenylated phenylpropanoids in raw Italian propolis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 129, 219-223.
- Takaisi-Kikuni, N.B., Schilcher, H. (1994). Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta Medica*, 60, 222-227.
- Torlak, E., Sert, D. (2013). Antibacterial effectiveness of chitosan-propolis coated polypropylene films against foodborne pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 52-55.
- Uğur, A., Arslan, T. (2004). An in vitro study on antimicrobial activity of propolis from Mugla province of Turkey. *Journal of Medicinal Food*, 7 (1), 90-94.
- Üçüncü, M. (2011). Gıda Ambalajlanma Teknolojisi. *Ambalaj Sanayiciler Derneği*. İstanbul Türkiye, 896 s.
- Yücel, B., (2004). Apiterapi; Arı Ürünlerinin İnsan Sağlığı Üzerindeki Önemi. Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi, Çiftçi Broşürü: 56, İzmir.