

EYLÜL 2022

Yüksek Lisans Tezi – Biyoloji

İMAN ALHVEİS

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Pistacia vera* DIŞ KABUĞU KULLANILARAK BİYOAKTİF
MATERYAL GELİŞTİRİLMESİ**

**BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İMAN ALHVEİS
EYLÜL 2022**

***Pistacia vera* DIŞ KABUĞU KULLANILARAK BİYOAKTİF
MATERYAL GELİŞTİRİLMESİ**

**Gaziantep Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi**

Danışman

Doç. Dr. Remziye Aysun KEPEKÇİ

İman ALHVEİS

Eylül 2022



©2022[Iman ALHVEİS]

***Pistacia vera* DIŞ KABUĞU KULLANILARAK BİYOAKTİF MATERYAL
GELİŞTİRİLMESİ**

baŐlıklı bu alıŐma, **İman ALHVEİS** tarafından hazırlanmıŐ ve yapılan savunma sınavı sonucunda baŐarılı bulunarak jürimiz tarafından **Gaziantep Üniversitesi, Biyoloji Bölümü'nde** Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet İŐhak YÜCE
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

.....

Prof. Dr. Canan CAN
Biyoloji Bölüm Başkanı

.....

Doç. Dr. R. Aysun KEPEKÇİ
Danışman, Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Sınav Tarihi: 15 Eylül 2022

Jüri Üyeleri:

Doç. Dr. R. Aysun KEPEKÇİ
Danışman, Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Erdihan TUNÇ
Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Dr. Öğr. Üyesi Deniz MIHCIOĐLU
Beslenme ve Diyetetik
SANKO Üniversitesi

.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

İman ALHVEİS

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF BIOACTIVE MATERIAL BY USING *Pistacia vera* HULL

ALHVEİS, İman

M.Sc. in Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. R. Aysun KEPEKÇİ

September 2022

76 pages

The increasing demand of the consumers for the products with less chemical content boosted the efforts of food manufacturers and scientists to develop ecofriendly, biodegradable food packaging materials obtained from natural sources. Among the candidate food packaging materials, food byproducts have gained priority since the utilization of these byproducts provide also additional environmental and economic favor. Every year, tons of pistachio hulls are separated from pistachio seeds and disposed of as waste products. In this study, chitosan films containing different amounts of pistachio hull methanol extract (%2, %4, %8 w/v) were produced. The antioxidant activities of chitosan films and pistachio hull extract were examined. The antibacterial activity of obtained chitosan films and pistachio hull extract were determined on *L.monocytogenes*, *C.difficile*, *E.coli* ATCC25922, *E. coli* type1, *Enterococcus sp.*, *E.faecalis* ATCC29212, *P.aeruginosa* ATCC27853, *S.aureus*, *S.aureus* ATCC25923, *Salmonella sp* by agar diffusion assay. Chitosan films with 8% extract showed antibacterial activity on *L.monocytogenes*, *C.difficile*, *Enterococcus sp.*, *E. coli* type1, *P.aeruginosa* ATCC27853, *S.aureus*, *Salmonella sp*. The highest inhibition was observed on *C.difficile*. The antioxidant activities of chitosan films were increased significantly with the increasing amount of extract. The results indicated that the methanol extract obtained from pistachio hulls enhanced the antioxidant and antibacterial activity of edible chitosan films. Methanol extract of *P.vera* hulls can be used as an environmentally friendly, bioactive supportive material in food packaging.

Key Words: Pistachio Hull, *Pistacia vera* L., Bioactive Film, Food Packaging.

ÖZET

***Pistacia vera* DIŞ KABUĞU KULLANILARAK BİYOAKTİF MATERYAL GELİŞTİRİLMESİ**

**ALHVEİS, İman
Yüksek Lisans Tezi,**

Danışman: Doç. Dr. Remziye Aysun KEPEKÇİ

Eylül 2022

76 sayfa

Tüketicilerin daha az kimyasal içeriğe sahip ürünlere artan talebi, gıda üreticilerinin ve bilim insanların doğal kaynaklardan elde edilen çevre dostu, biyobozunur gıda ambalaj malzemelerini üretmek için olan çabalarını arttırmıştır. Aday gıda ambalaj malzemeleri arasında, gıda yan ürünleri ek olarak çevresel ve ekonomik yarar sağladığından dolayı öncelik kazanmıştır. Her yıl tonlarca fıstık kabuğu fıstık içinden ayrılır ve atık ürün olarak bertaraf edilir. Bu çalışmada, farklı miktarlarda (%2, %4, %8 w/v) fıstık kabuğu metanol özütü içeren kitosan filmler üretildi. Kitosan filmlerin ve fıstık kabuğu özütünün antioksidan aktivitesi incelendi. Elde edilen kitosan filmlerin ve fıstık kabuğu özütünün antibakteriyel aktivitesi *L.monocytogenes*, *C.difficile*, *E.coli* ATCC25922, *E. coli* type1, *Enterococcus* sp., *E.faecalis* ATCC29212, *P.aeruginosa* ATCC27853, *S.aureus*, *S.aureus* ATCC25923, *Salmonella* sp üzerinde agar difüzyon yöntemi ile belirlendi. %8 özüt içeren kitosan filmler *L.monocytogenes*, *C.difficile*, *Enterococcus* sp., *E. coli* type1, *P.aeruginosa* ATCC27853, *S.aureus* ve *Salmonella* sp. üzerinde antibakteriyel aktivite gösterdi. En yüksek inhibisyon *C.difficile* üzerinde gözlemlendi. Kitosan filmlerin antioksidan aktiviteleri artan özüt miktarıyla birlikte dikkat çekici oranda arttı. Sonuçlar fıstık kabuklarından elde edilen metanol özütünün yenilebilir kitosan filmlerin antioksidan ve antibakteriyel aktivitesini güçlendirdiğini gösterdi. Çalışma sonucuna göre *P. vera* kabuğu metanol özütü çevreye dost, biyoaktif destekleyici bir malzeme olarak gıda ambalajlanmasında kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Antep Fıstığı Kabuğu, *Pistacia vera* L., Biyoaktif Film, Gıda Ambalajı.



“Canum aileme”

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan, Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden danışman hocam, sayın Doç. Dr. R. Aysun KEPEKÇİ'ye sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Biyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Canan CAN'a çalışmalarına sağladığı tüm destekler için teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışmada maddi destek sağlayan Gaziantep Üniversitesi BAP Yönetim Birimine (FEF.YLT.21.15 no'lu proje) teşekkürlerimi sunarım. Çalışma süresince beni hep destekleyen ve güvenen çok sevdiğim biricik annem ve tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT	v
ÖZET.....	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
SEMBOLLER LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiv
BÖLÜM I : GİRİŞ	1
1.1. Antep Fıstığı (<i>P. vera L.</i>).....	1
1.1.1. Fonksiyonel bileşenlerin ekstraksiyon yöntemleri:.....	2
1.1.2. Antep Fıstığı Kabuğun Fonksiyonel Bileşenleri:	4
1.2. Antep Fıstığı Kabuğun Biyolojik Aktiviteleri	7
1.2.1. Antioksidan Aktivitesi:	7
1.2.2. Antimikrobiyal aktivite:	7
1.3. Gıdalardaki Mikrobiyal Bozulmalar	8
1.3.1. Gıda Bozulmasında Önemli Faktörler:	9
1.3.2. Mikroorganizmaların Önemi:.....	9
1.3.3. Baskın Mikroorganizmalar:.....	9
1.3.4. Mikroorganizmalardan Kaynaklanan Enzimli Gıda Bozulması:	10
1.3.5. Psikrotrof Bakterilerin Termotabil (ısıya dayanıklı) Enzimlerinin etkilenmesi:.....	11
1.3.6. Düşük Sıcaklıkta Enzimli Gıda Bozulması:	12
1.3.7. Besinlerde Bakteriyel Bozulmanın Göstergeleri:.....	12
1.3.8. Mikrobiyolojik Değerlendirme Kriterleri:	13
1.4. Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar	14
1.4.1. Zehirlenmeler/İntoksikasyonlar:	14
1.4.2. Bakteriyel Enfeksiyonlar:.....	18

1.5.	Gıda Ambalajı.....	22
1.5.1.	Antimikrobiyal Paketleme Sistemleri:	22
1.5.2.	Gıda Ambalajlamada Yenilebilir Filmler:.....	24
1.6.	Kitosan.....	24
1.6.1.	Kitosan'ın Gıdalarla Kullanımı:	24
1.6.2.	Kitosan Antimikrobiyal Mekanizması:	25
1.6.3.	Kitosan Filmlerin Özellikleri:	25
BÖLÜM II : LİTERATÜR ÖZETİ		27
2.1.	Antep Fıstığı Kabuğunun Biyoaktiviteleri	27
2.2.	Kitosan İçeren Filmler.....	29
BÖLÜM III : MATERYALLER VE METOTLAR.....		32
3.1.	Materyaller	32
3.2.	Kimyasallar	33
3.3.	Metotlar	33
3.3.1.	Ekstrakt Hazırlaması:	33
3.3.2.	Antioksidan Aktivite Deneyi:	33
3.3.3.	Total Fenolik Bileşikleri:	34
3.3.4.	Antibakteriyel Aktivite Deneyi:.....	35
3.3.5.	Kitosan Filmi Hazırlama Protokolü ve Antibakteriyel Aktivitesi:	36
3.3.6.	Kitosan Filmlerin Antioksidan Aktivitesi:.....	37
3.3.7.	Kitosan Filmlerin Nem İçeriği ve Suda Çözünürlük Testi:	37
BÖLÜM IV : BULGULAR		39
4.1.	<i>P.vera</i> Özütünün Antioksidan Aktivitesi	39
4.2.	<i>P.vera</i> Özütünün Total Fenolik Bileşikleri	40
4.3.	<i>P. vera</i> Özütünün Antibakteriyel Aktivitesi.....	40
4.4.	Kitosan Filmlerin Antioksidan aktivitesi	44
4.5.	Kitosan Filmin Antibakteriyel Aktivitesi	46
4.6.	Kitosan Filmin Fiziksel Özellikleri	49
BÖLÜM V : TARTIŞMA.....		50
BÖLÜM VI : SONUÇ		56
KAYNAKLAR		58
ÖZGEÇMİŞ (CV)		76

TABLÖLER LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1.1 Antep fıstığı kabuğundaki ana fenolik bileşikler	5
Tablo 1.2 Biyolojik Polimerlerin sınıflandırması	23
Tablo 4.1 <i>P. vera</i> kabuğunun antibakteriyel etkisi.....	44
Tablo 4.2 <i>P.vera</i> özütü içeren kitosan filmlerin antibakteriyel etkisi	48
Tablo 4.3 Kitosan filmin nem içeriği ve suda çözünürlük sonuçları.....	49



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1 Antep fıstığı (<i>Pistacia vera</i> L.) ağacı ve meyvesi.....	2
Şekil 1.2 Enzimlerin ana mekanizmaları	11
Şekil 1.3 Gıda ambalajlama tekniği	23
Şekil 1.4 Yenilebilir Kitosan Filmi	26
Şekil 3.1 Antep fıstığı (<i>Pistacia vera</i> L.) kabuğun halleri	32
Şekil 3.2 Soxhlet ile metanolde hazırlanan <i>P.vera</i> kabuğun konsantre özütü	33
Şekil 3.3 Disk difüzyon yöntemin aşamaları	36
Şekil 3.4 Kitosan filmi hazırlama aşamaları	37
Şekil 3.5 Kitosan filmlerin antioksidan testi.....	38
Şekil 3.6 Kilmin nem ve suda çözünürkük deneyin aşamaları	38
Şekil 4.1 <i>P. vera</i> kabuğu özütünün antioksidan aktivitesi	39
Şekil 4.2 Antep fıstığı kabuğundaki total fenolik bileşiklerin testi	40
Şekil 4.3 <i>P.vera</i> 'nın antibakteriyel aktivitesi ve kontrolleri	43
Şekil 4.4 Kitosan filmlerin antioksidan aktivitesi.....	45
Şekil 4.5 Kitosan filmlerin % inhibisyon değerleri	45
Şekil 4.5 Farklı konsantrelerde hazırlanan kitosan filmleri	46
Şekil 4.6 Kitosan filmlerinin bakterilerin üzerinde antibakteriyel aktivitesi	47

SEMBOLLER LİSTESİ

°	Derece
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
±	Altı üstü
n^2	Üssü iki
()	Parantez
<	Küçüktür
>	Büyüktür

KISALTMALAR LİSTESİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
Aw	Su aktivitesi
CO₂	Karbondiyoksit
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
gr	Gram
H₂O₂	Hidrojen peroksit
IC₅₀	Yarı maksimal inhibitör konsantrasyon
mg	Milligram
ml	Millilitre
mm	Millilitre
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
nm	Nanometre
ORP	Oksidasyon indirgeme potansiyeli
<i>P.vera</i>	<i>Pistacia vera</i>
PH	Potansiyel hidrojen
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SEM	Taramalı elektron mikroskop
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
w/v	Hacimde Ağırlıkça Yüzde
XRD	X-ışınların Difraktometresi
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
UHT	Ultrayüksek Sıcaklık
KOB	Koloni Oluşturan Birim
IBS	İrritabl Bağırsak Sendromu

BÖLÜM I

GİRİŞ

1.1. Antep Fıstığı (*P. vera L.*)

Antep fıstığı ağacı (*Pistacia vera L.*) *Anacardiaceae* familyasına ait bir bitkidir. En çok Asya kıtasında, sıcak ve kurak iklimlerde yetiştirilmektedir. Antep fıstığı, birçok ülkede üretilmektedir. Antep fıstığı üretimi yapan başlıca ülkeler: İran, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Türkiye, Suriye, İtalya, Tunus ve Yunanistan'dır. Ayrıca İran ve Kaliforniya en büyük Antep fıstığı üreticileridir (Esteki vd., 2018; Dreher, 2012). Türkiye'de geniş sınırlara sahip olan Güneydoğu Anadolu Bölgesi, toplam üretiminin yaklaşık %95'ini karşılamaktadır (AFAE, 2019).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2020 yılının verilerine göre, Antep fıstığı meyvelerinin üretimi yaklaşık 23,6 milyon ton olarak belirlenmiştir. Sert kabuklu meyvelerden Antep fıstığının (*Pistacia vera L.*) üretimi %248,7 oranında artış göstermiştir (TÜİK, 2020).

Antep fıstığı meyvesinin tabakaları içten dışa doğru sıralaması, yenilebilen tek bir tohumu (çekirdek), ince bir kaplaması (testa), krem rengi yumurta şeklinde bir kabuğu (endokarp), olgunluk seviyesiyle değişen renkli (yeşil, sarı, kırmızı) ve iri bir kabuğu vardır (mezokarp ve epikarp) (Erşan vd., 2016; Seeram vd., 2008). (Şekil 1.1.)

Antep fıstığı yaz sonu ve sonbahar başında olgunlaşır ve kabuklarıyla hasat edilir (Mohammadi vd., 2019). Antep fıstığının kabuğundaki su oranı yaklaşık %70'tir. Bundan dolayı mikrobiyal kontaminasyona ve fermantasyona çok yatkın olabilmektedir. Antep fıstığı meyveleri topladıktan sonra ilk 24 saat içinde nem tutmadan muhafaza etmek için ilaç sürecine geçirilmelidir. Hasattan sonra Antep fıstığı içi alınıp gıda olarak kullanılırken atık materyal olan dış kabuk ve sert kabuklarından da faydalanabilmektedir. Antep fıstığı kabuğu, hayvan yemi olarak

kullanılabilir. Çoğunlukla depolama ve yakma gibi yöntemlerle bertaraf edilebilmektedir (Seeram vd., 2006; Mokhtarpour vd., 2014).

Antep fıstığı kabuğu yüksek oranda biyoaktif bileşikleriyle zengin bir kaynaktır. *P.vera* kabuğundaki toplam fenolik bileşikler, fıstık çekirdeğinde bulunanlardan daha fazladır (Tomaino vd., 2010). Bu fenolik bileşiklerin antioksidan, antimikrobiyal, antimutajenik, anti-inflamatuar etkileri gibi biyolojik aktiviteleri son yıllarda çok ilgi çekmiştir (Arjeh vd., 2020).



Şekil 1.1. Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.) ağacı ve meyvesi

1.1.1. Fonksiyonel Bileşenlerin Ekstraksiyon Yöntemleri:

Antep fıstığı kabuğunun fonksiyonel bileşiklerini çıkarmak için örnek hazırlama yöntemine, zamana, ısıya ve en uygun çözücüyü seçmeye dikkat edilmelidir. Ekstraksiyon verimi ve fonksiyonel bileşiklerin değişkenliği dış faktörlere (iklim, çeşitlilik, coğrafi konum, toprak durumu ve işleme yöntemleri) bağlıdır (Beres vd., 2017). Fenolik bileşikleri, polar bileşiklerden olduğu için hem organik hem de polar çözücülerde kolayca çözünülebilir (Mohammadi Moghaddam vd., 2009; Seifzadeh vd., 2019; Tabaraki vd., 2016). Buna göre Antep fıstığı kabuğunun fenolik bileşikleri basitten çok karmaşık olanlara kadar dönüşüp (gallik asit → gallotaninler) geniş bir polarite alanı sergileyebilir. Örneğin; polar/yarı-polar olanları flavonoid glikozitler ve gallotaninler, polar fenolik lipidler ise anakardik asitlerdir. Bu bileşikleri çıkarma işlemini yapan araştırmacılar su, metanol, etanol, etil asetat ve aseton gibi çözücüler

kullanmışlardır. (Abolhasani vd., 2018; Behgar vd., 2011; Erşan vd., 2016; Barreca vd., 2016; Goli vd., 2005). Anakardik asitleri ekstrakte etmek için heksan, etil asetat, dietil eter ve aseton gibi organik çözücülerin kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Erşan vd., 2017). Antep fıstığı kabuğu biyoaktif bileşikler ekstrakte edildiğinde apolar veya düşük polar çözücülerin (Heksan gibi) polar çözücülerinden daha yüksek ekstraksiyon verimlerine sahip olduğunu gözlemlemişlerdir (özbek vd., 2018; Taghizadeh vd., 2018a).

1) Enzimatik ekstraksiyonu: Ekstraksiyon verimini artırmak ve biyoaktif bileşiklerin kaybını önlemek için geliştirilmiş yöntemlerden biridir. Antep fıstığı kabuğu, fenolik bileşiklerini elde etmek için enzimatik ekstraksiyonu kullanıldı. Selüloz, pektinaz ve tanaz gibi enzimler ekstraksiyon verimini iyileştirmede ve artırmada olumlu etki göstermişlerdir. Hücre duvarının yok edilmesi ve polifenoller ile bitki hücre duvarı polimerleri arasındaki eter bağlarının parçalanması ve fenolik bileşiklerin salınımını kolaylaştırmak için kullanılan bir yöntemdir (Ghandahari vd., 2018).

2) Hidrodistilasyon ekstraksiyonu: Bitki dokularından uçucu yağlar elde edilebilmek için geleneksel hidrodistilasyon yöntemi kullanılabilir. Örneğin; Clevengerın balon jojesine konulan materyale yeterli miktarda su ilave edilir, belli bir sıcaklıkta kaynamaya bırakılır. Kaynama süresi boyunca uçucu yağların su ekstraksiyonu alınıp bir sıvı-sıvı karışımla (çözücü) konsantrasyonu çıkarılır. Antep fıstığı kabuğunda % 0.14 ila 0.53 arasında değişen bir uçucu yağ ekstraksiyon verimi bildirilmiştir (Chahed vd., 2007 ; Azmir vd., 2013).

3) Pektin ekstraksiyonu: Yeni bir ikincil kaynak olarak Antep fıstığından pektin ekstraksiyonu üzerine bazı çalışmalar yapılmıştır. Fıstık kabuğundan optimize edilmiş pektin ekstraksiyon koşulları rapor edilmiştir (sıvı/katı oranı 50; w/v, sıcaklık 90°C; çalışma süresi 30 dk). Diğer pektin kaynaklarıyla (Elma posası % 15 vb.) karşılaştırıldığında Antep fıstığı kabuğu, uygun miktarda pektin (% 18-19) içerir (Chaharbaghi vd., 2017; Wang vd., 2007; Kazemi vd., 2019).

4) Ultrasonik destekli ekstraksiyon: Antep fıstığı kabuğunun ultrason destekli ekstraksiyonu, düşük frekanslarda (35 kHz) olursa fitokimyasalların içeriğini artırmada daha etkili olmaktadır (Azmir vd., 2013). Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi, geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle karşılaştırıldığında Antep fıstığı

kabuğu fenolik bileşiklerinin ekstraksiyon veriminde önemli bir değişiklik göstermediği farkedilmemiştir (Goli vd., 2005; Erşan vd., 2017).

5) Mikrodalga destekli ekstraksiyon: Antep fıstığı kabuğundan etanol kullanarak pektin çıkarmak için çalışma koşulları dikkate alınmalıdır. Örneğin; zaman, sıcaklık, PH 1,5, ışınlama süresi (s), mikrodalga gücü (w). Işınlama süresi ve mikrodalga gücü arttıkça kabuktaki pektin ekstraksiyon oranı artırılır. Isıtma mekanizması ise iki farklı ilkeye bağlanabilir: dipol dönüşü ve iyonik iletim. Mikrodalga ekstraksiyon yönteminin ultrasonik ve geleneksel yöntemlerden en yüksek verimliliğe sahip olduğu bildirilmiştir. (Kazim vd., 2019; maran vd., 2015)

6) γ -ışınlama destekli ekstraksiyon: Yüksek beta ışınlama seviyelerinin, sırasıyla değişen dozlarda Antep fıstığı kabuğunun fitokimyasal ekstraksiyonu üzerindeki etkisi, ekstraktların fenolik içeriğinde önemli bir artışa yol açmıştır (Abolhasani vd., 2018; Behgar vd.,2011).

7) Süperkritik sıvı ekstraksiyonu: Biyoaktif bileşikler, organik çözücüler ve süper kritik akışkanlar kullanılarak ekstrakte edilir. Antep fıstığı kabuklarından kritikaltı su ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, çalışma koşullarına (sıcaklık, basınç, akış hızı) bağlıdır. Artan sıcaklıkla ekstraksiyon verimi artar. Fakat süperkritik CO₂ ekstraksiyonunun, Antep fıstığı kabuğu fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonu için zayıf olduğu rapor edilmiştir (Erşan vd., 2018; Goli vd., 2005).

1.1.2. Antep Fıstığı Kabuğun Fonksiyonel Bileşenleri:

1. Fenolik Bileşikler

Basit moleküllerden oluşur. Farklı yapılara sahiptir. Ayrıca, birkaç polimerik molekül grubunu içerir. Antep fıstığı kabuğu, fenolik bileşikler açısından zengin gıdalara göre daha yüksek toplam fenolik içeriğe sahiptir (Goli vd., 2005; Martorana vd., 2013; Seifzadeh vd., 2019). Antep fıstığı kabuğunda bulunan fenolik bileşiklerin özellikleri, bitki türüne, olgunluğuna, iklim ve yetiştirildiği toprağın türü gibi dış etkenlere göre değişir (Lalegani vd., 2018). Bu bileşikler birçok hastalığa karşı koruyucu ve tedavi edici kaynak olarak kullanılabilir (Fathalizadeh vd., 2015; Erşan

vd., 2018). Fenolik bileşikler üç ana gruba (Tablo1.1.) ayrılmaktadır (Arjeh vd., 2020).

2. Pektin

Bitkilerin, hücre duvarında ve orta tabakasında bulunan doğal bir polisakkarittir. Pektinin özellikleri, bitki çeşidine göre değişir. Bazı sebze ve meyvelerin kabukları ve posaları, ticari pektin üretimi için ham madde olarak kullanılabilir. Pektin, kristalleşme, stabilize etme, emülsifiye etme, jelleşme ve kalınlaştırma gibi birçok özelliğe sahiptir. Bu özellikler gıda endüstrisinde ve biyomedikal alanda kullanılmasına yardımcı olmuştur (Bush, 2014; Panouille vd., 2006; Ngouemazong vd., 2015). Pektinin yapısal/morfolojik özellikleri genellikle optimal ekstraksiyon koşullarında, mikrodalga destekli yöntem, X-ışını kırınımı (XRD) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) altında incelenir (Chaharbaghi vd., 2017; Kazemi vd., 2019). Chaharbaghi vd., (2017) tarafından, Antep fıstığı kabuğundan pektin ekstraksiyonunu optimize etmek için en uygun koşullardan bahsedilmiştir. Pektin ekstraksiyonun optimal koşulları (pH 0.5; 90 °C sıcaklık; 30 dakika; sıvı/katı oranı 50 w/v) olduğu özetlenmiştir (Arjeh vd., 2020).

Tablo 1.1. Antep fıstığı kabuğundaki ana fenolik bileşikler

Flavonoidler	Tanenler	Fenolik Asitler
Flavonlar: luteolin, apigenin	Proantosiyanidin	Anakardik asitler
Flavanollar: kateşin, epikateşin	Gallotaninler	Hidroksibenzoik asitler: gallik asit, vanilik asit, vb.
Flavonollar: kuersetin, isorhamnetin	Galloil türevleri	Hidroksisinnamik asitler: klorojenik asit, sinapik asit, vb.
Flavanonlar: eriodictyol, naringenin		
Antosiyanidinsi: siyanidin		

3. Esansiyel yağlar

Esansiyel, eterik veya uçucu yağlar, bitkilerin ikincil metabolizmasından kaynaklanan kokular, uçucu maddeler ve lipofilik maddelerinden oluşan bir karışımdır (Lis-Balcin vd., 1999). Uçucu yağlar, bitkilerin belirli organlarında, üç halde (oda sıcaklığında: sıvı; kristal: katı; uçucu/kokulu: gaz) bulunur, renksiz ya da sarı tonlarında olan, birçok bileşikten oluşan ve suyla sürüklenme yeteneğine sahip yağimsı bir karışımdır (Çalikoğlu vd., 2006; Yaylı, 2013; Kaya vd., 2015). Antep fıstığı meyvesinin bileşiminde % 53,8 oranında yağ bulunur (NTB, 2016). Bitkinin uçucu yağları Terpenoidler, Fenilpropanoidler (aromatik veren), İzoprenoidler'den oluşur ve eczacılıkta kullanılmaktadır (Adams, 2012; El Asbahani vd., 2015). Antep fıstığı yağları fazla uçucu olduğu için diğer bitkilerin yağları gibi depolama koşullarına dikkat edilerek saklanılmaktadır. Antep fıstığı kabuğun ekstrakte edilen yağları, uzun süre hava, ışık ve ısıya maruz kaldıklarında aktivitesini kaybedebilmektedir. Oksidasyon, polimerizasyon ve hidrolizasyon mekanizmalarından muhafaza edebilmek için hava geçirmez (ağız sıkıca kapalı), koyu renkli cam ve alüminyum ile çevreli kaplarda depolama gerçekleştirebilmektedir (Kaya vd., 2015).

4. Yağ Asitleri

Antep fıstığı kabukları, doymuş yağ asitleri ve doymamış yağ asitleri içerir. Grace vd., (2016a), toplam doymuş yağ asitlerine kıyasla doymamış yağ asitlerinin oranının yaklaşık % 87 olduğunu belirtmişlerdir. Yağ asitlerinin özelliklerindeki farklılıkların en önemli sebepleri, coğrafi kök, iklim koşulları, bitki yetiştirme yöntemleri, fıstık çeşitleri, bitki olgunluk aşaması, kabuğu izole etme yöntemi olmak üzere birçok nedenden kaynaklanmaktadır (Grace vd., 2016a; Mahoney vd., 2014). Antep fıstığı kabuklarının yağ asidi bileşimi, fıstık çekirdeğinde bulunanlardan veya diğer kaynaktakilerden farklıdır. Örneğin, başlıca doymamış yağ asitleri olan Oleik asit (18:1) ve Linoleik asit (18:2) iken fıstık kabuğu özünde yaygın doymuş yağ asiti, Palmitik asittir (Arvanitoyannis vd., 2006; Chahed vd., 2006; Mahoney vd., 2014; Beres vd., 2017).

1.2. Antep Fıstığı Kabuğun Biyolojik Aktiviteleri

1.2.1. Antioksidan Aktivitesi:

Kanser, kronik hastalıklar ve enfeksiyonlar Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) normalden fazla olduğu durumlardan kaynaklanmaktadır. Dört tipte (süperoksit radikalleri ($\cdot\text{O}_2^-$), hidrojen peroksit (H_2O_2), lipoperoksitler ($\text{R}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, $\text{RO}\cdot$) ve hidroksil serbest radikalleri ($\text{OH}\cdot$)) bulunmaktadır. Bitkideki fenolik bileşikler, bir hidrojen atomu verme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle hidroksil serbest radikallerini temizlemek veya ortadan kaldırmak için etkili bir bileşen olarak kabul edilir (Charles, 2012). Önceki çalışmalarda, Antep fıstığının özütünün, ham makrofaj hücrelerinde ROS ve Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) üretimini engelleme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir (Boots vd., 2008). Antep fıstığı kabuğu, fenolik bileşikler ve antioksidanlar açısından zengin bir kaynaktır. İçerdiği fenolik bileşikler Gallik asit, Kuersetin, Floroglusinol, Tiogalin, Galloil türevleri, Kateşin, Pirogallol, Polisakkarit, A-pinen ve Terbinolin olarak belirtilmiştir (Arjeh vd., 2020).

- Gallik asit: Antep fıstığı kabuğunda en bol bulunan fenolik bileşiktir (Giftson, vd., 2010). Bir hidrojen atomu verme ve bir elektron bağışlama mekanizmaları üzerinde çalıştığı için yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtilmiştir (Wright, vd., 2001).
- Kuersetin: Antep fıstığı kabuğu özütündeki bir başka önemli antioksidan polifenoldür. Hem ROS hem de RNS'nin güçlü bir temizleyicisidir (Barreca vd., 2016; Boots, vd., 2008). Kuersetin aktivitesi, site 3'te bir OH grubunun, B halkasında bir katekol grubunun varlığından kaynaklanmaktadır (Gupta, 2016).

1.2.2. Antimikrobiyal aktivite:

Önemli fitokimyasalları (fenoller, alkaloidler, lektinler, polipeptitler, terpenoidler, uçucu yağların diğer bileşenleri ve poliasetilen) içerdiği için Antep fıstığı kabuğu özütlerinin, antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları kaydedilmiştir (Omojate Godstimeö vd., 2014). Fenolik bileşiklerin antibakteriyel etkilerindeki ana mekanizmalar şu şekilde özetlenebilir (Heinonen, 2007; Simoes vd., 2009):

a) Bakteri hücre duvarındaki proteinlerle etkileşerek hücre bozulması.

b) Enzimatik inhibisyon ile enerji üretiminin bozulması.

c) Nükleik asit üretiminin inhibisyonu.

Örneğin, Antep fıstığı kabuğunun içeriğindeki uçucu yağlar, hidrofobik özellikleri sayesinde bakteri hücre zarının lipidleri ile etkileşebilir ve hücrenin fonksiyonel özelliklerini engelleyebilirler (Bajpai vd., 2012).

Antep fıstığı kabuğundaki Gallik Asit ve Kuersetin, dış ve iç bakteri zarlarının akışkanlığını artırmaya ve zar potansiyelini bozmaya çalışırlar (Mirzoeva vd., 1997; Simoes vd., 2009).

1.3. Gıdalardaki Mikrobiyal Bozulmalar

Gıdaların mikroorganizmalar tarafından bozulmaya karşı duyarlılıkları büyük ölçüde farklıdır. Bu da dış ve iç faktörlere (pH, aw, O-R potansiyeli, antimikrobiyal maddeler ve koruyucu yapılar, besin içeriği) bağlıdır. Bozulma duyarlılığına göre gıdalar, bozulabilir, yarı bozulabilir ve bozulamayan gıdalar olarak üç katagoride sınıflandırılabilir (Sinell, 1980; Gram vd., 2002).

Gıdadaki karbohidrat, protein bileşikleri, NPN bileşikleri (protein niteliğinde olmayan azot) ve lipid türlerinin mikrobiyal bozulma üzerine etkileri ele alınmıştır. Bu bileşiklerin bazılarının mikroorganizmalar tarafından kullanımında izlenen metabolik yollar belirlenmiştir. Belirli koşullarda:

- Bazı mikroorganizmalar son ürün (CO_2 , H_2 , aminler, yağ asitleri, v.) üretebilirler.
- Bazı mikroorganizmalar gıdada büyük moleküllü maddeleri (polimerler) parçalamak için hücre dışı enzimleri salgılayabilirler.
- Bazı mikroorganizmalar da gıda içerisinde üreyerek pigment sentezleyebilirler.

1.3.1. Gıda Bozulmasında Önemli Faktörler:

Mikrobiyal hücrenin dış ve iç zarında, enzimlerin bırakılması sebebiyle gıdalarda mikrobiyal bozulma meydana gelir. Gıdalarda bozulma sırasında en yaygın karakteristik özellikler doku/tekstür değişikliği, renk değişikliği, koku değişikliği, su aktivitesini, yapışkanlık oluşumu, sıvı ve gaz birikim yapması olarak bilinmektedir.

Gıdaların üretim ve tüketim süreci arasında mikroorganizma çoğalması ya da gelişmesi gerçekleşebilir. Bunu önlemek için bozulma ile ilgili faktörlerin bilinmesi ve farklı yöntemlerin uygulanması gerekir.

Mikroorganizmalar, gıdayı ilk etkilediğinde gıdada kontaminasyon oluşturur. Gıdanın içeriklerinden (Ph, besin maddeleri, inhibitör maddeleri, vb.) faydalanarak gelişir, bulaşma süresince ortamın sıcaklığının yardımıyla hem çoğalması hemde enzimatik aktivitesini gerçekleştirir.

1.3.2. Mikroorganizmaların Önemi:

Ham ve işlenmiş gıdalar, mikrobiyal canlılardan (bakteri, maya ve küf) etkilenir. Bozulma özelliğine ve mikrobiyal grubuna bağlı olarak bozulmanın seviyesi 10^{6-8} hücre/g/ml ya da cm^2 arasında olabilir. Fermente edilmiş olan gıdalar, yüksek sayıda mikroorganizma standart olarak (10^{8-9} hücre/g ya da /ml) bulunur (Gill, 1986; Kraft, 1992; Sinell; 1980; Gram vd., 2002).

1.3.3. Baskın Mikroorganizmalar:

Genellikle bozulmayan gıdalarda, başlangıçta az sayıda mikroorganizmalar bulunabilir. Fakat steril olmayan gıdalarda, mikrobiyal gruplardan aynı cinse ait birden fazla tür ya da aynı türe ait birden fazla suş çeşidi içerip baskın duruma geçirir.

Birkaç cinse ait bakteri türleri, aşağıdaki faktörlere göre gıda bozulmasına neden olur:

- Bakteriyel özellikleri.
- Gıdanın özellikleri.
- Depolama koşulları.

Baskın bakteriler, farklı gruplar altında incelenebilir (Kraft, 1992; Sinell, 1980).

1. Psikrotrofik Bakteriler:

5° C’de ve aşağısında buzda, buzdolabında ve uzun raf ömürlü gıdalarda üreyebilir. 10-25°C’de ve daha yüksek sıcaklıklarda işleme ve tüketim sürecinde bulunan gıdalarda hızla çoğalabilir.

Gıdaların Saklama şekline bağlı olarak, mevcut psikrotrofik bakteri türleri değişir.

Aerobik koşullarda aeroplara (*Pseudomonas* türleri gibi), anaerobik şartlarda anaerob ve fakültatif anaerob (bazı *Enterococcus* türleri), ısı işleme esnasında ve işlendikten sonra düşük sıcaklıkta depolanan gıdalarda Termodürik (*Clostridium* türlerinin sporları gibi) bakteri türleri bulunur.

2. Termofilik Bakteriler:

40°C ve 90°C arasında ürerler. Fakat optimum üreme sıcaklığı 55-65°C’dir. Bazı termofilikler (*Streptococcus Thermophilus*, *Clostridium*, vb.) ortamın uygun şartlarına göre (sıcaklık) çimlenebilir, çoğalabilir ve gıdayı bozabilirler.

3. Asidürik Bakteriler:

PH 4-6 ve aşağısındaki gıdalarda hızlı şekilde ürerler. Heterofermentatif laktik asit bakterileri (*Lactobacillus fructivorans*) ve homofermentatif laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus plantarum*) gibi asetik gıda ürünlerinin bozulması ile ilişkilidir (turşu, mayonez, fermente sosis, vb.).

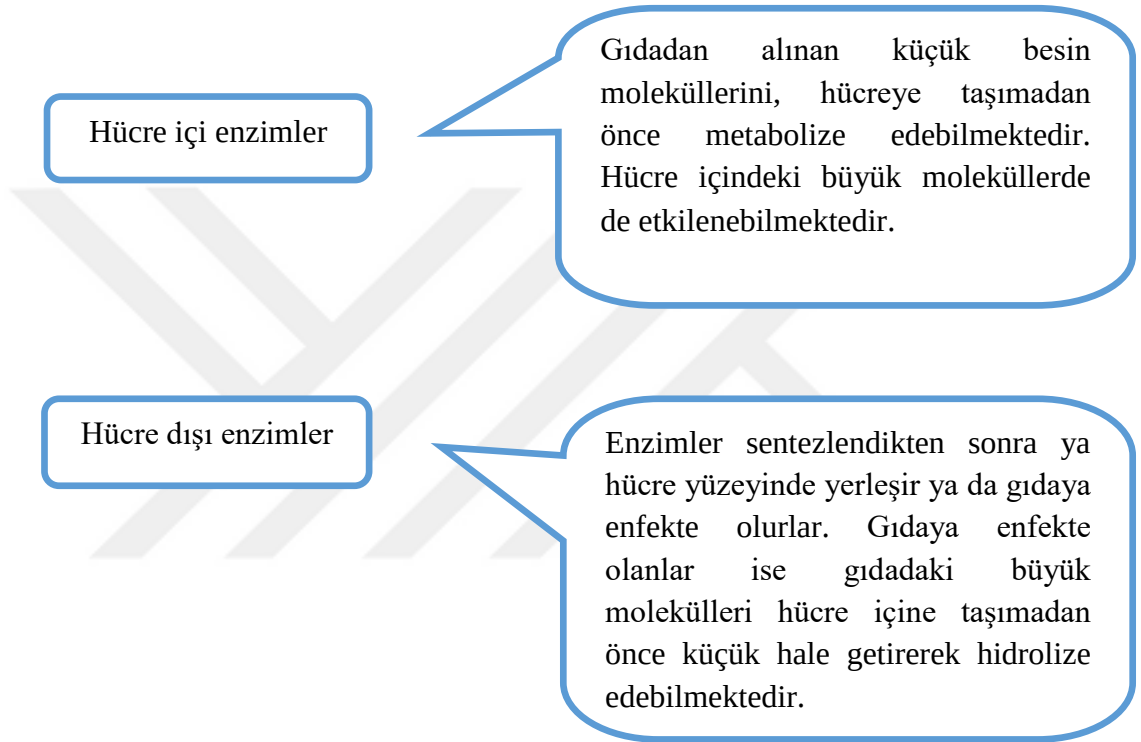
1.3.4. Mikroorganizmalardan Kaynaklanan Enzimli Gıda Bozulması:

Enzimler genellikle bakteri hücresinin dış ve iç zarında bulunmaktadır. Enzimlerin temel görevi, bakteri hücre duvarının her iki tarafında bulunan büyük molekülleri veya küçük molekülleri çeşitli mekanizmalarla parçalamaktır (Şekil 1.2.).

Gıdalarda belirli bir miktarda metabolize edilebilen düşük moleküler ağırlıklı bileşenler (karbonhidratlar, azotlu bileşikler, serbest yağ asitleri ve bazı organik asitler) bulunur. Bozulma yapan mikroorganizmaların çoğu, düşük molekül ağırlıklı gıda bileşenleri kullanır ve gıda kontaminasyonuna neden olur. Örneğin,

Pseudomonas spp. bakterisi düşük molekül ağırlıklı azotlu bileşiklerin varlığında hücre dışı proteinaz sentezinin baskılanarak salgılanması gerçekleşmektedir.

Enzimler mikroorganizmaların çoğalması veya canlı hücrelerin var olmaması durumunda (mikrobyal hücreleri öldükten ya da öldürüldükten sonra) hücre içi ve hücre dışı etkisiz hale gelir ve gıda bozulmasına sebep olabilirler (Jayani vd., 2005; Cousin, 1982).



Şekil 1.2. Enzimlerin ana mekanizmaları

1.3.5. Psikrotrof Bakterilerin Termostabil (ısıya dayanıklı) Enzimlerinin etkilenmesi:

Pastörizasyon ve çok yüksek sıcaklık (Ultrayüksek Sıcaklık, UHT) gibi ısı işlemleri, psikrotrofik bakterileri öldürür ancak ısıya dayanıklı enzimleri tamamen yok edemez. Çiğ sütteki bazı psikrotrofik gram negatif bakteriler tarafından üretilen termostabil proteinazlar, lipazlar ve fosfolipazlar, ürünlerin bozulma olasılıkları nedeniyle ekonomiye katkı sağlar (Barbano vd., 2006; Teh vd., 2011).

Yüksek sıcaklıkta (140-150°C ve 1-5 saniye) üretilen süt, saklama koşullarına göre (raf ömrü üç aydır ve 20°C'de saklanır) ticari steril olarak kabul edilir. Depolama

sırasında üründe bozulma tespit edildiğinde bozulma tipine göre nedeni belirlenebilir. Psikrotrofik bakteriler tarafından ısıya dayanıklı proteinazlar, lipazlar veya fosfolipazlar vasıtasıyla meydana gelebilecek bozunma durumları, tortu oluşumu, jel oluşumu, yağların parçalanması veya acı tat olarak özetlenebilir. Çiğ sütteki bakteri tarafından üretilen proteolitik enzimler, yüksek sıcaklığa maruz kaldıklarında aktivitelerini kaybederler. Bundan dolayı süt üretiminde UHT uygulaması tercih edilemez (Ledenbach vd., 2010; Nörnberg vd., 2010).

1.3.6. Düşük Sıcaklıkta Enzimli Gıda Bozulması:

Düşük sıcaklıklarda bakteri hücreleri ölebilir ya da parçalanabilir. Fakat hücrenin iç zarındaki dirençli enzimler aktivitesini kaybetmeyebilir. Bazı enzimler düşük sıcaklıkta uzun süreli depolama sırasında tespit edilebilen bir kusura neden olabilir. Psikrotrofik bakteriler farklı türlerine ve suşlarına göre düşük sıcaklıkta saklanan gıdalarda, üreme veya enzim üretme yeteneği göstermiştir (Nörnberg vd., 2010; Raats vd., 2011).

Psikrotrofik bakteriler tarafından (*Pseudomonas* gibi) üretilen dış enzimler, ette kötü tat ve doku bozukluklarına neden olabilir (Gram vd., 2002; Ledenbach vd., 2010).

1.3.7. Besinlerde Bakteriyel Bozulmanın Göstergeleri:

İşlenmemiş ve kısmen işlenmiş gıdalar, belirli muhafaza yöntemleri altında bile mikrobiyal bozulmaya karşı hassastır. Üretimden sonra, ürünün standart depolama şartlarında bozulmadan kalabilme özelliği göz önünde bulundurulmalı ve depolama süresince ürünün bakteriyel bozulmaya duyarlı halde olduğu süre açıklanmalıdır. Böylece, bakteriyel bozulmadan kaynaklanan gıda kaybının en aza indirilmesini sağlanılabilir.

Ürünün raf ömrü ve bozulmaya karşı duyarlılığı belirli parametreler dahilinde kontrol edilir. Bu parametreler duyuşal (duyularla alınan bir ürünün özellikleri tat, koku, doku, vb.), kimyasal veya mikrobiyal göstergeler olarak sınıflandırılır. Duyusal kriterlerini, mikrobiyolojik veya kimyasal kriterleri veya her ikisiyle birlikte kullanıldığında daha iyi sonuçlar verir. Ürün türü ve bileşimi, işleme yöntemleri, ürünün işleme esnasında kontaminasyona maruz kalması, paketlenme tipi, saklama süresi ve sıcaklık değişiklikleri bakteriyel gıda bozulmalarında rol oynayan faktörlerdir. Bu faktörler nedeniyle ürüne bağlı değişiklikler ortaya çıkabilir. Ürünün

ana sıfatlarına göre uygun bir indikatör (kimyasal/bakteriyel) seçilerek bozulma aşaması değerlendirilebilir (Bibek vd.,2016).

1.3.8. Mikrobiyolojik Değerlendirme Kriterleri:

- Koloni Oluşturan Birim Sayısı (kob/g veya kob/cm²):

Ürün tipine ve saklama koşullarına bağlı olarak bir gıdadaki uygun bozulma gösterge/indikatör grubunun sayısını belirlemek için kullanılan yöntemle birlikte toplam aerobik bakteri sayısının veya standart bakteri sayısının dahil edilmesi faydalı olabilir. İndikatör bakterilerin düzeylerinin KOB sayımını bilmek için birkaç gün bekleme süresi gerekir (ekim yönteminde inkübasyon süresi gibi). Bu nedenle, mikrobiyal sayım yöntemi en büyük dezavantajlardan biri kabul edilir. Bu sorunu çözmek için alternatif yöntemler bulunmuştur. Örneğin; Lipopolisakarit saptanması (LPS), Adenozin tri fosfat (ATP) ölçümü, Elektriksel özdirenç veya İletkenlik, Boya indirgeme süresi. Bu yöntemler, avantajlara ve dezavantajlara sahiptir. Tüm gıda sistemleri için geçerli değildir ve bakteri seviyeleri eğriler şeklinde gösterilir (Bibek vd.,2016).

- Faz Kontrast Mikroskobu:

Kullanımı kolay ve küçük bir mikroskobtur. Doğru sonuç vermek için örnekte bulunan bakteriyel popülasyonu yüksek düzeyde (yaklaşık 10^{5-6} /ml) olmalıdır. Sıvı bir üründe bozulma olayı saptamak için ve şartname düzeyi belirlenirse, elde edilen sonuç düzeyden daha az “beklenen”, düzeye yakın “kullanılmalı”, düzeyden daha fazla olsa ise “yok edilmeli” olarak özetlenebilir. Ayrıca sıvı olmayan ürünlerde, örnekten belli bir miktar alınıp destile su ile süspansiyonu hazırlanır. Karıştırarak lam üzerine 1-2 damla damlatılıp mikroskobta test edilebilir (Bibek vd.,2016).

- Kimyasal Değerlendirme Kriteri:

Gıda bozulmalarına neden olan mikroorganizmaların metabolizmasını ölçmek için kullanılan yöntemler, kolorimetrik, titrasyon yöntemleriyle NH₃ üretimi, CO₂ üretimi, vb. içerir. Fakat bakterilerin türlerine ve suşlarına bağlı ortaya çıkan metabolitlerin farklı sonuçları önceki yöntemlere göre uyum sağlamayabilir ve her gıda çeşitlerinde kullanılamaz. Örneğin; Etlerde pH=5.5 ölçümünde bozulma bakteriler tarafından amino asitlerin metabolizması, NH₃ varlığında aminler ve diğer

bazik bileşikleri üretilir (Buluşi vd., 2009). PH=8 ölçümünde ise bazı bakteriler tarafından karbohidratların metabolizmasında asitler üretilir ve pH'yı azaltılır. O yüzden etlerde pH ölçümü iyi bir bozulma indikatörü olmayabilir (Bibek vd.,2016).

➤ Bozucu Mikroorganizmaların Tespiti için Uygulanan Moleküler Yöntemler:

Kullanılan geleneksel yöntemlerin zorluklarından kaçmak için gıdalarda mikrobiyal saptanmasında modern moleküler tekniklerin rastgele sağlamlaştırılmış çok biçimli DNA-PZR (PCR), darbeli alan jel elektroforezi (PFGE), vb. artık uygulanmaktadır (Bibek vd.,2016).

➤ Isıya Dayanıklı Enzimlerin Analizi:

Depolanmış bir ürünün raf ömrünü belirlenmek için ısıya dayanıklı proteinazlarına hassas analiz yöntemleri kullanılmalıdır. Eski yöntemlere (jel difüzyonu gibi) ek olarak Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS), Floresamin reaktifi, Enzim bağlı immünosorbant testi (ELISA) ve Lusiferaz İnaktivasyon testi gibi güvenilir yöntemler de kullanılmaktadır. Isıya dayanıklı mikrobiyal (*Pseudomonas spp.*) lipazlarını saptamak için hızlı ve hassas ELISA yöntemi kullanılmıştır (Bibek vd., 2016).

1.4. Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar

1.4.1. Zehirlenmeler/İntoksikasyonlar:

Gıda zehirlenmesinde fark edilen genel özellikler, toksin, gıdadaki patojenin büyümesi sırasında üretilir, ısıya dayanıklı veya ısıya dayanıksız olabilir. Zehirlenme nedenleri taşıyan besinler tüketildiğinde vücut sıcaklığında bir değişiklik olmadan da kısa bir süre sonra kişide belirtiler ortaya çıkar. Semptomlar zehirin türüne göre değişir (sindirim sistemini etkileyen bağırsak toksinleri gibi). Mikroorganizmaların neden olduğu gıda zehirlenmesine, farklı bakteri türleri tarafından üretilen toksinleri içeren gıdaların yenmesi neden olur. Gıda kaynaklı patojenler, çoğalma döneminde üretilen toksinler nedeniyle insan sağlığını etkiler ve zehirlenmelere neden olur. Protein yapılarına sahip olan toksinler ısıya dayanıklı ya da dayanıksız olabilir. Hastalığın belirtileri zehri üreten patojene göre değişir. Gıda ürünlerini hazırlarken veya işlerken, toksin üreten patojenlerin aktivitesini sınırlamak veya önlemek için

belirli yöntemler izlenmelidir. Üretimden tüketim aşamasına gıdadaki değişiklikler, mikroorganizmaların özellikleri ve tespit teknikleri hakkındaki bilgilerimiz, bazı yeni patojenleri ve bunların semptomlarını belirlemede faydalıdır. Ekonomileri yıkmak ve bilerek insanlara zarar vermek amacıyla gıdalarda hastalık çeşitlerine neden olan mikroorganizmalarla kontamine olmasına neden olan uluslararası gıda biyoterörizmi hakkında devam eden endişeler var. Patojenler sürekli gelişmekte onları kontrol altına almak ve risklerini azaltmak için yeni yollar geliştirilmeli. Yeni ortaya çıkan patojen türleriyle karşılaşmaya hazırlıklı olmalıyız (Bibek vd., 2016).

Staphylococcus aureus:

Genel bakış: Stafilokok, *Staphylococcus aureus*'un üremesi sırasında gıdalarda ürettiği yaygın gıda zehirlenme ajanlarından biridir (Schelin vd., 2011). Hastalık kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) tarafından 2011 yılında ABD’de yayınlanmış rapora göre yıllık *S. aureus* ile enfekte olan hastalarda her 240 vaka için altı ölüm meydana gelmektedir (Scallan vd., 2011). Özellikleri, gram pozitif, tek veya kümelenmiş formu, sporları yok, hareketsiz, kapsülsüz, kolonileri altın renge sahip, gıdalardan seçici gelişme besiyeri (BP agar) vasıtasıyla izole edilir. Mannitolu fermente eder, koagulaz, hemolisin, vb. enzimleri üretilir. Fakültatif anaerob olmasına rağmen aerobik ortamda ve zor şartlarda hızlıca çoğalır. Optimum gelişme döneminde (37-40°C’de) karbohidratları fermente ederek ürettiği proteazlarla proteinleri parçalamaya çalışır. Gelişme ortamı; düşük $a_w=0.86$, düşük pH=4.8, yüksek şekerli ve tuzlu konsantre, NO₂ varlığı ile gerçekleşir. *S. aureus* ve türleri doğal olarak canlıların solunum ve yutma yollarında, derilerinde, yara ve sevilcelerde bulunur, bunların vasıtasıyla gıdalara bulaşır (Schelin vd., 2011; Cretenet vd., 2011). Toksinleri; *S. aureus* farklı 21 tip toksin (SEA, SEB, vb.) üretir. Toksinler, ısıya dayanıklı değişik protein yapılarından (Toksisiteler, serolojiler ve moleküller) oluşur. Suda çözünmediği için Proteolitik enzimlere duyarlılık gösterirler. Proteinli gıdalarda ve oda sıcaklığında üretilirler. Isıya dayanıklılığı (60°C ve 16 saat) vardır. Gıdalarda bulunması; Stafilokok, hazırlanmaları sırasında insan ellerinin sıklıkla temas ettiği, oda sıcaklığında bekletilmiş ve proteinli gıdalar nedeniyle (örneğin; salata ve kremalı kek) Gastroenterit olayları çokça görülür. Stafilokokların gıda zehirlenmesinde vaka sayısı nisbeten fazladır. Bunun üç nedeni vardır; düşük kişisel hijyen, kontamine ekipmanlar ve uygun olmayan sıcaklıklara maruz kalma. Stafilokok toksinleri içeren ihraç gıdalar nedeniyle, ithalatçı ülkelerde gıda

zehirlenmelerine yol açabilir. Hastalık semptomları; Stafilokok bir enterotoksindir. Gıdayla alındıktan sonra midenin vagus sinirlerini uyarma sonucunda sert kusmayı tetikler. Toksin semptomları kısa sürede (30dk-8saat) ve vücudun direnç seviyesine göre görülür. Toksin, otonom sinir sistemini uyarak (ağız akıntısı, kusma, ishal, vb.) ilk semptomlara ve ikincil semptomlara (ürperme, terleme, baş ağrısı, vb.) neden olur. Azaltma yolları; *S.aureus*'un hücre sayısı azaltması, kaliteli ve özenlice yapılan gıdalar tüketmesi, gıdanın hazırlandığı yerin ve hazırlayanın temizliğine dikkat edilmesi, Gıdalara çıplak el ile dokunulmamalı, gıdanın ısıl işleme tutulması ve çoğalma şartlarında bekletilmemesi gerekir. Teşhis yöntemleri; Seçici agar ortamında ekim yapılarak kolonilerin enterotoksin üretebilme kabiliyeti kontrol edilir. Enterotoksinlerin etkisini veya zehirlenmeye neden olan toksinin tespit etmek için ya biyolojik deneylerle (hayvan üzerinde, kediler vb.) ya da serolojik deneyler ile (enterotoksinler saflaştırılıp hassas yöntemlerle test edilir) anlaşılır.

Clostridium botulinum:

Genel bakış: Gıda zehirlenmesi, gıdada kontamine olan *Clostridium*'un ölümcül toksini nedeniyle oluşan nörotoksinlerinden biridir. Bazı nörolojik ve gastrik semptomlara sebep olur. Sporlarını içeren besinlerle beslenen bebeklerde, mide-bağırsak yolunda gıda zehirlenmesi meydana gelir. (Peck vd., 2011; Shukla vd., 2005). Özellikleri: Gram pozitif, kısa zincir veya tekli çubuk, hareketli, sporları var, anaerob, sporları 115°C'de dirençli, hücreleri 90°C'de etkisiz olur. Toksinleri 7 tipe sahip, proteolitik olan ve olmayan suşları var, proteolitik olan optimum çoğalma sıcaklığı (35°C), proteolitik olmayan optimum çoğalma sıcaklığı (30°C), çoğalmayı anaerobik ortamda gerçekleştirir, hücre çoğalmasını önler ortam; düşük pH=4.6, yüksek NaCl miktarı= %5.5, düşük aw=0.93. Sporları toprak, sular, bataklıklar, hayvan, vb. çok alanlarda yayılır ve bu kaynaklardan gıdaya bulaşır. Toksin üretimi; Mideye ulaşan proteolitik / proteolitik olmayan suşların ürettiği toksin inaktif ve büyük bir yapıya sahip olur. Fakat mikrobiyal proteazlar veya sindirim sistemindeki proteaz enzimleri tarafından toksini hidrolize ederek toksini aktif ederler. Toksin molekülleri vücuda girdikten sonra bağırsak hücreleri tarafından emilerek dolaşım sistemi yoluyla sinir sistemine aktarılır. Asetilkolin salınımının engellenmesine çalışır. Nöromusküler kavşaklarda sinir sinyallerini bloke edip kas paralize oluşur. Gıdalarda bulunması: Sporlar, ısıl işleme uyguladığında çimlenip vejetatif hücrelere çevirilir. Çoğalma döneminde toksin üretirken oluşturulur ve gıdadaki bulaşma

onlarla başlar. Vakalar en fazla sebzeler, meyveler, fermente edilen yiyecekler, vb. gözlenir. Vaka oluşmasına önemli sebepleri; değişik sıcaklığa ve uzun süre havaya maruz kalması, ısıl işlemi yeterli olmamasıdır. Proteince zengin ve asit oranı düşük besinlerde çoğalırken gaz ve hoş olmayan koku üretilir. (Peck, 2006; Silva vd., 2010). Hastalık semptomları: *Clostridium* hastalıkları 5 tipe ayrılır: gıda kaynaklı botulizm, bebek botulizmi, yara botulizmi vb.. Hastalığın başlangıcından itibaren 2-36 saat içinde semptomlar önce bağırsakta, ardından diğer organlarda anormallikler kusma, ishal, çift görme, nefes almada zorluk, diyafram ve kalp kaslarında felç, ölüm ortaya çıkar. Azaltma yolları: En etkili yöntem sıcaklık ve süre ayarlamasıdır. Gıdalarda uyulması gereken bazı önlemler; bakteri sporlarını inaktive etmek için düşük sıcaklıkta (buzdolabında 3°C) saklanmalıdır. Soğuk sistemde (NO₂ varlığı, düşük asitlik, pH=5.0, NaCl=3.5%, aw=0.97) önleme koşulları uygulanmalıdır. Çoğalma ve toksin üretim süreçlerini önlemek için ısıl işlemler ve koruyucu faktörler birlikte kullanılmalıdır (Peck vd., 2011). Teşhis yöntemleri: *Clostridium botulinum* etkili olup olmadığını selektif agar kullanılarak anaerobik ortamda ekim yapılır ve aktivitesi biyokimyasal ve toksikolojik testler ile kontrol edilir. Nörolojik semptomlar fareler üzerinde test edilir. Toksinlere bağlı ölüm 92 saat içinde gerçekleşmelidir. Bu bakteri üzerinde çalışan kişilere aşı yapılır.

Clostridium difficile:

Genel bakış: *C.difficile* bakterileri hastanede yatan hastalarda bulaşıcı ishalin en yaygın sebebidir. Toksinin nedeni ise ishale neden olabilecek bazı antibiyotik çeşitlerinin verilmesidir. 1935 yılında yenidoğanların dışkı florasında keşfedilmiştir. Özellikleri: Gram pozitif, sporları var, anaerob. Toksin üretimi: *C.difficile* bakterilerinin patojenik suşları, İrritabl Bağırsak Sendromu'yu (IBS) enfekte eden iki tip protein toksini (A ve B) üretir. Hastalık semptomları: Hastalık belirtilerini göstermeyebilir, şiddetli psödomembranöz iltihaplanma, hafif ishal. Tedaviyi aldıktan sonra üç gün içinde hastalığın belirtileri yok olur. Azaltma yolları: İshale neden olan antibiyotiklerin durdurulması. Toksin şiddetli ise Oral Metronidazol alınmalıdır. Teşhis yöntemleri: *C.difficile* toksinlerini tespit etmek için dışkı analizi yapılır (Kelly vd., 1998).

1.4.2. Bakteriyel Enfeksiyonlar:

Gıdalarda mikrobiyal enfeksiyonu, çoğunlukla enterik patojen bakteriler nedeniyle görülür. Vücuda giren bakteriler sindirim sistemine saldırarak enterik semptomlara ve bazen ölüme neden olur. Bu patojenler farklı sıcaklıklara (bakteri türüne bağlı olarak) değişen hassasiyet gösterirler ve pastörizasyon sonucunda hepsi etkilerini kaybederler. Spesifik ve etkili yöntemler izlenerek bu mikroorganizmaların tehlikelerini azaltmak için çok sayıda ve çeşitli önlemler alınmaktadır.

Escherichia coli:

Genel bakış: İnsanların ve sıcak kanlı hayvanların bağırsaklarında doğal bir şekilde bulunur. Özellikleri: Gram negatif, sporları yok, zararsız, hareketli, seçmeli anaerob, çubuk şeklinde, indeks organizma olarak kullanılır, suşların tipleri var. EHEC ve STEC suşları 30-40°C hızlı gelişme, 44-45°C zayıf gelişme, 10°C'nin altında gelişme göstermez. Düşük pH'li ortamında (pH= 4.5 veya daha düşük) dirençli olur. Virülans faktörleri: Suşların tipleri toksinler üretir ve epitel hücrelere yapışarak istila eder. Bu yeteneğe göre altı alt grubda sınıflandırılır; enterotoksijen *E. coli* (ETEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC) ve difüz-yapışkan *E. coli* (DAEC). Gıdalarda bulunması: Taşıyıcı bireylerle veya hayvanlarla (sütleri ve etleri) yayılabilir. Kirli yıkama/sulama sulardan insana ulaşabilir. Hastalık semptomları: Ortaya çıkan enfeksiyonları ve semptomları gruplarına göre değişir. Doğal olarak kalın bağırsaklarda milyonlarca adet/gr yüksek bir oranda bulunur ve dışkı yoluyla bulaşması gerçekleşir. Genel belirtileri; baş ağrısı, ateş, üşüme, mide bulantısı/krampları, kusma, ishal (sulu/kanlı olabilir), ölüm. ETEC (Mide ve bağırsak iltihabı hafif kolera gibi, fazla sıvı kaybı); EIEC (Şigelloz benzeri dizanteri); EHEC ve STEC (hemorajik üremik sendrom (HUS), Shiga toksini (STX), Verotoksin (VT), Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP), bağırsak / böbrek / beyindeki kılcak kan damarlara zarar verir). Azaltma yolları: Gıda işleme sürecinde önemli sanitasyon önlemlerinin alınması, taşıyıcı bireylerle temas edilmemesi, soğutma ve ısıtma işlemlerine önem verilmelidir. Şüpheli gıdalar yeterli sıcaklıkta pişirilmelidir. ABD Gıda Güvenliği ve Denetim Servisi'nin talimatlarına göre (FSIS); yalnızca pastörize süt kullanmak, hızlı bozulan gıdalar iyice saklanıp buzdolabına yerleştirmek, donmuş gıdaları oda sıcaklığında çözündürmemek veya uzun süre tutmamak, ellerimizi/çalışma yüzeylerini/mutfak aletlerini iyice temizlemek. Teşhis yöntemleri: Sıvı besiyer ile

zenginleştirerek seçici agar (hemolitik, at kanlı agar, vb.) ortamında ekim yapma yöntemiyle incelenir. Oluşan kolonileri biyokimyasal ya da serolojik yöntemlerle test edilir.

Salmonella enterica:

Genel bakış: Patojenik bakteri ve virüslerin neden olduğu tüm gıda kaynaklı hastalıkların en önemlisinin *Salmonella enterica* olduğu anlaşılmıştır. Ölümcül bir patojendir. Typhi ve Paratyphi insanda en yaygın serotiplerdir. *Salmonella* insanda üç şekilde bulunur; Antijene göre somatik, kapsül, flagella. Vücuda ağız yoluyla girer ve dışkı yoluyla atılır. Özellikleri: Gram negatif, sporları yoktur, seçmeli anaerob, çubuk şekle sahip, hareketli, Glukoz varlığında gaz üretir, hidrojen sülfür üretir, gelişme sıcaklığı 35-37°C, düşük sıcaklıklarla etkilenmez, pH=4.5'te duyarlılık ve aw=0.94'te gelişme göstermez (Podolak vd., 2010). Bazı hayvanların (vahşi ve evcil hayvanlarında kaplumbağa gibi) gastrointestinalde bulunur. Evcil hayvanlarda salmonelloza insana ulaşarak dışkı yoluyla atılma sonucunda bulaşmayı topraklara ve sulara da ulaşabilir. Virülens faktörleri: *Salmonella* serotipleri, DNA'ya yüksek oranda bağlanma yeteneğine sahiptir. Salmonelloz ile kontamine olmuş gıdalar çok sayıda serotip içerir. Günümüzde yaygın olan *Salmonella* serotipinleri (*S.enterica* ser. Typhimurium ve *S.enterica* ser. Enteritidis) (CDC, 2011). Bunların ikisi 1. Alttüre aittir. *Salmonella*'nın alttürleri altı tane olarak belirtilmiştir. *Salmonella* özel faj tiplerine duyarlılık gösteriyor. En çok kümes hayvanlarında bizzat tavukların yumurtalıklarında yumurtlarına ulaşır ve karkas yıkama sularında bulunur (Foley vd., 2011). Gıdalarda bulunması: Hayvansal gıdalarda; çeşitli et türleri, süt ve süt ürünleri, yumurtalarda bile bulunur. Patojeni taşıyıcıların dışkısı yoluyla, özenli hazırlanmamış/çiğ gıdalarla veya yeterli ısıl işleme tutulmamış gıdalarla bulaşabilir. Bitkisel gıdalarda; kirli suyla (kanalizasyon suları) yıkanan sebzeler/meyveler ve sulanan topraklarda *Salmonella* suşları bulunur (Park vd., 2012). Hastalık semptomları: Salmonelloz ile bulaşmış gıda tüketildiğinde gastrointestinal (mide-bağırsak) hastalıkları meydana gelir. Enfeksiyonun dozu arttıkça *Salmonella* suşları mide-bağırsak ortamındaki asitlere karşı direnç gösterir. Bağırsakta kolonize olur, mukoza hücrelerine yapışarak saldırır. Enfeksiyon noktasında iltihap ve ağır ödem oluşur. 8-36 saat içinde hastalığın semptomları ortaya çıkar. Kişinin sağlık durumuna göre çeşitli belirtiler görünür. Örneğin; mide krampları/bulantısı, istifra/kusma, ishal, üşüme, ateş, ölüm... (Ruby vd., 2012; Velge

vd., 2012). Azaltma yolları: Ürünlerde *Salmonella* varlığını tespit etmek için inceleme/denetim programları uygulanmaktadır. *Salmonella* salgınları konusunda tüketiciler ve üreticiler için bilinçlendirme programları yürütülmektedir. Teşhis yöntemleri: Seçici olmayan sıvı besiyer içinde, seçici agar ortamında (zenginleştirme,diferansiyel), biyokimyasal ve serolojik yöntemleri uygulama, belirli immünolojik özelliklere ve nükleotid baz dizisine göre farklı yöntemler kullanılır.

Listeria monocytogenes:

Genel bakış: Listerioz ile bulaşma hayvansal veya bitkisel ürünlerle insana ulaşır. Özellikleri: Gram pozitif, Psikrotrof, Saprofit (Freitag vd., 2009), isteğe bağlı anaerob, sporları yok, peritrik flagella sayesinde hareket eder, hücreleri çubuk veya kısa zincir şeklinde, optimum sıcaklığı (30-37 °C). Düşük sıcaklıkta (>45 °C), NaCl miktarı = (> %10), pH = (5.0) ve aside dayanıklılık gösterir. Kanalizasyonlarda, toprakta, çürümüş bitkilerde, kümesli ve evcil hayvanların bağırsak ortamında da bulunur. İnsanlarda ise safra kesesinde bulunur. Tüketime hazır etler ve süt ürünleri, yumrulu sebzeler, yumurtalar ve deniz ürünlerinde *L. monocytogenes* görülmüştür. Gıda işleme ve depolama yerlerinde bulaşabilir (Milillo vd., 2012; Carpentier vd., 2011). Virülans faktörleri: *Listeria*, büyük önem taşıyan birçok virülans faktörü içerir (Fratamico vd., 2005; Camejo vd., 2011). Protein düzenleyici faktör (PrfA), Sigma B. karbon kaynakları, sıcaklık, tuz, asidik ve anaerobik ortamlar; virülans genlerinin ekspresyonunu farklı şekilde düzenlediklerinden dolayı konak için enfeksiyonun seviyesini etkiler. Gıdalarda bulunması: Listerioz ile kontamine olmuş gıdaların tüketiminden kaynaklanan salgınların vasıtasıyla, hangi gıda türü patojenlerden (çiğ besinler, iyice pişirilmemiş tavuk, süt ürünleri, dumanlanmış deniz ürünleri, et ezmesi, vb.) etkilenebileceğini bulmak mümkün olmaktadır. Hastalık semptomları: *Listeria*'nın iki ünlü hastalığı; Ateşli gastroenterit ve İnvaziv sistemik hastalığı (Camejo vd., 2011; Sleator vd., 2009). İnsanın sağlık durumuna göre belirtileri vücutta görülmektedir. Kemoterapi alan kişilerde (hamileler, fetus, vb.) kanser oluşturur. Organ nakli olanlar ve bağışıklık sistemini baskılayan ilaçlarla tedavi edilen kişilerde Listerioza karşı duyarlılık gösterirler. Listerioz, ciddi hastalıklara sahip (bağışıklık yetmezliği, kalp hastalığı vb.) olan kişilerde nispeten ölümcüldür. Azaltma yolları: *Listeria monocytogenes*'i saptamak için ticari tesislerde kontrol programları uygulanmaktadır. Üreticiye ve tüketiciye kontrol önerileri sunulmuştur; hayvansal ürünler iyice pişirilmeli, bitkisel ürünler iyice yıkanmalı, çiğ etler diğer

gıdalardan ayrı bir şekilde saklanmalı, gıda hazırlamasında kullanılan mutfak gereçleri (bıçak, kesme tahtası, vb.) yeterince yıkanmalı. Ciddi hastalıklara sahip kişilere özel öneriler verilmiştir; süt ürünlerinde uzaklaştırılması, buzdolapta bekletilmiş gıdalar iyice ısıtılması, yaşlılar/hamileler veya düşük bağışıklığa sahip olanlar lezzetli hazır yemeklerden kaçınılması gerekmektedir. Teşhis yöntemleri: Sıvı besiyer ile zenginleştirerek seçici agar (hemolitik, at kanlı agar, vb.) ortamında ekim yapma yöntemiyle incelenir. Oluşan kolonileri biyokimyasal ya da serolojik yöntemlerle test edilir. İmmünolojik özelliklere ve nükleotid asit baz dizisine göre farklı yöntemler kullanılır.

Enterococcus faecalis:

Genel bakış: *Enterococcus faecalis*, hastane enfeksiyonlarında önemli bir faktördür. *E. faecalis* ATCC 29212 klinik testler ve gıda güvenliği testlerinde standart kontrol olarak kullanılır (Kim vd., 2012). Özellikleri: Fakültatif anaerobik, gram pozitif, laktik asit bakterileri olarak bilinir, sıcaklığa dayanıklı ve antibiyotiklere dirençlidirler, genetik sıfatları çeşitli ve benzerdir (Kim vd., 2012). Virülans faktörleri: *E. faecalis* türlerinin yaklaşık %31'inde bulunan hemolizin-sitolisin geni, enterokokal yüzey proteini, sitolizin, hiyaluronidaz ve hepsini hemolitik aktiviteye sahiptir. Mikroorganizmaların kolonizasyonunda, bağışıklık sisteminin direncinde ve diğer mikroorganizmalarla rekabette yer alır. Salgı faktörlerinin üretiminden kaynaklanan hasara neden olur. Çoğunlukla endodontik tedavi gören hastalarda bulunur. Hastane çalışanlarına ve sağlıklı bireylere hızlıca bulaşır (Bonyadi ve Amini, 2022). Hastalık semptomları: İmmüno-supresyon, bakteriyemi, sepsis, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, yara enfeksiyonları, yavaş iyileşme (aşırı antibiyotik kullanımına neden olur (Bonyadi ve Amini, 2022). Enfeksiyon, mekanik debridman ve kimyasal ajanların kullanımı ile teşhis edilir (Voit vd., 2022).

Pseudomonas aeruginosa:

Genel bakış: Hastane enfeksiyonlarına neden olan temel patojenlerden biridir. Özellikleri: Fırsatçı, Gram negatif, hareketli, antibiyotığa dirençli, akut ve kronik enfeksiyonlara yol açan. Virülans faktörleri: *P. aeruginosa*'nın dört etkileşimli QS sinyalizasyon sistemi vardır. Ayrıca ince bir biyofilm oluşturma ve piyosiyanın pigmenti ve proteaz üretme yeteneğine de sahiptir. Hastalık semptomları: Bağışıklığı baskılanmış hastalarda, solunum yolu enfeksiyonlarında, idrar yolu enfeksiyonunda,

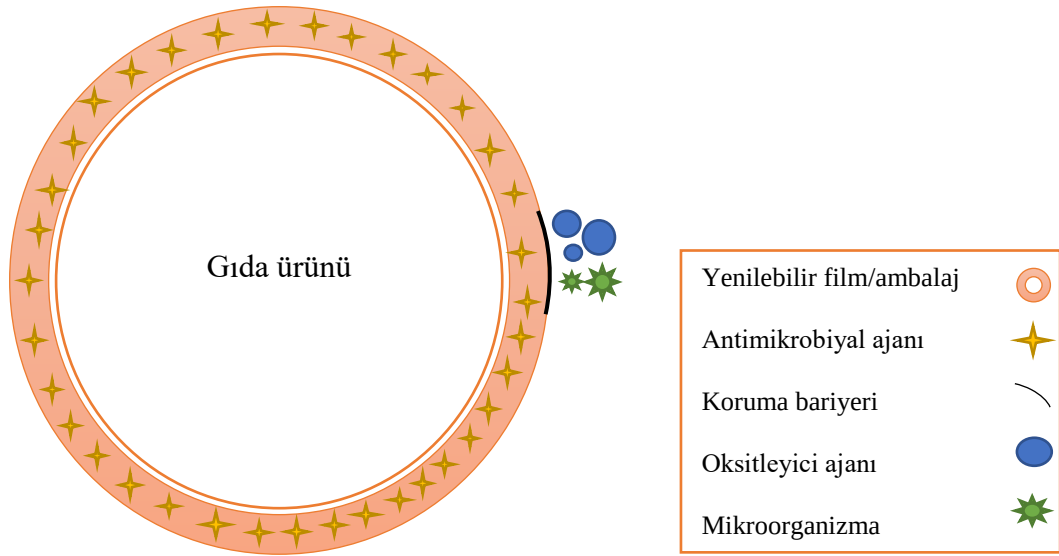
yanık enfeksiyonunda, sepsis, kistik fibrozis, osteomyelit ve endokarditte ciddi komplikasyonlara yol açar. Geleneksel yöntemleri; gelişmiş kültür, antimikrobiyal duyarlılık ve klinik testleri ile keşfedilir. Teşhis yöntemleri: *P. aeruginosa*'nın belirlenmesi için daha yüksek hassasiyet ve daha kısa tespit süresi sağlayan prosedürlere sahip otomatik sistemler geliştirilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve ELISA testlerinin kullanımı (Lim vd., 2022; Gomaa vd., 2022).

1.5. Gıda Ambalajı

Bakteriyel bozulma nedeniyle ortaya çıkan gıda kaybı, ham madde ve ürün üreticileri ve tüketiciler için ekonomik sonuçlar doğurmaktadır. Yıllar geçtikçe ve insan nüfusu arttıkça, mikrobiyal bozulmadan kaynaklanan gıda kaybı nedeniyle daha az gıda tüketimi olacaktır. Önümüzdeki üç yıl içinde dünya nüfusunun 1 milyara ulaşması beklenmektedir. Buna dayalı, açlık felaketinden kaçınmak için, gıda bozulmalarını azaltılarak tüketim için yeterli gıda üretimini artırmaya yönelik çaba gösterilmelidir (Davies, 2012).

1.5.1. Antimikrobiyal Paketleme Sistemleri:

Gıda ürünlerine aktarılan mikropların faaliyetlerini (uyum sağlama, geliştirme vb.) önleyerek tüketim güvenliğini ve ürünün raf ömrünü arttırmak amacıyla kaplama sistemi oluşturulmuştur. Ambalaj malzemelerinin üretimi sırasında polimerlere antimikrobiyal ajanlar eklenilir (Han, 2003; Lopez-Rubio vd., 2004; Véronique, 2008). Bu yöntem ticari açısından çeşitli alanlarda (ilaç ve pestisit endüstrisi, tekstil malzemeleri vb.) yaygın olarak kullanılmaktadır (Appendini vd., 2002). Mikroorganizmaların aktivitelerini engellemek için biyolojik polimerlere eklenen yaygın kullanılan ısıya dirençli bileşikler vardır (Tablo 1.2). Ancak bazı bileşikler ısıya duyarlı olduğundan dolayı diğer yöntemler (çözücü buharlaştırma yöntemi gibi) tercih edilir. Bir maddenin antimikrobiyal aktivitesi ile çözücüsü buharlaştırma yöntemiyle hazırlanan filmlerde, suda ve diğer çözücülerde çözünen doğal polimerler ideal olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal ajanın tipine (uçucu olan, uçucu olmayan, vb.) bağlı olarak ambalaj ile gıda arasındaki temas durumu (tabaka sayısı) değişir (Appendini vd., 2002). Kaplama malzemesinde dağılan antibakteriyel maddelerin salınım miktarının ve dış etkenlere karşı etkinliğinin incelenmesi önemli bir faktördür (Han, 2003) (şekil 1.3.).



Şekil 1.3. Gıda ambalajlama tekniği

Tablo 1.2. Biyolojik Polimerlerin sınıflandırması (Srinivasa vd., 2007)

Mikroorganizmaların ürettiği polimerler	Monomerlerden sentezlenen biyo-türetilmiş polimerler	Biyolojik kaynaklı polimerler
Bakteriyel selüloz Curdlan Polihidroksialkanoat (PHA)	Laktik asit> Polilaktat	> Lipidler: Çapraz bağlı trigliseritler > Hidrokolloidler: Hayvansal proteinler (kollajen) Bitkisel proteinler (gluten) Hayvansal polisakkaritler (kitin>kitosan) Bitkisel polisakkaritler (selüloz, pektin, vb.)

1.5.2. Gıda Ambalajlamada Yenilebilir Filmler:

Yenilebilir film; Antioksidanlar veya antimikrobiyal içeren ince yenilebilir bir polimer tabakasıdır. Başka bir tanımlama ile gıda ürününün gıda bozulmasına neden olan faktörlerden (nem, gaz, vb.) korunmasını sağlayan koruyucu bir bariyerdur (Bourtoom, 2008). Yenilebilir filmin yapısı, kullanılan polimerin, çözücünün, sıcaklığın ve diğer moleküllerin (plastikleştirici gibi) doğasına bağlıdır (Tharanathan vd., 2003). Yenilebilir film avantajları; bakteri kontaminasyonunu engellemek, mekaniksel bozulmalara ve ışığa karşı korumak, paketlenmiş gıdanın özelliklerini iyileştirmek (beslenme değerini yükseltmek), biyolojik olarak parçalanabilmek ve ürünün raf ömrünü uzatmak şeklinde belirtilmiştir. Biyopolimerlerden elde edilen yenilebilir filmler hızlı yırtılma özelliğine sahiptir (McHugh vd., 1994; Hong vd., 2005). Bu dezavantajın üstesinden gelmek için filme hazırlama sırasında plastikleştiriciler (gliserol vb.) eklenebilir (Dutta vd., 2009).

1.6. Kitosan

Kitosan; kitinin deasetilasyon yöntemiyle üretilen, asidik çözeltilerde çözünebilen ve doğada bol miktarda bulunabilen bir polimerik maddedir (Rinaudo 2006). Kitosan, çoğunlukla deniz canlılarının (yengeç, karides vb.) dış iskeletlerinden elde edilen bir bileşendir. Deniz ürünlerinin işlenmesinden kaynaklanan atık kabuklardan kitosan üretimi hem ekonomiye hem de çevreye katkı sağlamaktadır (Shadidi vd., 1999). Kitosan yüksek molekül ağırlığa, jel oluşturma yeteneğine, reaktif fonksiyonel grupları içermesine, invitro modifiye edilebilen olmasına (kimyasal ve enzimatik olarak), polielektrolit ve absorpsiyon olabilme özelliklerine sahip olduğundan dolayı birçok endüstriyel uygulama alanlarda kullanılmaktadır. Doğal kaynaklı, insan sağlığına dost, biyoyumluluk gösteren, farmasötik ve medikal endüstrilerinde kullanılan bir biyomoleküldür (Synowiecki vd., 2003; Tharanathan vd., 2003).

1.6.1. Kitosan'ın Gıdalarla Kullanımı:

ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından, kitosanın gıdalara güvenli bir katkı maddesi (GRAS) olduğu beyan edilmiştir. Diğer ülkelerde de kitosan, gıda ürünlerinde kalite geliştirici olarak kullanılmaktadır (Shahidi vd., 1999; Tharanathan vd., 2003; No vd., 2007). Kitosan antimikrobiyal aktivitesi sayesinde sentetik koruyucular yerine doğal gıda koruyucusu olarak kullanılmaktadır (Sagoo vd., 2002; No vd., 2007). Kitosan, gıdalardaki yağların (et ve et ürünleri) oksidasyonunu engelleme yeteneğine sahip

olduğu için bir antioksidan olarak kullanılabilir ve antioksidan etkisi ise moleküler ağırlığına göre değişir (Tharanathan vd., 2003; No vd., 2007).

1.6.2. Kitosan Antimikrobiyal Mekanizması:

İlk olarak Kitosanın pozitif yüklü molekülleri, mikrobiyal hücre zarı üzerindeki negatif yüklü moleküller ile etkileşerek hücreye girer ve zarın geçirgenlik aktivitesinin bozulmasına neden olur. Kitosan seçici olduğu için ipucu elementlerle bağlanır ve hücre içinde bir antitoksin etkisi gösteren bir şelat oluşturur. Zarda bulunan koruma mekanizmalarını etkinleştirir, mikrobiyal hücrenin içindeki DNA'ya bağlanır onu inaktive eder (Torlak, 2009). Kitosanın antibakteriyel aktivitesi ile antifungal aktivitesi karşılaştırıldığında, antibakteriyel aktivitesi daha etkilidir (Tsai vd., 2002). Kitosanın etkinliği üzerine yapılan araştırmalara göre, kitosanın hazırlanmasına farklı organik asitlerin eklenmesi, antimikrobiyal aktivitesinin artmasına yardımcı olmuş ve farklı bakteri türlerine karşı daha dirençli olmuştur (No vd., 2002). Kitosan gıda bileşikleri (protein, yağ, vb.) ile etkileşime girme kabiliyeti nedeniyle, güçlü antimikrobiyal aktivite sergileyebilir. Kitosanın in-vitro olarak değerlendirilen antibakteriyel sonuçları, gıda endüstrisinde kullanımını son derece önemli hale getirmektedir (Torlak, 2009).

1.6.3. Kitosan Filmlerin Özellikleri:

Wiles vd., (2000)'nin araştırmasına göre, ilk kitosan filmi 1936'da ABD'de üretilmiştir. Kitosan filminin genel özellikleri; Renksiz, şeffaf, esnek, dayanıklı ve çekme direncine sahiptir (Şekil 1.4.). Kitosan filminin hazırlanması, çözücünün buharlaştırılması yöntemine dayanmaktadır. Belirli koşullar altında, sulu bir çözelti içinde ve çeşitli organik asitlerle çözülen kitosan, petri kaplarına dökülerek kurumaya bırakılır (Torlak, 2009). Kitosan filmlerinin mekanik özellikleri, eklenen plastikleştirici, asitlerin farklı türleri ve miktarlarına göre değişir (Bégin vd., 1999). Kitosan filmlere istenilen esnekliği kazandırmak için en uygun plastikleştiriciler olan gliserol ve etilen glikol kullanılması tercih edilir (Suyatma vd., 2005). Nunthanid vd., (2001); kitosan filmlerinin mekanik özelliklerine etki eden faktörler olarak deasetilasyon derecesi ve moleküler ağırlığı olarak bildirilmiştir. Ayrıca, kitosanın moleküler ağırlığı arttıkça filmlerin çekme mukavemeti, elastikiyet oranı ve nem absorpsiyonunun arttığı belirtilmiştir.



Şekil 1.4. Yenilebilir Kitosan Filmi

BÖLÜM II

LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Antep Fıstığı Kabuğunun Biyoaktiviteleri

Antep fıstığı kabuğu üzerine yapılan önceki araştırmalarda, Antep fıstığı kabuğunun yalnızca biyolojik aktivitelere değil, aynı zamanda aktif bileşiklerine de odaklanmıştır. Barreca vd., 2016 çalışmalarında iki farklı tür Antep fıstığı kabuğundan 20 farklı fenolik bileşik tespit etmişlerdir. Antep fıstığı kabuğu özütünü çıkarmak için bir çözücü (metanol ve etanol) kullanmışlardır. Metanollü özüt en yüksek fenolik içeriğe sahiptir. Ayrıca, yağların ve proteinlerin bozulmasına karşı Antep fıstığı kabuğun ekstraktının lenfositler üzerindeki etkinliğini vurgulamışlardır. Bu nedenle Antep fıstığı kabuğunu kozmetik, gıda ve ilaç endüstrilerinde anti-oksidatif stres olarak kullanımına yer verilmesi önerilmişlerdir.

Grace vd., 2016 yılında *P. vera* meyvesindeki kimyasal bileşikler hakkında niteliksel ve niceliksel bir çalışma yapmışlardır. Antep fıstığı kabuğunun ve çekirdeğin her bir ekstraktında iki ana bileşiğin (Heksozit epikateşin ve Kuersetin glikozitin) var olduğunu belirtmişlerdir. Polar ve polar-olmayan ekstraktlarının fenolik bileşiklerin sayısında ve antioksidan aktivitesinde belirgin farklılıklar bulmuşlardır. Grace'nin çalışma sonuçlarında, Antep fıstığı kabuğun ve çekirdeğin özlemindeki lipolitik ve anti inflamatuvar aktiviteleri Tomaino vd., 2010 ve Gezici, 2019 tarafından yapılan çalışmalarda bildirilen sonuçlarla uyumludur. Antep fıstığı kabuğundaki Kuersetin, *E. Coli*'deki nükleik asidin süper sarma aktivitesini önlemek için Gyrase enzimiyle etkileşime girebilmektedir (Plaper vd., 2003).

Antep fıstığı meyvesinin yüksek besin değeri vardır. Antep fıstığı benzersiz bileşenleriyle insan sağlığına pek çok faydası olduğu bilinmektedir. Son yıllarda Antep fıstığı çekirdeği, antioksidan ve fenolik bileşikleri en yüksek miktarda içeren 50 besin kaynağından biri olarak sınıflandırılmıştır. Buna göre Antep fıstığı ağacının

en önemli unsuru çekirdektir. Çekirdeği de farklı şekillerde (çiğ/kavrulmuş) tüketilebilir. *P. vera*'nın çekirdeği, doymamış yağ asitleri, yağ ürünler, proteinler, karbonhidratlar ve çeşitli bileşikler (magnezyum, demir vb.) içermektedir. Antep fıstığı çekirdeğinin lezzetli tadını ve değerli besin içeriği nedeniyle farklı endüstrilerde kullanılmaktadır (El Bairy vd., 2016). Alma vd., (2004) Antep fıstığı reçinesindeki uçucu yağlarını analiz edilirken sentetik maddeden (Nistatin) daha güçlü antifungal aktiviteye sahip olduğu keşfedilmiştir. Antep fıstığı meyveleri diyetle düzenli bir şekilde dahil edilmesinde, kardiyovasküler sağlığı ve glisemik parametreleri iyileştirmek, iskelet ve kas yorgunluğunu azaltmak gibi birçok sağlık için faydası vardır (Kasliwal vd, 2015; Khatami vd., 2018). Antep fıstığı meyvelerinde bulunan karotenoidler ve fenolik bileşikler, kardiyovasküler sağlığa fayda sağlayan yağda ve suda çözünebilir antioksidanlar içermektedir. Antep fıstığı meyvesi tüketiminde, kalp krizi riskini azaltma, kardiyovasküler sağlığı koruma, total kolesterolü, antidiyabetik ve düşük yoğunluklu lipoprotein hastalığını destekleme özelliklerine sahiptir. Eskiden Antep fıstığı meyvesi; mide ağrısını, ishali ve hemoroidi iyileştirmek için alternatif bir tedavi olarak kullanılmıştır (Derher, 2012; Seifaddinipour vd., 2018). Günümüzde ise gıda, ilaç, kozmetik ve kimya endüstrileri dahil birçok alanda kullanılmaktadır (Erşan vd., 2018).

Özçelik vd., (2005) tarafından Antep fıstığı kabuğu Soxhlet cihazı kullanılarak n-hekzan solüsyonu ile ekstrakte edilmiştir. Kabuğun antibakteriyel aktivitesi, farklı bakteri suşlarına (*S. aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 vb.) karşı mikroseyltme yöntemi ile denenmiştir. 128-256 µg/ml konsantrasyonunda hazırlanan ekstraktın aktivitesinin düşük olduğu bulunmuştur.

Rajaei vd., (2010) ham ve saflaştırılmış Antep fıstığı ekstraktlarının Gram pozitif, Gram negatif ve Mantarlara karşı (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans*, vb.) antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmiştir. Gram pozitif bakterileri diğer mikroorganizmalardan daha fazla Antep fıstığı ekstraktına duyarlılık göstermiştir. Örneğin, *S. aureus* bakterinin üremesinde inhibisyon zonu gözlenmiştir.

Elhadeb vd., (2021) tarafından hekzan ve su ile ekstrakte edilen Antep fıstığı kabuğu numunelerinin antibakteriyel aktivite çalışması Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı yapılmıştır. *P. vera*'nın dış kabuğunun *S. aureus*'a karşı hekzan (12.25 ± 0.66 mm inhibisyon zonu) ve su (14.25 ± 0.65 mm inhibisyon zonu)

ekstraktları, *L. monocytogenes*'e karşı heksan (10.25 ± 0.51 mm inhibisyon zonu) ve su (14.23 ± 0.72 mm inhibisyon zonu) ekstraktları ile antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Gram negatif bakteriler ile yapılan çalışmada, *E. coli*'ye karşı heksan (10.00 ± 0.32 mm inhibisyon zonu) ve su (13.00 ± 0.51 mm inhibisyon zonu) ekstraktları, *P. aeruginosa*'ya karşı heksan (10.50 ± 0.24 mm inhibisyon zonu) ve su (14.00 ± 0.41 mm inhibisyon zonu) ekstraktları ile antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Antep fıstığı kabuğu, endüstriyel koruyucular (EDTA, BHA, BHT) yerine gıda endüstrisinde koruyucu olarak güvenilen biyoaktif bileşikler içermektedir. Bu bileşikler, ürünlerdeki hassas malzemelerin bozulmasını geciktirmektedir (Rafiee vd., 2017). Antep fıstığı kabuğunun fenolik bileşiklerine nanolipozomların eklenmesi, uzun süreli depolamada antioksidan performansın en üst düzeye çıkarılmasına yardımcı olmuştur (Rafiee vd., 2018; Roostaei vd., 2017).

Biyoaktif bileşiklerin ürün koruyucu olarak kullanılmasını engelleyen bazı faktörler vardır. En sık görülen engelleyici faktörlerden; düşük çözünürlük, stabilite eksikliği, bileşiğin bulunmaması, bileşiğin diğer bileşenlerle reaksiyona girme ve hoş olmayan bir tat verme olasılığı. Biyoaktif bileşiklerin paketleme yöntemini kullanarak, gıda endüstrisinde ortaya çıkan kusurların üstesinden gelme potansiyeline çözümler sunabilmektedir (Fang vd., 2010; Rafiee vd., 2018).

Taghizadeh vd., (2018b) Antep fıstığı yağının en düşük konsantrasyonu ile bazı mikrobiyal suşların (örneğin; *S. aureus*, *E. coli*, *P.aeruginosa*, vb.) üzerinde inhibitör etkisiyle ilgili bir araştırma yapmışlardır. *S. aureus* ise yüksek duyarlılık göstermiştir.

Shakeri vd., (2018) Antep fıstığı kabuklarının hayvan yemlerinde gıda katkı maddesi olarak kullanılması rumen mayalarının aktivitesini iyileştirdiği ve çevre kirliliğini azaltmada olumlu etkisi olduğunu bildirmiştir.

2.2. Kitosan İçeren Filmler

Kitosan, medikal ve ilaç endüstrilerinde, onu önemli kılan birçok özelliğe sahiptir: Biyolojik olarak bozunabilirliği, toksik olmaması, antimikrobiyal aktivitesi, biyoyumumluluğu ve doğal bir şekilde bulunması (Akıncıbay vd., 2007). Kitosan, yara örtüleri, kolesterol düşürücü ve hemostatik faktörler gibi birçok tıbbi uygulamada kullanılmaktadır (Singla vd., 2001; Rabea vd., 2003) Kitosan, kanamayı durdurma

kabiliyeti ve biyoyumluluğu nedeniyle ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından yara pansuman malzemesi olarak onaylanmıştır (Wedmore vd., 2006).

Tokatlı vd., (2015)'nın tarafından yapılan çalışma sonucunda kitosanın yenilebilir film olarak kullanımının antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri sayesinde gıdanın kalitesinin artırılmasında ve ürünün raf ömrünün uzatılmasında üstünlük sağlayacağı belirtilmiştir.

Önceki çalışmalarda da bitkilerin uçucu yağları veya fenolik bileşikler gibi çeşitli doğal bileşenlerinin, kitosan bazlı filmlerine eklenmesi sonucu elde edilen kitosan filmlerin fizikokimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerini geliştirdiği açıklanmıştır (Yadav vd., 2020). Kitosan filmlere eklenen Etil pirüvatın antifungal etkisinden yararlanarak küf ve maya bozulmalarına karşı hassas gıda ürünleri için aktif ambalaj veya petrol türevlerin yerine alternatif ambalaj malzemesi üretmek için kullanılabileceği saptanmıştır (Kaya vd., 2021).

Cazón vd., (2021)'nin tarafından yapılan bir çalışmada çay ağacın uçucu yağları kitosan filmin hazırlamasında kullanmışlardır. Bu uygulama kitosan filminin deformasyon özelliklerini iyileştirmiştir ve güçlü antioksidan kapasiteye sahip filmler oluşturmuştur. Termal özelliklerine göre çay ağacı uçucu yağı içeren kitosan filmlerinin ısıl gıda tedavileri uygunluğunu göstermiştir.

Kitosan, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* ve *E. faecalis* gibi çeşitli oral mikroorganizmalara karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Supotngarmkul vd., 2020).

Oregano yağı içeren kitosan filmler, işlenmiş etlerdeki patojenleri kontrol etmek için aktif bileşenler olarak kullanıldı. Oregano yağı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlendi ve kitosana %1 ve %2 konsantrasyonlarında eklendi. Saf kitosan filminin uygulanması, *L.monocytogenes* ve *E.coli*O157:H7 bakterileri et ürününe (Paulownia) 1 ila 3 log arasında azalttı. Özütü içeren filmler ise 4 log'e kadar azalttı (Zivanovic vd., 2005).

Barrera-Ruiz vd., (2020); Schinus molle yağı, kekik yağı, tarçın yağı, saf kitosan ve yağların içeren kitosan nanoparçacıkları ile bir araştırma yapmışlardır. Deney *Enterococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* ve *P.aeruginosa* bakteriler üzerine antibakteriyel aktiviteleri test edildiğinde özütlü kitosan nanoparçacıkları saf

kitosandan ve yağlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Saf kitosan, Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterirken yağları içeren kitosan nanoparçacıklar tüm bakterilere karşı etki göstermiştir. Bu sonuçlar, yağ içeren kitosan nanoparçacıklarının gıda endüstrisinde antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilir.

Nadira vd., (2022) tarafından yapılan bir araştırmada, Kaju yaprağı ekstraktının karboksimetil kitosan (KMK) filmlerinin fiziksel, kimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerine etkisinin araştırılması hedeflenmiştir. KMK aktif filmleri, farklı konsantrasyonlarda (%5, 10, 15 ve 20) Kaju yaprağı özütü eklenerek hazırlanmıştır. Filmlerin nem içerikleri ve suda çözünürlükleri belirlenmiş ve artan yaprak ekstraktı miktarı ile değerlerin düştüğü tespit edilmiştir.

İncir bitkisinin (*Ficus carica Linn*) yapraklarının düşük maliyet, kolay erişim ve süper anyon radikal süpürücü aktivite gibi avantajları vardır. İncir yaprak özü kitosan filmine eklenerek farklı konsantrasyonlarda (%2, %4, %6 w/v) hazırlandı. Elde edilen sonuçlara göre; Filmlerin suda çözünürlüğü, incir yaprağı ekstresi konsantrasyonlarındaki artışla orantılı olarak önemli ölçüde azaldı ($p < 0.05$). Bu sonuç, kitosan zincirleri ve incir yaprağı ekstresi arasındaki artan etkileşime bağlanmaktadır. Bu durum, kitosan zincirlerinin suya bağlanmasında bir azalmaya yol açmıştır. İncir yaprağı ekstraktının dahil edilmesinin, kitosan filmlerin suya karşı direncini arttırdığı ifade edilmiştir (Yılmaz vd., 2022).

BÖLÜM III

MATERYALLER VE METOTLAR

3.1. Materyaller

Antep fıstığı meyveleri 2021 yılının Eylül ayında Türkiye/Gaziantep Oğuzeli bölgesinden toplandı. Olgun kırmızı kabukları ayrılarak gölgede açık havada tamamen kurumaya bırakıldı. Bundan sonra kurutulmuş kabuklar çekilip toz haline getirildi. Uygun depolama şartları altında dolapta saklandı (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.) kabuğun halleri

Gram pozitif bakteriler (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Clostridium difficile*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus* sp. ve *Enterococcus faecalis* ATCC29212) ve Gram negatif bakteriler (*E. coli* type 1, *E. coli* ATCC25922, *Salmonella* sp. ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853) antibakteriyel aktivite testlerinde kullanılmıştır. Bu bakterilerin stok solüsyonları %20 gliserol içeren besiyerinde -20° C’de muhafaza edilmiştir.

3.2. Kimyasallar

Antep fıstığının antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri incelemek için Biyoteknoloji laboratuvarından sağlanan kimyasallardan faydalandı. Kullanılan kimyasallar Gallik asit, Asetik asit, Sodyum karbonat, Folin Ciocalteu reaktifi, BHT (Butylated Hydroxi Toluen), DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), çözücüler ise; Distile su, Metanol, DMSO (Dimetil sülfoksit) içermektedir. Kitosan, Gliserol, NA (Nutrient agar), MHA (Mueller–Hinton agar), NB (Nutrient broth agar).

3.3. Metotlar

3.3.1. Ekstrakt Hazırlaması:

Çözücü ekstraksiyon yöntemiyle kurutulmuş toz kabuklar, Soxhlet cihazı kullanılarak metanol ile ekstrakte edildi (Şekil 3.2.). Daha sonra elde edilen ekstraktın küçük partiküllerinden uzaklaştırmak için filtre kağıdından süzüldü. Geri kalan çözücü döner buharlaştırıcı (Rotary evaporator) yardımıyla indirgenmiş basınç altında buharlaştırıldı ve konsantre formuna getirildi. Son olarak, konsantre ekstraktlar, deneyin başlangıcına kadar 4°C sıcaklıkta buzdolabında saklandı.



Şekil 3.2. Soxhlet ile metanolde hazırlanan Antep fıstığı kabuğunun konsantre özütü

3.3.2. Antioksidan Aktivite Deneyi:

Tüm Antep fıstığı kabuğu ekstraktlarının antioksidan özellikleri, DPPH testi kullanılarak radikal süpürme kabiliyeti ölçülerek araştırıldı (Wang vd., 2009). DPPH stok ve BHT (Butylated Hydroxi Toluen) stok solüsyonları metanol içinde

hazırlandı. BHT seri dilüsyonu yapmak için üç tekrarlı beş farklı konsantrasyon hazırlandı. Bundan sonra her BHT konsantrasyonundan (100 µl) alındı ve BHT'nin nihai konsantrasyonlarını elde etmek için seyreltilmiş DPPH'den (3.9 ml) ilave edildi. Blank hazırlanırken (100 µl) metanol'den ve (3.9 ml) DPPH'den eklendi. Deneyin ilk adımını metanol ile dilüe edilen stok DPPH (1:10) ve stok ekstraktı (1:10) kullanıldı. Seri dilüsyon yöntemi ile 5 farklı konsantrasyonda 3 tekrarlı numune hazırlandı. Pipetaj yapıldıktan sonra test tüpleri oda sıcaklığında ve karanlıkta 40 dk bekletildi. Sonra abosrbans değerleri 516 nm dalga boyuya sahip olan spektrofotometrede okutuldu (Şekil 4.1.). IC50; yarı maksimal inhibitör konsantrasyonun değeri bulundu.

Kalan DPPH serbest radikalinin (DPPH_R %) aşağıdaki denkleme göre (3.1.) yüzdesi hesaplandı.

$$[(DPPH)_R\% = (DPPH)_T / (DPPH)_{T0} * 100] \quad (3.1.)$$

T0: (zaman = 0) anında ölçülen blankların absorbansı, T: iki saatlik inkübasyondan sonra numunenin absorbansı

Daha sonra inhibisyon yüzdesi denkleme göre (3.2.) hesaplandı.

$$[İnhibisyon \% = 100 - (DPPH)_R \%\] \quad (3.2.)$$

3.3.3. Total Fenolik Bileşikleri:

Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.) kabuğunun metanol ekstraktlarındaki fenolik bileşiklerin konsantrasyonu Folin–Ciocalteu (F.C.) yöntemine göre belirlendi (Singh vd., 2002). İlk olarak, destile su ile seyreltilen F.C. reaktifi (1:10) hazırlandı. Sonra 10% oranında doymuş olan Na₂CO₃ hazırlandı. Stok Antep fıstığı kabuğu metanol özütü (1 mg/ml) metanol içinde hazırlandı. Deney seri dilüsyon yöntemi kullanılarak altı farklı konsantrasyonla üç tekrarlı yapıldı (Şekil 4.2.).

Gallik Asit Deneyin Uygulaması:

- Blank için 200 µl çözücü (metanol) konuldu.
- 15'lik tüp içinde en yüksek konsantreye sahip 1. tüp içinde (200µl Gallik asit, 1000µl F.C. ve 800µl Na₂CO₃) bulunur.

- 1. tüp hariç diğer 4 tüpe 200'er µl metanol eklendi.
- 1. tüpten 200'er µl çekilip 2. tüpe eklendi. Pipetaj yapılarak seri dilüsyonu yapıldı.
- Tüpler üzerine 1000 µl F.C. eklenerek 8 dakika karanlıkta bekletildi. Bundan sonra 800µl doymuş Na₂CO₃ ilave edilip vortexlenme yapıldı.
- Tüpler oda sıcaklığında dolap içinde saklandı, iki saat sonra sonuçları okundu.

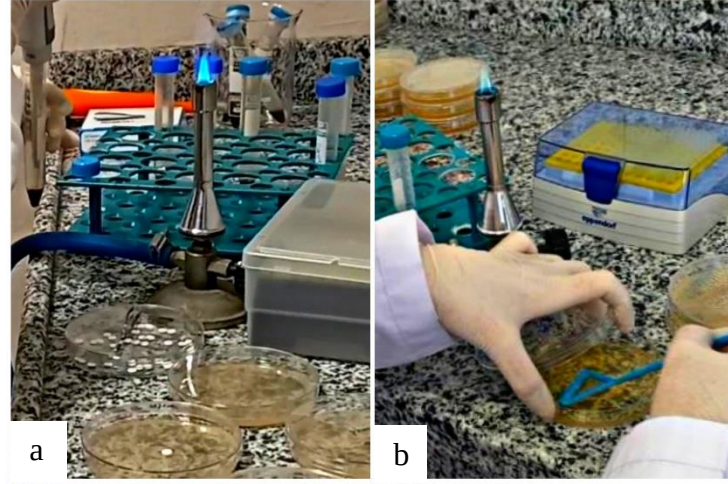
P. vera Kabuğun Metanol Özütü ile Deneyin Uygulaması:

- 1 mg/ml konsantrasyon kullanıldı. Üç tekrarlı yapıldı.
- 200 µl özüt konuldu. Üzerine 1 ml F.C. eklendi. 8 dk karanlıkta bekletildi.
- 800µl doymuş Na₂CO₃ ilave edilip vortexlendi.
- Tüpler oda sıcaklığında karanlıkta 2 saat bekletildi. Sonuçları okutuldu.

3.3.4. Antibakteriyal Aktivite Deneyi:

Disk Difüzyon Yöntemi:

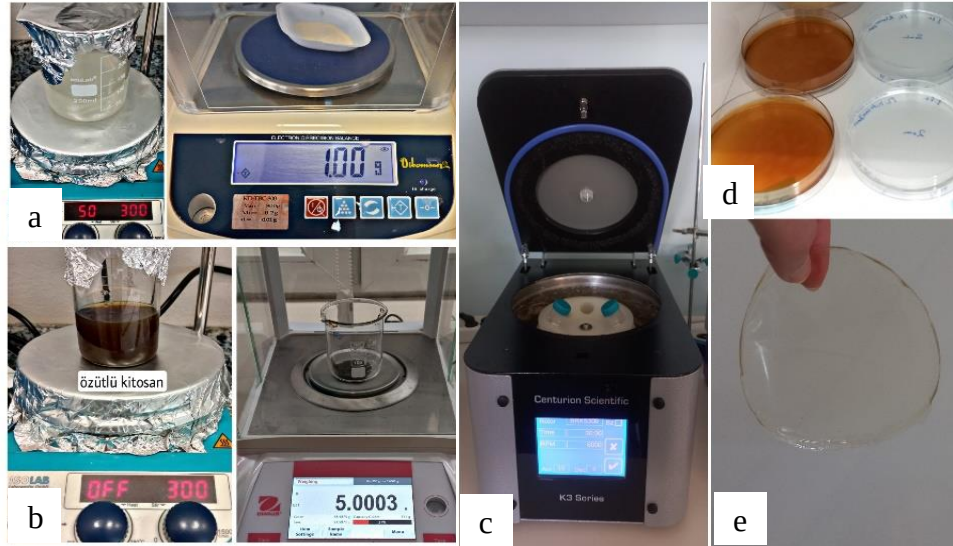
Deneyde kullanılan Antep fıstığı ekstraktı hazırlamak için; 0.5 gr kurutulmuş metanollü özüt 1.000 µL Dimetil-Sülfoksit (DMSO) çözücü içinde iyice çözüldü. Bakteri kültürü Nutrient Broth (NB) besiyerinde seyreltildi. İki Spektrofotometre küveti kullanılarak birine bakteri inokulumu diğerine saf NB alındı. 0,5 Mcfarland bulanıklığına eşdeğerde dilüe edildi. Bulanıklığı ve sayısı standartlaştırılarak ayarlandı. Steril kabinde/Ateş başında bakteri süspansiyonundan 100 µl alınarak Muller Hinton Agar (MHA) besiyerinin üzerine damlatılıp özeyle dağıtıldı. Bakteri inokulumu yayılmış olan petrinin içine 5 mm çapındaki steril diskler aralarında eşit mesafe bırakılarak yerleştirildi. DMSO içinde çözülen Antep fıstığı özütünden 20 µl çekilip steril disk üstüne damlatıldı. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları Etüv cihazına yerleştirilerek bakteriyel gelişme koşulları (37°C, 24 saat) sağlandı. İnkübasyon süresi biter bitmez oluşan inhibisyon zonun ölçümleri alındı. Son olarak, bakterinin dirençli ya da duyarlı olup olmadığını sonucuna varılabildi. Her örnekten üç tekrar halinde yapıldı ve sonuçların ortalaması ve standart sapması hesaplandı (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Disk difüzyon yöntemin aşamaları. a: steril diskler yerleştirme ve özütü damlatma işlemi, b: agar üzerine bakteri yayma işlemi.

3.3.5. Kitosan Filmi Hazırlama Protokolü ve Antibakteriyel Aktivitesi:

Manyetik karıştırıcı yardımıyla kontrol kitosan film oluşturmak için; kitosan (1:100 w/v) %1 oranında asitik asit içeren distile suda çözüldü. Santrifüjlendikten sonra 1ml gliserol eklenip 20 dk karıştırıcıya bırakıldı. 20'şer ml olarak petri kaplarına döküldü (Şekil 3.4.). Kurumaya bırakıldı. Kitosan filmler sırasıyla %8 w/v, %4 w/v, %2 w/v Antep fıstığı kabuğu metanol özütü içerecek şekilde hazırlandı. Deneyin kontrolü için ise Antep fıstığı kabuğu metanol özütü içermeyen saf kitosan hazırlandı. Kuruyan her kitosan film örneğinden kesilen 6 mm çapındaki diskler Ultraviyole ışık altında steril edildi. 0,5 Mcfarland bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonundan 100 µl alınarak Muller Hinton Agar (MHA) besiyerinin üzerinde damlatılıp drigalski özesi ile dağıtıldı. Bakteri inokulumu yayılmış olan her bir petrinin içine aralarında eşit mesafe bırakılarak disk şeklinde hazırlanan kitosan film örnekleri yerleştirildi. Bu şekilde hazırlanan petriler etüv cihazına yerleştirilerek bakteriyel gelişme koşulları (37°C, 24 saat) sağlandı. İnkübasyon süresi sonunda inhibisyon zon oluşumu incelendi. Her örnek üç tekrar halinde yapıldı ve sonuçların ortalaması ve standart sapması hesaplandı.



Şekil 3.4. Kitosan filmi hazırlama aşamaları. a) saf kitosan hazırlaması, b) *P.vera*'nın metanol özütü ile kitosan hazırlanması, c) Kitosanın santrifüjlemesi, d) Kitosan kurutma süreci, e) elde edilen kitosan filmi

3.3.6. Kitosan Filmlerin Antioksidan Aktivitesi:

2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal temizleme yöntemi uygulanarak kitosan filmlerin antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. DPPH'nin stok çözeltisi metanol ile hazırlanıp karanlıkta bırakıldı. Kitosan filmlerin her örneğinden 0.5 gr alınıp 20 ml metanol içeren falkon tüplere konuldu. 24 saat çalkalayıcı yardımıyla çözülmeye bırakıldı. 15'lik falkonları kullanarak kitosan filmlerin solüsyonundan 100 µl eklenip üzerine 3.9 ml DPPH solüsyonuyla tamamlandı (Şekil 3.5.). Karanlıkta 1 saat bırakıldı. Her örnek için absorbans değeri 516 nm dalga boyunda spektrofotometre tarafından okutuldu. Deney üç tekrarlı yapıldı.

3.3.7. Kitosan Filmlerin Nem İçeriği ve Suda Çözünürlük Testi:

6 mm çapındaki kesilen kitosan filmleri etüve bırakılmadan önce tartıları alındı. Her konsantre için 6 tekrar yapıldı. 24 saat, 105°C bırakıldı. Çıkarıldıktan sonra tartıları yine alındı. %nem içeriği denkleme göre (3.3.) hesaplandı (Şekil 3.6.)

$$[\% \text{nem içeriği} = M_0 - M / M_0 * 100] \quad (3.3.)$$

M₀: Disklerin ilk ağırlığı, M: Kurutmadan sonra ilk ağırlığı

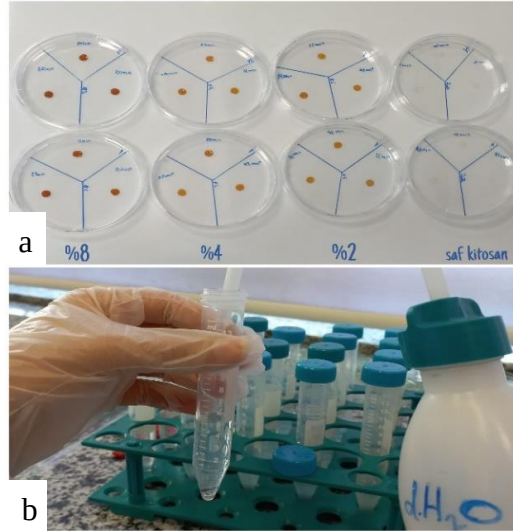
Film diskleri alınıp 15'lik falkonlara dağıtarak 5ml destile su ile karıştırıldı. 1 saat 25°C de shakerde çalkalandı. Bundan sonra film diskleri tekrar etüvde 24 saat, 105°C kurumaya bırakıldı. Çıkarıldıktan sonra ağırlığı alındı. Suda çözünmeyen kuru film diskleri %çözünürlüğü denkleme göre (3.4.) hesaplandı (Kaya vd., 2021).

$$[\% \text{ suda çözünürlük} = S_0 - S / S_0 * 100] \quad (3.4.)$$

S₀: Kurutmadan sonra ilk ağırlığı, S: Suda çözünmeyen film disklerin ağırlığı



Şekil 3.5. Kitosan filmlerin antioksidan testi

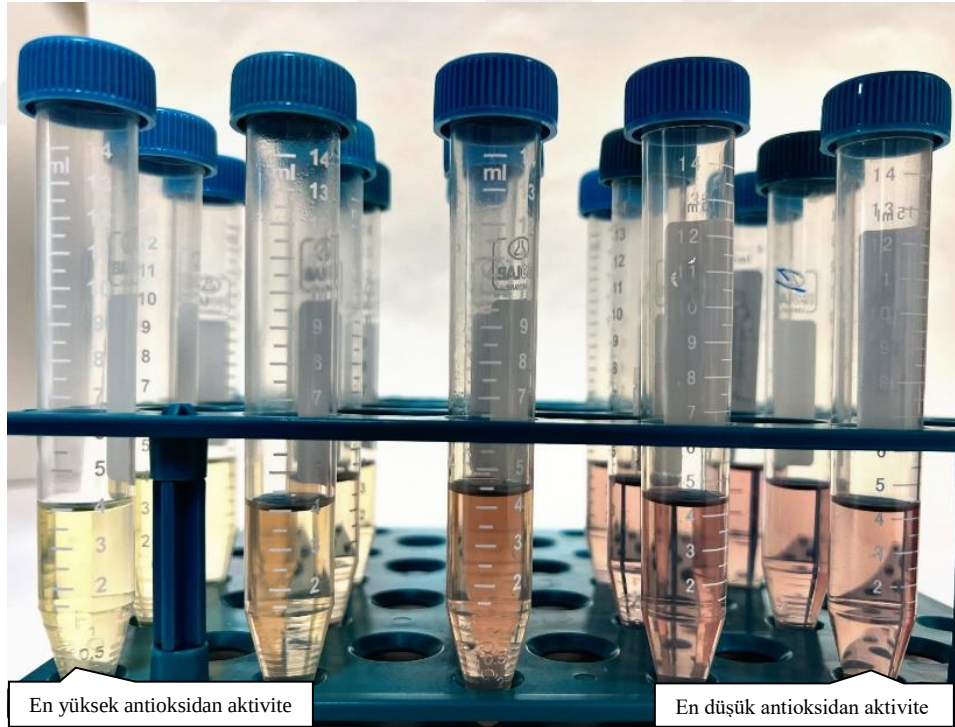


Şekil 3.6. Filmin nem ve suda çözünürlük deneyin aşamaları. a) kitosan film diskleri kurutma aşaması, b) distile suda bırakılan film diskleri

BÖLÜM IV BULGULAR

4.1. *P.vera* Özütünün Antioksidan Aktivitesi

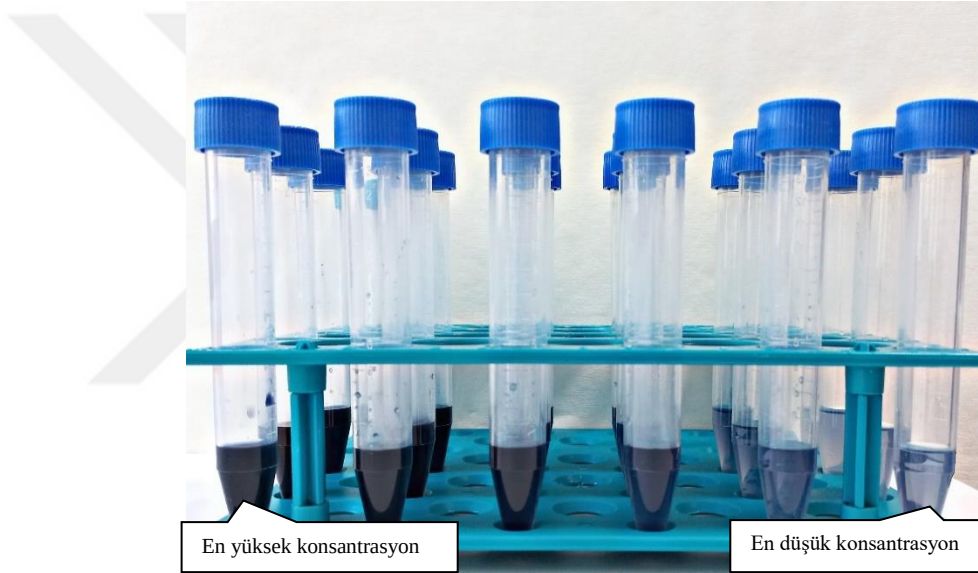
Antep fıstığı kabuğu metanol özütünün antioksidan potansiyeli DPPH testi ile değerlendirildi. Antep fıstığı kabuğu özütünün antioksidan aktivitesinin sonucu DPPH testine dayalı olarak, farklı konsantrasyonlardaki özüt için olan % DPPH inhibisyonu değerleri kullanılarak “%serbest radikal inhibisyonu- özüt konsantrasyonu” eğrisi oluşturup özüt için IC₅₀ değeri hesaplanmıştır. Elde edilen doğrunun denkleminde ($R^2 = 0,9643$). DPPH’nin %50’sinin inhibe eden değeri olan IC₅₀ değeri 2.80 µg/ml olarak bulundu (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. *P. vera* kabuğu özütünün antioksidan aktivitesi

4.2. *P. vera* Özütünün Total Fenolik Bileşikleri

Antep fıstığı özütündeki fenolik bileşikleri incelemek için F.C. yöntemi kullanıldı. Metanol ekstraktı 1 mg/ml konsantrasyonunda hazırlandı. Deneyde kullanılan standart Gallik Asit numunelerin absorbansı 765 nm’de ölçüldü. Çalıştığımız protokole göre, Gallik asit kalibrasyon eğrisi oluşturularak doğrunun denklemi ($R^2=0,9985$, $n=3$) kullanıldı. Bu kalibrasyon eğrisinden yararlanarak özütteki Gallik asit eş değeri (mg GAE/ g kuru ağırlık) olarak total fenolik madde miktarı bulunmuştur. Buna göre Antep fıstığı kabuğunun ekstraktında total fenolik bileşiklerin değeri $24,3 \pm 0,15$ mg GAE/ g kuru özüt ağırlığı olarak tespit edildi (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Antep fıstığı kabuğundaki total fenolik bileşiklerin testi

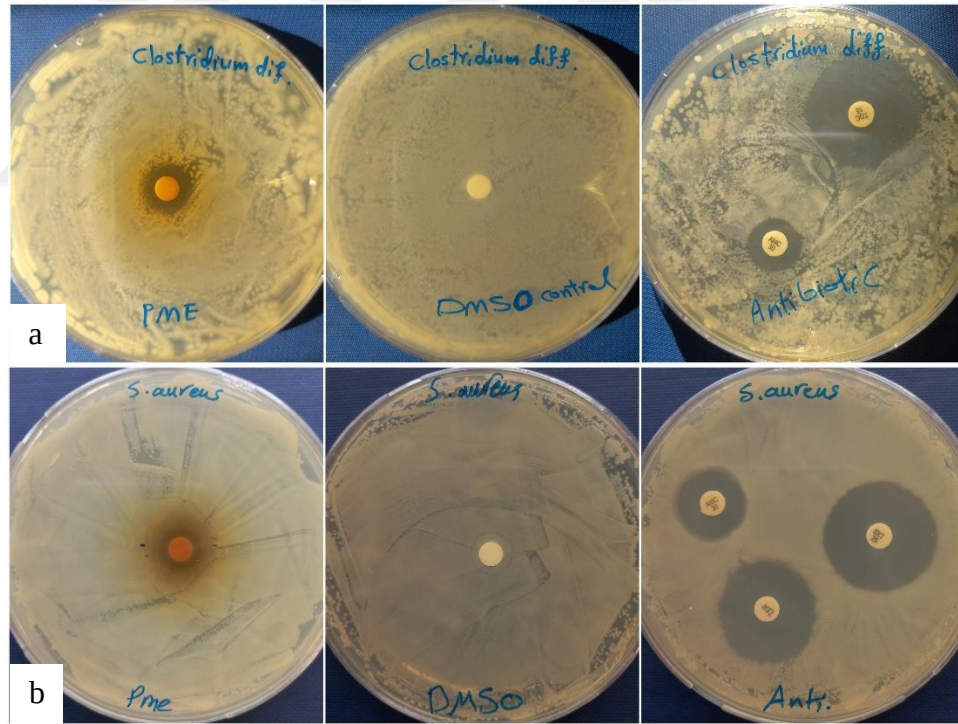
4.3. *P. vera* Özütünün Antibakteriyel Aktivitesi

Antep fıstığı dış kabuğunun metanolde hazırlanan konsantre ekstraktının antibakteriyel aktiviteleri Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde test edildi. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.1.’de verildi. *P. vera* kabuğu metanol ekstraktı tüm bakterilerin gelişimini farklı oranlarda engellemiştir. En yüksek inhibisyon zonunu 19 ± 1 mm ile *L. monocytogenes* üzerinde, en düşük aktiviteyi ise *Enterococcus faecalis* ATCC29212’ye karşı 9 ± 1 mm olan inhibisyon zonu ile göstermiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC25923 (10 ± 0) ve *P. aeruginosa*

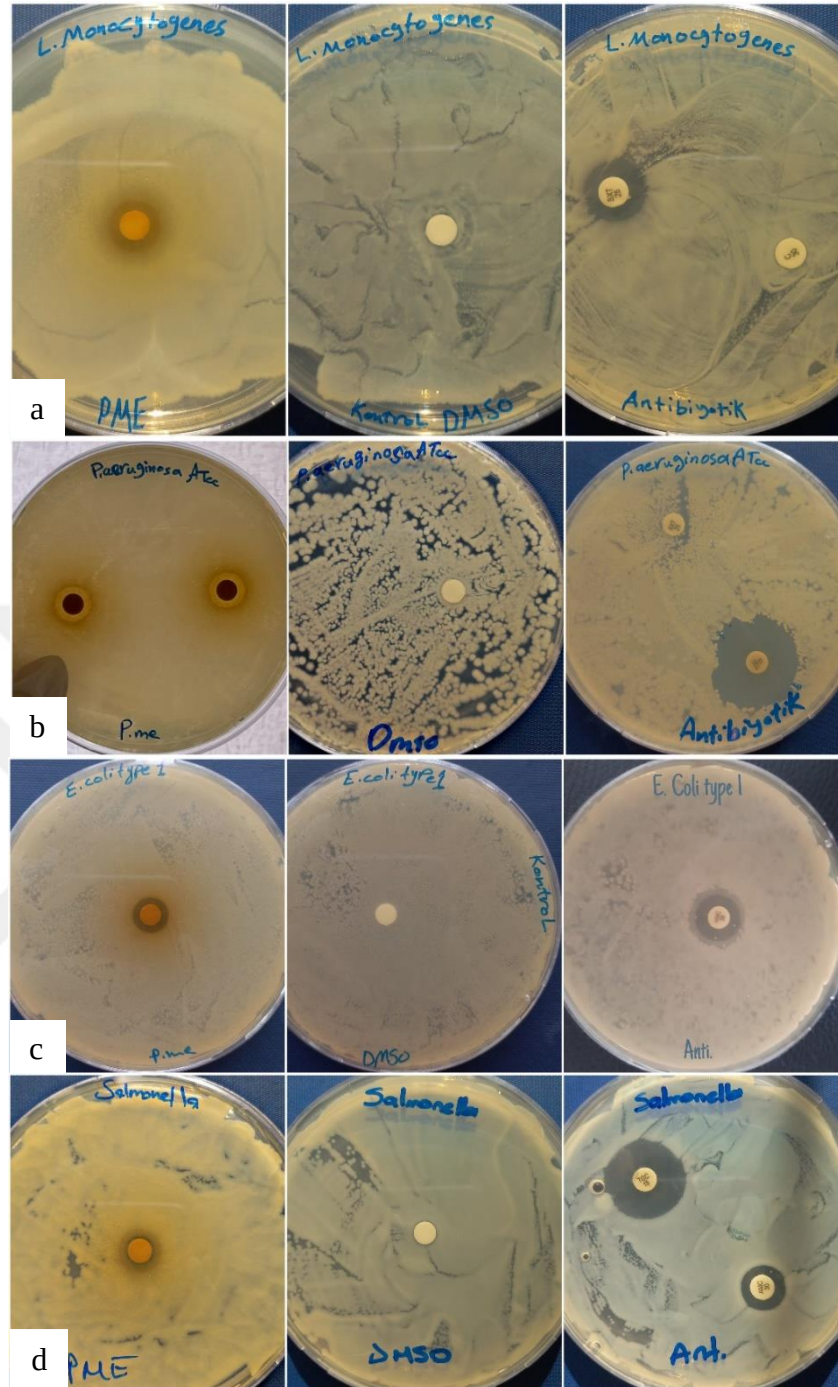
ATCC27853 (11.67 ± 1.15) üzerinde özüt inhibisyon zonu göstermiştir (Tablo 4.1., Şekil 4.3., Şekil 4.4., Şekil 4.5.).

Dimetil Sülfoksit (DMSO) kontrolünün bütün mikroorganizmalarda antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir (Tablo 4.1., Şekil 4.3., Şekil 4.4.).

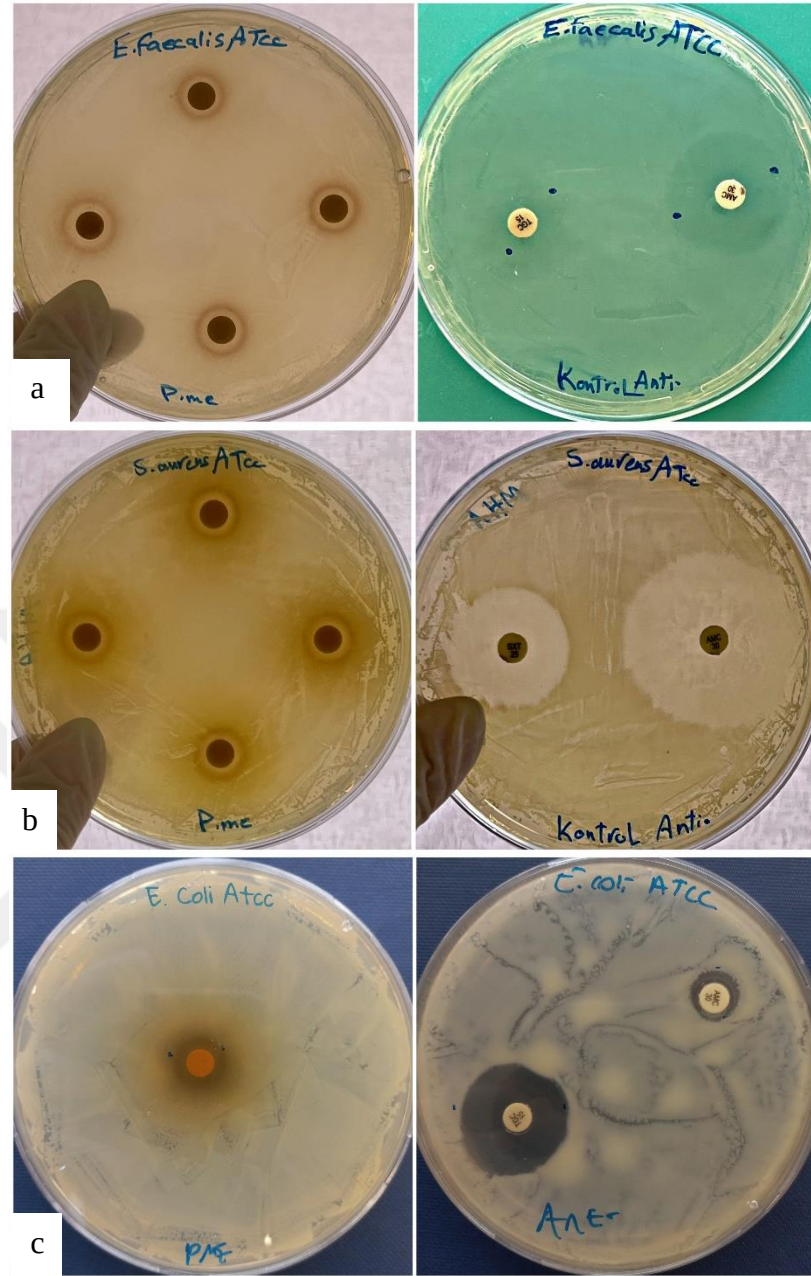
Antibiyotik kontrolü, Tigecycline (TGC-15) antibiyotiği Gram pozitif bakterilerin üzerinde (*C.difficile* ve *Enterococcus* sp.) aynı inhibisyon zonu (30 mm) oluştururken değişen zon çapları ile (20-28 mm) ile Gram negatif bakterileri (*E. Coli* ATCC25922, *Salmonella* sp. ve *P. aeruginosa* ATCC27853) inhibe etmiştir. *S. aureus* ve *L. monocytogenes*'e karşı Sulfametoksazol (SXT-25) antibiyotiği farklı inhibisyon zonları (13 mm ve 29 mm) oluşturmuştur. Amoxicillin (AMC-30) antibiyotiği ise inhibisyon zonları ile *E. Coli type1*'e, *S.aureus* ATCC25923'e ve *E. faecalis* ATCC29212'e karşı farklı inhibisyon zonları (16.5mm – 35mm – 25mm) göstermiştir (Tablo 4.1., Şekil 4.3., Şekil 4.4., Şekil 4.5.).



Şekil 4.3. *P.vera*'nın antibakteriyel aktivitesi ve kontrolleri; a: *C.difficile*'in üzerinde b: *S.aureus*'un üzerinde.



Şekil 4.4. *P. vera*'nın antibakteriyel aktivitesi ve kontrolleri; a: *Listeria monocytogenes*'in üzerinde, b: *P.aeruginosa ATCC27853*'nin üzerinde, c: *E.Coli type1*'in ve d: *Salmonella sp.*'in üzerinde.



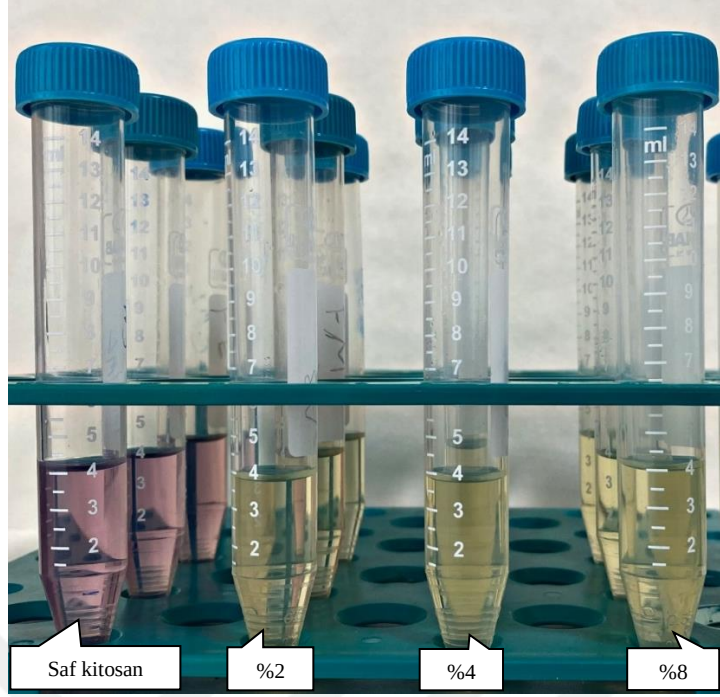
Şekil 4.5. *P.vera*'nın antibakteriyel aktivitesi ve kontrolleri; a: *Enterococcus faecalis* ATCC29212'nin üzerinde, b: *S. aureus* ATCC25923'in üzerinde, c: *E.Coli* ATCC25922'nin üzerinde.

Tablo 4.1. *P. vera* kabuğunun antibakteriyel etkisi (inhibisyon zon çapları mm)

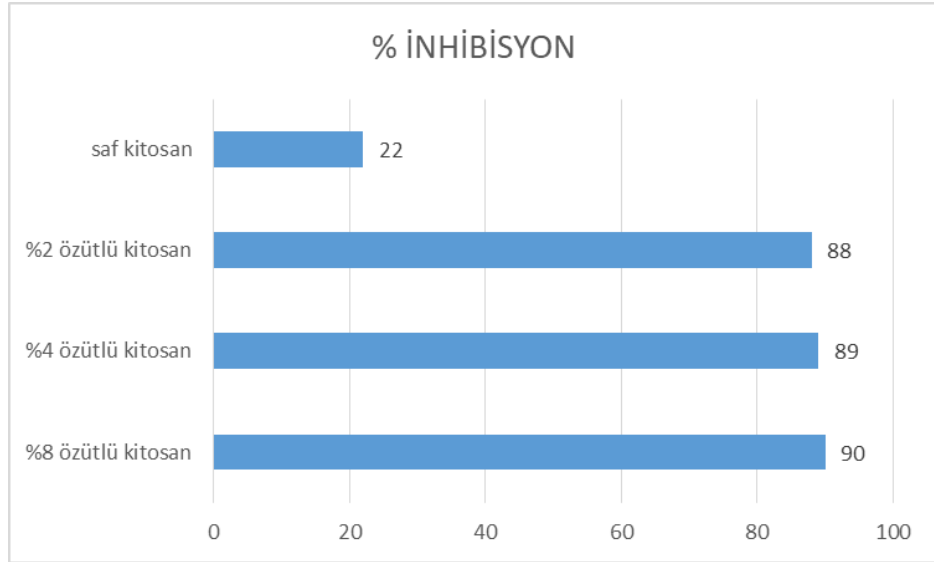
Mikroorganizmalar	<i>P.vera</i> metanol	DMSO kontrolü	Antibiyotik kontrolü
<i>S. aureus</i>	15.3 ± 0.58	-	SXT-25 (29 mm)
<i>S.aureus ATCC25923</i>	10 ± 0	-	AMC-30 (35 mm)
<i>Enterococcus sp.</i>	16.3 ± 3.79	-	TGC-15 (30 mm)
<i>E.faecalis ATCC29212</i>	9 ± 1	-	AMC-30 (25 mm)
<i>C. difficile</i>	16.67 ± 2.5	-	TGC-15 (30 mm)
<i>E. coli ATCC25922</i>	11.3 ± 0.58	-	TGC-15 (28 mm)
<i>E. coli type1</i>	12.3 ± 0.58	-	AMC-30 (16,5mm)
<i>P.aeruginosa</i> <i>ATCC27853</i>	11.67 ± 1.15	-	TGC-15 (25 mm)
<i>L.monocytogenes</i>	19 ± 1	-	SXT-25 (13 mm)
<i>Salmonella Sp.</i>	12 ± 2.83	-	TGC-15 (20 mm)

4.4. Kitosan Filmlerin Antioksidan aktivitesi

2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi uygulanarak kitosan filmlerin antioksidan aktivitesi belirlendi. Spektrofotometre ile elde edilen absorbans değerlerine dayanılarak radikal inhibisyon yüzdesinin değerleri hesaplandı. %DPPH İnhibisyon değerleri en yüksek konsantre özütü kitosandan itibaren saf kitosana sırasıyla %90, %89, %88, %22 olarak bulundu. (Şekil 4.6., Şekil 4.7.)



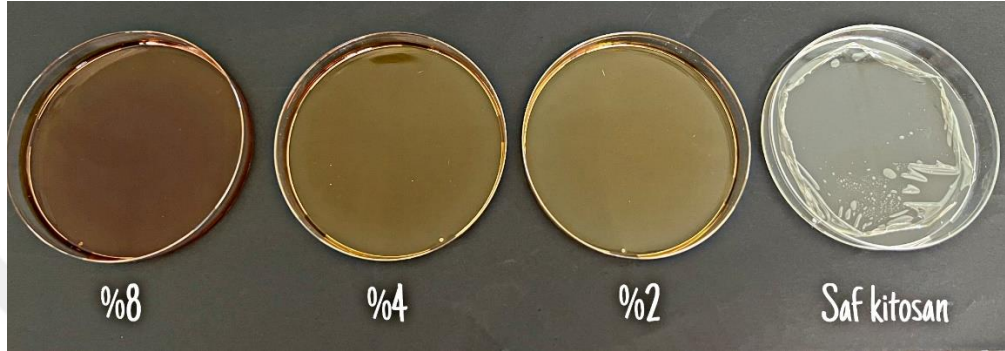
Şekil 4.6. Kitosan filmlerin antioksidan aktivitesi. %8 w/v kitosan filmi en yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Saf kitosan ise en düşük antioksidan aktiviteye sahip



Şekil 4.7. Kitosan filmlerin % inhibisyon değerleri

4.5. Kitosan Filmin Antibakteriyel Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda (%2, %4, %8 w/v) *P.vera* kabuğunun metanol ekstraktı eklenen kitosan film örneklerinin antibakteriyel aktivitesi Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde disk difüzyon yöntemi ile test edildi (Şekil 4.8., Şekil 4.9.). Özüt içermeyen saf kitosan ise kontrol olarak kullanıldı. Elde edilen kitosan filmlerin antibakteriyel aktivite sonuçları Tablo 4.2.'de verildi.

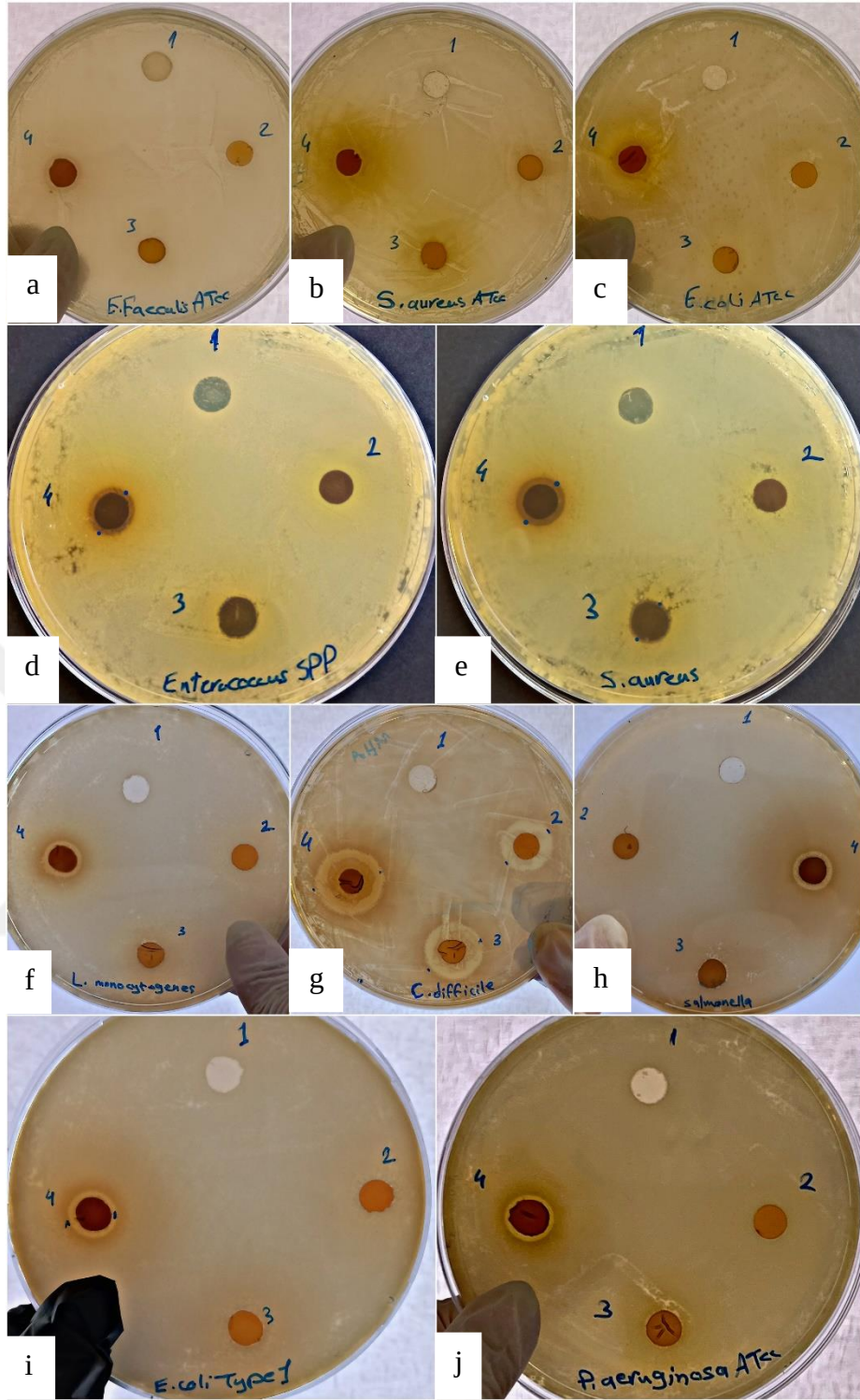


Şekil 4.8. Farklı konsantrelerde hazırlanan kitosan filmleri

Saf kitosan filmin antibakteriyel aktivitesi herhangi bir mikroorganizma türü üzerinde gözlemlenmemiştir. *P.vera* özütü içeren kitosan filmler *C.difficile* üzerinde en yüksek inhibisyon alanlarına sahipken, *S. aureus* ATCC25923, *E. coli* ATCC25922 ve *E. faecalis* ATCC29212 bakterileri üzerinde herhangi bir antibakteriyel etki vermemiştir.

C. difficile bakterisinin üzerinde %2, %4 ve %8 özütlü kitosan filmler (sırasıyla 15 ± 0 , 18 ± 1 , 20 ± 0 mm çapındaki inhibisyon zonları ile) en yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir. *S. aureus*'a karşı %4 ve %8 kitosan filmler sırasıyla 8 ± 0 , 11 ± 0 mm çapında inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Antep fıstığı kabuğunun metanol özütünü %8 oranında içeren kitosan filmi *S. aureus*, *P.aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella* sp., *L.monocytogenes* ve *Enterococcus* sp'e karşı 11 ± 0 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur.



Şekil 4.9. Kitosan filmlerinin mikroorganizmaların üzerinde antibakteriyel aktivitesi. a) *E. faecalis* ATCC29212, b) *S. aureus* ATCC25923, c) *E. coli* ATCC25922 bakterilere karşı etki göstermeyen kitosan filmleri, d) *Enterococcus* sp., e) *Staphylococcus aureus*, f) *L. monocytogenes*, g) *C. difficile*, h) *Salmonella* sp., i) *E. coli* type 1, j) *P. aeruginosa* ATCC27852 bakterilere karşı etki gösteren filmler

Tablo 4.2. *P.vera* özütü içeren kitosan filmlerin antibakteriyel etkisi
(inhibisyon zon çapları mm)

Mikroorganizmalar	Saf kitosan	%2 Özütlü kitosan	%4 Özütlü kitosan	%8 Özütlü kitosan
<i>S.aureus</i>	-	-	8 ± 0	11 ± 0
<i>S.aureus</i> <i>ATCC25923</i>	-	-	-	-
<i>Enterococcus</i> <i>sp.</i>	-	-	-	11 ± 0
<i>E.faecalis</i> <i>ATCC29212</i>	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i> <i>ATCC27853</i>	-	-	-	11 ± 0
<i>E. coli</i> <i>ATCC25922</i>	-	-	-	-
<i>L.monocytogenes</i>	-	-	-	11 ± 0
<i>Salmonella sp.</i>	-	-	-	11 ± 0
<i>C.difficile</i>	-	15 ± 0	18 ± 1	20 ± 0
<i>E. coli type1</i>	-	-	-	10 ± 0

4.6. Kitosan Filmin Fiziksel Özellikleri

Kitosan filmlerinin nem içeriği ve suda çözünürlük sonuçları incelendiğinde ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.3.'te verildi.

Tablo 4.3. Kitosan filmin nem içeriği ve suda çözünürlük sonuçları

Kitosan filmleri	% Nem içeriği	% Suda çözünürlük
Saf kitosan	59,17 ± 4,26	22,43 ± 8,6
%2 özütlü kitosan	48,5 ± 3,78	54,17 ± 5,74
%4 özütlü kitosan	25,83 ± 2,64	69,3 ± 1,96
%8 özütlü kitosan	23,5 ± 0,84	77 ± 0,63

BÖLÜM V

TARTIŞMA

Fitokimyasallar antioksidan potansiyele sahip olduklarından, gıda endüstrisinde koruyucu olarak ve tıbbi ürünlerde hücrel oksidatif stresi azaltmak için antioksidan bileşikler olarak kullanılmaktadır. Antep fıstığı meyvesi, antioksidan etkiye sahip fitokimyasallar açısından zengin bir bitkidir. 2010 yılından itibaren araştırmacılar Antep fıstığı kırmızı kabuğuna ilgi göstermiştir. Tomaino vd., (2010), Antep fıstığı kabuğu fenolik bileşiklerini ayırt edip bununla beraber antioksidan aktivitelerini de incelemişlerdir. Erşan vd., (2017), Antep fıstığı kabuğunun fenolik bileşiklerini, UHPLC-DAD-ELSD ve HPLC olmak üzere iki farklı yöntemle incelemişlerdir. Deneyde kullanılan ilk yöntem HPLC yönteminden daha hızlı sonuç vermiştir. Toplam fenoller arasında anakardik asitlerin %64.6-80.4 oranıyla baskın olduğunu bildirmişlerdir. Erşan vd. (2018), Antep fıstığı kabuğunun bazı fenolik bileşiklerin üzerine kritik altı sulu ekstraksiyon yöntemini kullanarak bir araştırma yapılmıştır. Çalışmalarında yüksek sıcaklığın (maksimum sıcaklık 170 °C) ve ekstraksiyon yönteminin etkisini incelemişlerdir. Kritik altı sulu ekstraksiyon yönteminin, çevreye dost ve organik solvent bazlı ekstraksiyon yöntemlerine alternatif bir yöntem olarak kabul edilebileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada, *P. vera* kabuğunun ekstraktının antioksidan aktivitesi ve fenolik bileşikler incelediğimizde metanollü özüt iyi sonuç göstermiştir. Bizim çalışmamızda Antep fıstığı kabuğun metanol ekstraktında bulunan total fenolik bileşiklerin değeri $24,3 \pm 0,15$ mg GAE/g kuru özüt olarak bulunmuştur. Antioksidan aktivite açısından ise metanol ekstraktı güçlü aktivite gösterirken IC₅₀ değeri 2,80 µg/ml olarak bulunmuştur. Antep fıstığı kabuğun metanol ekstraktının bu sonuçları Goli vd. (2005) ile uyumludur. Barreca vd. (2016) çalışmasında da en yüksek sonuç gösteren ekstrakt metanol ekstraktıdır.

Antep fıstığı (*P. vera* L.) dış kırmızı kabuğunun ekstraktların ve kullanılan kontrollerin (DMSO ve Antibiyotikler) antibakteriyel sonuçları Tablo 4.1.'de verilmiştir. Bu sonuçlardan da görüleceği üzere Antep fıstığı kabuğu metanol özütü,

deneylerde kullanılan mikroorganizmaların üremesini yüksek oranlarda (9 -19 mm inhibisyon zonu çapı) inhibe etmiştir. Özütün antibakteriyel aktivitesi *L.monocytogenes* (19±1 mm) ve *C.difficile*'e (16.67±2.5 mm) karşı en yüksek oranda olduğu gösterildi (Tablo 4.1.). Çalışmamızda olduğu gibi aynı yöntemle yürütülen Şule vd.'nin (2019) deney sonuçları da mikroorganizmalar üzerinde en yüksek antibakteriyel aktiviteye metanol özütünün (8-13 mm arasındaki inhibisyon zon çapları ile) sahip olduğunu göstermiştir.

Ercevit vd., (2017) *P. terebinthus subsp. palestina*'nın DMSO içinde çözülmüş özütünün antibakteriyel aktivitesinin yüksek miktarda *E. coli* (16 mm inhibisyon zon çapı) ve *S. aureus*'a (17mm inhibisyon zon çapı) karşı gösterdiğini belirtmiştir.

Rajaei vd., (2010) su ile çözülen *P. vera*'nın yeşil kabuğu ekstraktlarının mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özelliklerini incelediğinde Gram pozitif bakterilerin en duyarlı olduğunu göstermiştir. Özütün *S. aureus* üzerinde inhibisyon zonunun (11.7 mm) olduğunu bildirmişti. Gram negatif *E. coli* bakterisine karşı ise inhibisyon zonları olmadığı belirtilmiştir. Hasheminya vd., (2020) tarafından *Pistacia atlantica subsp. kurdica*'nın uçucu yağ ekstraktının mikrobiyal suşların üzerinde yapılan çalışma sonuçlara göre elde edilen özütün en düşük inhibisyon alanına *E. coli* bakterisi üzerinde sahip olduğu gösterilmiştir. Aynı materyal üzerine çalışan Rezaie vd. (2015) sonuçları, *E. coli*'e ve *S. aureus*'a karşı inhibisyon zonları gösterdiğini kanıtlamıştır.

Alma vd. (2004) *P. vera*'nın uçucu yağlarının iki farklı konsantrasyonunda (2 ve 4 µl) *E. coli*'ye karşı (8- 13 mm) zon çapı ile inhibisyon alanı göstermiştir.

Assar vd., (2019) tarafından klinik ve referans bakteri suşlarına karşı bir çalışma yürütülmüştür. Söz konusu çalışmada, Antep fıstığı pembe kabuğundan üç ekstrakt (Su, Metanol ve Metanol/Su) kullanılmıştır. Farklı ekstraktlara en duyarlı suşlardan olan *Staphylococcus aureus* PTCC 1189 idi. *S.aureus* PTCC 1189, üç farklı konsantrasyonda (10,50,200 mg/ml) inhibisyon alanları göstermiştir. *L. monocytogenes* PTCC 1297 ve *E.coli* PTCC 1395, üç ekstraktın 200 mg/ml konsantrasyonlarına karşı duyarlılık göstermiştir.

Hem çalışmamızda hem de Elhadev vd., (2021) tarafından yapılan disk difüzyon testinin sonuçları, Gram pozitif bakterilerin Gram negatif bakterilere göre daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca, Rajaei vd., (2010) Gram pozitif bakterilerin

hücre duvarlarının yapısı nedeniyle en duyarlı mikroorganizmalar olduğunu ve çeşitli çözücülerle ekstrakte edilen ham ve saf Antep fıstığı kabuğu özütleri ile gelişmelerinin engellendiğini bildirmiştir.

Kitosan, kabuklu deniz hayvanların kabuklarında bulunan kitin deasetilasyonundan elde edilen glukozamin ve N-asetil glukozaminden oluşan bir polisakkarittir. Ayrıca biyolojik olarak parçalanabilirliğe ve antimikrobiyal aktivitesine sahip olduğu birçok çalışma ile tespit edilmiştir (Akıncıbay vd., 2007).

Farklı miktarda Antep fıstığı kabuğu metanol özütü içeren kitosan filmlerinin antioksidan aktiviteleri DPPH testi ile belirlendi. Elde edilen veriler, üç tekrarlı yapılan deneylerin ortalama değerleridir. Farklı konsantrasyonlarda (%8, %4 ve %2 w/v) Antep fıstığı kabuğu özütü içeren kitosan filmlerin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu (sırasıyla %90, %89, %88 DPPH inhibisyonu) gözlemlendi. Saf kitosana bakıldığında % inhibisyon değeri, %22 olarak bulundu. Saf kitosan filmi, DPPH'yi temizleme konusuna (%22) zayıf bir yeteneğe sahiptir. Buna karşılık, özütlü kitosan filmleri, saf kitosan filmlerinden önemli ölçüde daha yüksek (%90, 89, 88) DPPH radikal süpürme aktivitesi gösterdi. Özütlü kitosan filmlerinin DPPH radikal inhibe etme aktivitesi, artan konsantrasyon oranları ile arttı.

Ghasemnezhad vd., (2013) tarafından 4°C'de 12 gün boyunca depolanan Nar tanelerin üzerine farklı konsantrasyonlarda (kontrol, %0.25, %0.50, %1) kitosan filmi ile enkapsüle edilerek antioksidan aktivite deneyi gerçekleştirilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite %1 kitosanda kaydedilmiştir.

López-Mata, (2015); emülsiyon yöntemiyle %0 (kontrol), %0.25, %0.5 ve %1 v/v Tarçın kabuğunun yağı ile kitosan filmleri hazırladı. Filmler antioksidan özelliklerine göre tarandı. %0 numuneye kıyasla %0.5 (6.01 kat) ve %1 (14.5 kat) oranında Tarçın kabuğunun yağı içeren kitosan filminin antioksidan kapasitesinde önemli bir artış gözlemlendi.

Kitosan filmlerde özüt miktarına bağlı olarak incelenen film örneklerinin nem içerikleri ve suda çözünürlükleri farklılık göstermiştir (Tablo 4.3). Nem içeriği deneyin verilerini incelendiğinde saf kitosan filmi Antep fıstığı özütü içeren kitosan filmlere göre daha yüksek değer ($74,67 \pm 3,98$) gösterdi. Saf kitosan filminin yüksek nem içeriği, su molekülleri ile kitosanın fonksiyonel grupları (-OH ve -NH₂)

arasındaki güçlü hidrojen bağı etkileşimlerinden kaynaklanmaktadır (Aljawish vd., 2016). Üç farklı konsantrasyonda (%2, %4, %8) hazırlanan ekstraktlı kitosan filmleri nem içeriği değerlerinde farklılık gözlemlendi. En düşük sonuç (23.5 ± 0.84) en yüksek özüt konsantrasyonuna sahip kitosan film için gözlemlendi. Bunun sebebi, kitosan filmin su molekülleri ile etkileşime giren fonksiyonel grupları ile özütün içerdiği fonksiyonel grupların etkileşimi ve sonucunda hidrojen bağı etkileşimlerinin büyük ölçüde tahrip edilmesi ile açıklanabilir (Liu vd., 2016).

Liu vd., (2017) tarafından yapılan bir çalışmada kitosan filmlere eklenen Protokateşik asit (doğal bir fenolik antioksidan) vasıtasıyla kitosanın bazı mekanik özellikleri test edildi. Bir saf kitosan numune ve üç farklı konsantrasyonda Protokateşik asit içeren kitosan (KPa1, KPa2 ve KPa3) numuneleri hazırlandı. Sonuçlar; Protokateşik asit içeren kitosan numunelerine kıyasla en yüksek nem içeriğinin saf kitosan numunesinde (15.3 ± 0.4) olduğunu göstermiştir. En yüksek konsantrasyonunda Protokateşik asit içeren (KPa3) kitosan, en düşük nem içeriğine (13.1 ± 0.3) sahipti. Halbuki, KPa2 ve KPa1'nın sırasıyla nem içerik sonuçları yakındı (14.4 ± 0.2 , 14.8 ± 0.2). Liu'nun sonuçları, kitosan filmine fenolik bileşiklerin eklenmesinin nem içeriğini azalttığını belirten Aljawish vd., (2016) 'in çalışmasıyla tutarlıdır. Aynı çalışmaya ait kitosanın suda çözünürlük sonuçları da bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları destekler niteliktedir; Protokateşik asit içeren kitosan film örneklerinin (kPa3) suda çözünürlük kabiliyeti en yüksek değere (20.3 ± 1.3) ulaştığında kPa2, kPa1 ve saf kitosan numunelerin verileri sırasıyla 17.9 ± 1.5 , 11.2 ± 0.7 , 10.1 ± 0.9 bulundu (Liu vd., 2017). *P. vera* özütü (%8, %4 ve %2 w/v) içeren kitosan filmlerin suda çözünürlük değerleri sırasıyla 77 ± 0.63 , 69.3 ± 1.96 , 54.17 ± 5.74 bulundu ve saf kitosanın değeri ise 22.43 ± 8.6 olarak tespit edildi. Kitosan filminin suda çözünürlüğü, plastikleştiricinin (gliserol) su bağlama kabiliyetine ve kitosanın fonksiyonel gruplarına bağlanmaktadır (Ojagh vd., 2010).

Suda çözünürlük açısından, ekstraktlı kitosan filmlerinde % 54,17'den % 77'e kadar bir artış gözlemlendi. Bu durum özütlü kitosan filmlerinde azalan hidrojen bağlarının sudaki çözünürlüğü arttırmasıyla açıklanabilir (Liu et al., 2013). Tablo 4.3.'de gösterildiği gibi, saf kitosan filminin suda çözünürlüğü, 25°C'de 1 saat daldırma sonrasında 22.43 ± 8.6 idi. Kitosandaki moleküler arası Hidrojen bağlarındaki azalma su çözünürlüğündeki artışla sonuçlanır (Liu vd., 2017). Kitosan film yapısına

eklenen fıstık kabuğu özütü bu bağlarda azalmaya neden olarak elde edilen kitosan filmlerin sudaki çözünürlüklerini arttırmış olabilir.

P.vera özütü içeren kitosan filmlerin antibakteriyel aktiviteleri incelediğinde saf kitosan filmi herhangi bir mikroorganizmaya karşı bir antimikrobiyal etki göstermedi. %8 özütlü kitosan *C. difficile*’e karşı (20 ± 0 mm inhibisyon zonu) en yüksek inhibisyon değeri gösterirken *Enterococcus sp.*, *L.monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *S. aureus* ve *P.aeruginosa* ATCC27853’e karşı eşit miktarda antibakteriyel aktivite (11 ± 0 mm inhibisyon zonu) göstermiştir (Tablo 4.2.). Söğüt ve Seydim (2020); gıda kaplamada kullanılan kitosan filmlerin avantajlarını ve özelliklerini geliştiren malzemeler ekleyerek antibakteriyel etkinliği üzerine bir araştırma yapmışlardır. Nanoselüloz partikülleri ve D-limonen maddesi içeren kitosan filmleri *S.aureus* ATCC25923 ve *P.aeruginosa* ATCC27853’e karşı 17 ± 1 mm ve 19 ± 1 mm sırasıyla inhibitör etki gösterirken; saf kitosan filmlerinin herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermediği bulundu. Söğüt ve Seydim (2018) tarafından yapılan farklı bir çalışmada kekik yağı içeren kitosan filmlerin antibakteriyel aktivitesi *E. coli* ATCC26922 ve *L.monocytogenes* ATCC19115’nin üzerinde gösterdiği inhibisyon zonları sırasıyla 15 mm ve 20 mm olduğu bildirilmiştir.

Saf kitosan filmin antibakteriyel aktivitesi herhangi bir mikroorganizma türü üzerinde gözlemlenmemiştir. *P.vera* özütü içeren kitosan filmler *C.difficile* üzerinde en yüksek inhibisyon alanlarına sahipken, *S. aureus* ATCC25923, *E. coli* ATCC25922 ve *E. faecalis* ATCC29212 bakterileri üzerinde herhangi bir antibakteriyel etki vermemiştir (Tablo 4.2.). Antep fıstığı kabuğu metanol özütünün bu mikroorganizmalar üzerinde gösterdiği antibakteriyel aktivitenin, *C. difficile* üzerinde gösterdiği antibakteriyel etkiden çok daha az olması Antep fıstığı kabuğu metanol özütü içeren filmlerin bu mikroorganizmalarda antibakteriyel etki göstermemesi ile açıklanabilir.

Kitosan filmin özellikleri geliştirmek için kullanılan Etil pirüvat varlığında da kitosan film antibakteriyel aktivitesi test edildi. Kontrol %0, %1 ve %3 etil pirüvat içeren filmler *Salmonella typhimurium* ATCC14028 üzerine (sırasıyla 7.51 ± 0.06 , 7.31 ± 0.56 , 7.75 ± 0.15 mm inhibisyon zon çapı ile) inhibitor etki göstermiştir (Kaya vd., 2021).

Bu araştırmada, Antep fıstığı kabuğunun metanol özü içeren kitosan filmlerinin antibakteriyel aktivitesi *C. difficile* bakterileri üzerinde çok yüksek olduğunu fark edildi, burada her bir konsantrasyonun %2, %4 ve %8 w/v sırasıyla 15±0, 18±1 ve 20±0 mm inhibisyon alanı gösterdi. Saf kitosan örnekleri ise bu bakteri üzerinde herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermedi.

Bu çalışma ile kitosan filmlere Antep fıstığı kabuğu metanol özütünün katılması yoluyla kitosan filmlerin antioksidan ve antibakteriyel aktivitesi artırılarak daha biyoaktif, biyobozunur, çevreyle dost bir malzeme üretimi yapılmıştır.



BÖLÜM VI

SONUÇ

Çalışmamızın sonucunda Antep fıstığı kabuğunun metanol özütü hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilmiştir.

Antep fıstığı kabuğunun metanol özütünün antibakteriyel aktivitesi Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmalarda disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Kullandığımız Gram pozitif bakteriler; *S. aureus*, *S. aureus* ATCC25923, *C. difficile*, *L. monocytogenes*, *Enterococcus* sp. ve *E. faecalis* ATCC29212 ve Gram negatif bakteriler ise *E. coli* type 1, *E. coli* ATCC25922, *Salmonella* sp. ve *P. aeruginosa* ATCC27853 idi. Yaptığımız antibakteriyel aktivite testlerinde en yüksek aktivite Gram pozitif bakterilerde bulunmuştur (*L. monocytogenes*: 19 ± 1 mm inhibisyon zonu, *C. difficile*: $16,67 \pm 2,5$ mm inhibisyon zonu, *Enterococcus* sp.: $16,3 \pm 3,79$ mm inhibisyon zonu, *E. faecalis* ATCC29212: 9 ± 1 mm inhibisyon zonu, *S. aureus*: $15,3 \pm 0,58$ mm inhibisyon zonu ve *S. aureus* ATCC25923: 10 ± 0 mm inhibisyon zonu). Gram negatif bakterilerinde düşük aktivite (*P. aeruginosa* ATCC: $11,67 \pm 1,15$ mm inhibisyon zonu, *E. coli* type1: $12,3 \pm 0,58$, *E. coli* ATCC25922 : $11,3 \pm 0,58$ mm inhibisyon zonu ve *Salmonella* sp.: $12 \pm 2,83$ mm inhibisyon zonu) gözlenmiştir.

P. vera metanol özütünün total fenolik bileşiklerin miktarı $24,302 \pm 0,1467$ mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Antioksidan aktivitesi test edildiğinde IC_{50} değeri 2,80 olarak $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur.

Farklı miktarlarda (%2, %4, %8 w/v) Antep fıstığı kabuğu metanol özütü katılmasıyla elde edilen kitosan filmlerin antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Elde edilen kitosan filmlerin antioksidan aktivitesi saf kitosan film ile karşılaştırıldığında Antep fıstığı kabuğu metanol özütünün eklenmesinin kitosan filmlerin antioksidan aktivitesini ciddi oranda arttırdığı belirlenmiştir. Özüt içermeyen saf kitosan film örneğinde % 22 olan inhibisyon değerleri, özüt içeren

kitosan filmlerinde dikkat çekici oranda artarak en yüksek oranda özüt içerenen itibaren sırasıyla %90, %89, %88 olarak bulunmuştur.

Kitosan filmlerin antibakteriyel aktivitesi test edildiğinde %8 w/v özütlü kitosan filmi bazı Gram pozitif (*S.aureus*, *L.monocytogenes*, *Enterococcus sp.*) ve Gram negatif (*P.aeruginosa* ATCC27853 , *Salmonella sp.*) bakterilerinde eşit inhibisyon zonu (11 ± 0 mm) göstermiştir. Kitosan filmlerin farklı oranda özüt içeren örnekleri (%2 w/v, %4 w/v, %8 w/v) *C. difficile* üzerinde (sırasıyla 15 ± 0 , 18 ± 1 ve 20 ± 0 mm inhibisyon çapı ile) en yüksek antibakteriyel etki göstermiştir. *S. aureus*'a karşı %4 w/v özütlü kitosan filmi 8 ± 0 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. Elde edilen kitosan filmlerin *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus* ATCC25923 ve *Enterococcus* ATCC29212 üzerinde inhibitör etkisi gözlenmemiştir.

Kitosan filmlere eklenen Antep fıstığı kabuğu metanol özütü, filmlerin % nem içeriklerinin azalmasına % suda çözünürlüklerinin ise artmasına neden olmuştur.

Doğal kaynaklardan elde edilen kitosan ekolojik olarak çok avantajlı bir kaynaktır. Antep fıstığı kabuğunun metanol ekstraktını içeren biyobozunur yapıdaki kitosan filmler çevreye dost bir ambalaj malzemesi olarak kullanılabilir. Yenilebilen kitosan filmlerin antibakteriyel ve antioksidan özellik kazanmasına katkı sağlayan *P.vera* kabuğunun metanol özütü, gıda ambalajlama işleminde önemli ve destekleyici bir materyal olarak kullanılabilir.

KAYNAKLAR

Abolhasani, A., Barzegar, M., Sahari, M. A. (2018). Effect of gamma irradiation on the extraction yield, antioxidant, and antityrosinase activities of pistachio green hull extract. *Radiation Physics and Chemistry*, **144**, 373–378.

Adams, R. P. (2012). *Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy*. New York, USA: Academic Press Inc.

AFAE, Antep fıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. (1937). AFAE Antep fıstığı araştırma dergesi. AFAE İnt: <https://arastirma.tarim.gov.tr/afistik> Sayı: 7/ Yıl: 2019.

Akıncıbay, H., Şenel, S., Yetkin Ay, Z. (2007). Application of chitosan gel in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, **80(2)**, 290-296.

Alma, M. H., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F. T., Yilmaz, N. (2004). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish pistachio (*Pistacia vera* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, **52(12)**, 3911-3914.

Appendini, P., Hotchkiss, J. H. (2002). Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **3(2)**, 113-126.

Arjeh, E., Akhavan, H. R., Barzegar, M., Carbonell-Barrachina, Á. A. (2020). Bio-active compounds and functional properties of pistachio hull: A review. *Trends in Food Science & Technology*, **97**, 55-64.

Arvanitoyannis, I. S., Ladas, D., Mavromatis, A. (2006). Potential uses and applications of treated wine waste: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, **41**, 475–487.

- Assar, S., Fathalizadeh, J., Ayoobi, F., Ziaadini, M., Shamsizadeh, A., Kazemi Arababadi, M., Bagheri, V. (2019). In vitro antibacterial properties of pistachio (*pistacia vera L.*) rosy hull phenolic extracts. *Pistachio and Health Journal*, **2(3)**, 17-29.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, **117**, 426–436.
- Bajpai, V. K., Baek, K.-H., Kang, S. C. (2012). Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, **45**, 722–734.
- Barbano, D. M., Ma, Y., Santos, M. V. (2006). Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. *Journal of dairy science*, **89**, E15-E19.
- Barreca, D., Laganà, G., Leuzzi, U., Smeriglio, A., Trombetta, D., Bellocco, E. (2016). Evaluation of the nutraceutical, antioxidant and cytoprotective properties of ripe pistachio (*Pistacia vera L.*, variety Bronte) hulls. *Food Chemistry*, **196**, 493–502.
- Barrera-Ruiz, D. G., Cuestas-Rosas, G. C., Sánchez-Mariñez, R. I., Álvarez-Ainza, M. L., Moreno-Ibarra, G. M., López-Meneses, A. K., Cortez-Rocha, M. O. (2020). Antibacterial activity of essential oils encapsulated in chitosan nanoparticles. *Food Science and Technology*, **40**, 568-573.
- Bégin, A., Van Calsteren, M. R. (1999). Antimicrobial films produced from chitosan. *International journal of biological macromolecules*, **26(1)**, 63-67.
- Behgar, M., Ghasemi, S., Naserian, A., Borzoie, A., Fatollahi, H. (2011). Gamma radiation effects on phenolics, antioxidants activity and *in vitro* digestion of pistachio (*Pistachia vera*) hull. *Radiation Physics and Chemistry*, **80**, 963–967.
- Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezudo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, **68**, 581–594.

Bibek R., A. B., (2016). *Temel Gıda Mikrobiyolojisi*. Yayın evi Nobel Akademik Yayıncılık.

Bonyadi, P., Amini, K. (2022). Isolation of *Enterococcus faecalis* pathogenic genes isolated from oral infection by the effect of ionic liquids based on amino acid and its expression by real-time PCR. *Folia Microbiologica*, 1-8.

Boots, A. W., Haenen, G. R. M. M., Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, **585**, 325–337.

Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. *International food research journal*, **15(3)**, 237-248.

Bulushi, I. A., Poole, S., Deeth, H. C., Dykes, G. A. (2009). Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage, and nitrosamine formation—a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, **49(4)**, 369-377.

Bush, P. L. (2014). *Pectin: Chemical properties, uses and health benefits*. New York, USA: Nova Science Publishers, Inc.

Camejo, A., Carvalho, F., Reis, O., Leitão, E., Sousa, S., Cabanes, D. (2011). The arsenal of virulence factors deployed by *Listeria monocytogenes* to promote its cell infection cycle. *Virulence*, **2(5)**, 379-394.

Carpentier, B., Cerf, O. (2011). Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *International journal of food microbiology*, **145(1)**, 1-8.

Cazón, P., Antoniewska, A., Rutkowska, J., Vázquez, M. (2021). Evaluation of easy-removing antioxidant films of chitosan with *Melaleuca alternifolia* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, **186**, 365-376.

CDC; Centers for Disease Control and Prevention. (2011). *National Salmonella surveillance overview*. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services.

- Chaharbaghi, E., Khodaiyan, F., Hosseini, S. S. (2017). Optimization of pectin extraction from pistachio green hull as a new source. *Carbohydrate Polymers*, **173**, 107–113.
- Chahed, T., Dhifi, W., Hamrouni, I., Msaada, K., Bellila, A., Kchouk, M. E., (2007). Comparison of pistachio hull essential oils from different Tunisian localities. *Italian Journal of Biochemistry*, **56**, 35–39.
- Chahed, T., Hamrouni, I., Dhifi, W., Msaada, K., Kchouk, M. E., Marzouk, B. (2006). Lipid evaluation during the development of pistachio seed from the region of Kairouan (Middle of Tunisia). *Journal of Food Lipids*, **13**, 375–389.
- Charles, D. J. (2012). *Antioxidant properties of spices, herbs and other sources*. USA: Springer-Verlag New York.
- Cousin, M. A. (1982). Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. *Journal of food Protection*, **45**(2), 172-207.
- Cretenet, M., Even, S., Le Loir, Y. (2011). Unveiling *Staphylococcus aureus* enterotoxin production in dairy products: a review of recent advances to face new challenges. *Dairy Science & Technology*, **91**(2), 127-150.
- Çalıkoğlu., E, Kıralan, M., Bayrak, A., (2006). Uçucu Yağ Nedir, Nasıl Üretilir ve Türkiye'deki Durumuna Genel Bir Bakış Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 24-26.24-26.
- Davies, S. (2012). Fighting food poverty. *Engineering & Technology*, **7**(11), 48-49.
- Dreher, M. L. (2012). Pistachio nuts: composition and potential health benefits. *Nutrition reviews*, **70**(4), 234-240.
- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food chemistry*, **114**(4), 1173-1182.
- El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. H. A., Casabianca, H., (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, **483**, 220–243.

- El Bairi, K., Jadda, H., Terkmane, C. (2016). *Pistacia vera*: chemical composition and pharmacological activities (Pistachio nuts). *Options Méditerranéennes. Série A, Séminaires Méditerranéens*, **(119)**, 283-285.
- Elhadef, K., Akermi, S., Ben Hlima, H., Ennouri, K., Fourati, M., Ben Braïek, O., Smaoui, S. (2021). Tunisian pistachio hull extracts: phytochemical content, antioxidant activity, and foodborne pathogen inhibition. *Journal of Food Quality*, 2021.
- Erecevit, P., Kırbağ, S. (2017). Antimicrobial activity of some plant species used for the medical purpose in Turkey. *The Journal of Phytopharmacology*, **6(2)**, 93-97.
- Erşan, S., Güçlü Üstündağ, O.z., Carle, R., Schweiggert, R. M. (2016). Identification of phenolic compounds in red and green pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls (exo-and mesocarp) by HPLC-DAD-ESI-(HR)-MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **64**, 5334–5344.
- Erşan, S., Üstündağ, Ö. G., Carle, R., Schweiggert, R. M. (2017). Determination of pistachio (*Pistacia vera* L.) hull (exo-and mesocarp) phenolics by HPLC-DAD-ESI/MSn and UHPLC-DAD-ELSD after ultrasound-assisted extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, **62**, 103–114.
- Erşan, S., Üstündağ, Ö. G., Carle, R., Schweiggert, R. M. (2018). Subcritical water extraction of phenolic and antioxidant constituents from pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls. *Food Chemistry*, **253**, 46–54.
- Esteki, M., Ahmadi, P., Vander Heyden, Y., Simal-Gandara, J. (2018). Fatty acids-based quality index to differentiate worldwide commercial pistachio cultivars. *Molecules*, **24(1)**, 58.
- Fang, Z., Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, **21**, 510–523.
- Fathalizadeh, J., Bagheri, V., Khorramdelazad, H., Arababadi, M. K., Jafarzadeh, A., Mirzaei, M. R., Hajizadeh, M. R. (2015). Induction of apoptosis by pistachio (*Pistacia vera* L.) hull extract and its molecular mechanisms of action in human hepatoma cell line HepG2. *Cellular and Molecular Biology*, **61(7)**, 128-134.

- Foley, S. L., Nayak, R., Hanning, I. B., Johnson, T. J., Han, J., Ricke, S. C. (2011). Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. *Applied and environmental microbiology*, **77**(13), 4273-4279.
- Fratamico, P. M., Bhunia, A. K., Smith, J. L. (2005). Foodborne pathogens: *microbiology and molecular biology*. CRC Press LLC.
- Freitag, N. E., Port, G. C., Miner, M. D. (2009). *Listeria monocytogenes*—from saprophyte to intracellular pathogen. *Nature Reviews Microbiology*, **7**(9), 623-628.
- Gezici, S. (2019). Cancer preventive and neuroprotective potentials of red hulls, kernels and oleo-gum resins from Pistachio. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, **3**(3), 137-143.
- Ghandahari Yazdi, A. P., Barzegar, M., Sahari, M. A., Ahmadi Gavlighi, H. (2018). Optimization of the enzyme-assisted aqueous extraction of phenolic compounds from pistachio green hull. *Food Sciences and Nutrition*, 1–11 2018.
- Ghasemnezhad, M., Zareh, S., Rassa, M., Sajedi, R. H. (2013). Effect of chitosan coating on maintenance of aril quality, microbial population and PPO activity of pomegranate (*Punica granatum L.* cv. Tarom) at cold storage temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **93**(2), 368-374.
- Giftson, J. S., Jayanthi, S., Nalini, N. (2010). Chemopreventive efficacy of gallic acid, an antioxidant and anticarcinogenic polyphenol, against 1, 2-dimethyl hydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Investigational New Drugs*, **28**, 251–259.
- Gill, C. O. (1986). *The control of microbial spoilage in fresh meats*. Advances in meat research (USA).
- Goli, S. A. H., Barzegar, M., Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, **92**, 521–525.

Gomaa, S. E., Shaker, G. H., Mosallam, F. M., Abbas, H. A. (2022). Knocking down *Pseudomonas aeruginosa* virulence by oral hypoglycemic metformin nano emulsion. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **38**(7), 1-17.

Grace, M. H., Esposito, D., Timmers, M. A., Xiong, J., Yousef, G., Komarnytsky, S., (2016a). Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties of pistachio hull extracts. *Food Chemistry*, **210**, 85–95.

Grace, M. H., Esposito, D., Timmers, M. A., Xiong, J., Yousef, G., Komarnytsky, S., Lila, M. A. (2016b). *In vitro* lipolytic, antioxidant and anti-inflammatory activities of roasted pistachio kernel and skin constituents. *Food & function*, **7**(10), 4285-4298.

Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., Givskov, M. (2002). Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *International journal of food microbiology*, **78**(1-2), 79-97.

Gupta, R. C. (2016). Nutraceuticals: *Efficacy, safety and toxicity*. London, U.K: Academic Press.

Han, J. H. (2003). Antimicrobial food packaging. *Novel food packaging techniques*, **8**, 50-70.

Hasheminya, S. M., Dehghannya, J. (2020). Composition, phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of *Pistacia atlantica subsp. kurdica* hulls' essential oil. *Food Bioscience*, **34**, 100510.

Heinonen, M. (2007). Antioxidant activity and antimicrobial effect of berry phenolics—a Finnish perspective. *Molecular Nutrition & Food Research*, **51**, 684–691.

Hong, S. I., Lee, J. W., Son, S. M. (2005). Properties of polysaccharide-coated polypropylene films as affected by biopolymer and plasticizer types. *Packaging Technology and Science: An International Journal*, **18**(1), 1-9.

Jayani, R. S., Saxena, S., Gupta, R. (2005). Microbial pectinolytic enzymes: a review. *Process Biochemistry*, **40**(9), 2931-2944.

- Kasliwal, R. R., Bansal, M., Mehrotra, R., Yeptho, K. P., Trehan, N. (2015). Effect of pistachio nut consumption on endothelial function and arterial stiffness. *Nutrition*, **31(5)**, 678-685.
- Kaya, B., Zorba, N. N., Caner, C. (2021). Kitosan bazlı etil pirüvat filmlerin fizikokimyasal, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-quorum sensing özelliklerinin belirlenmesi. *Gıda/the journal of food*, **46(6)**.
- Kaya, D., Ergönül, P.G., (2015). Uçucu yağları elde etme yöntemleri. *Gıda dergisi*, **40 (5)**, 303-310.
- Kazemi, M., Khodaiyan, F., Labbafi, M., Hosseini, S. S., Hojjati, M. (2019). Pistachio green hull pectin: Optimization of microwave-assisted extraction and evaluation of its physicochemical, structural and functional properties. *Food Chemistry*, **271**, 663–672.
- Kelly, C. P., LaMont, J. T. (1998). *Clostridium difficile* infection. *Annual review of medicine*, **49**, 375.
- Khatami, F., Hadadianpour, Z., Rahnama, A., Ebrahimi Vosta Kalaei, S. E. V. K., Fatemi, I., Shamsizadeh, A. (2018). The anti-fatigue effects of the hydro-alcoholic extract of *Pistacia vera* seeds (pistachios) on male Wistar rats. *Pistachio and Health Journal*, **1(2)**, 17-21.
- Kim, E. B., Kopit, L. M., Harris, L. J., Marco, M. L. (2012). Draft genome sequence of the quality control strain *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Kraft, A. A. (1992). Health hazard vs. food spoilage. In *Psychrotrophic Bacteria in Foods*, CRC Press, Boca Raton, FL, p. 113.
- Lalegani, S., Ahmadi Gavlighi, H., Azizi, M. H., Sarteshnizi, R. A. (2018). Inhibitory activity of phenolic-rich pistachio green hull extract-enriched pasta on key type 2 diabetes relevant enzymes and glycemic index. *Food Research International*, **105**, 94–101.

Ledenbach, L. H., Marshall, R. T. (2010). Microbial spoilage of dairy products, p 41-67. *Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages*. Springer, New York, NY.

Lim, G. M., Kim, J. K., Kim, E. J., Lee, C. S., Kim, W., Kim, B. G., Jeong, H. J. (2022). Generation of a recombinant antibody for sensitive detection of *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC biotechnology*, **22(1)**, 1-11.

Lis-Balcnin, M., Ochocka, R. J., Deans, S. G., Asztemborska, M., Hart, S. (1999). Differences in bioactivity between the enantiomers of α -pinene. *Journal of Essential Oil Research*, **11**, 393-397.

Liu, J., Lu, J. F., Kan, J., Jin, C. H. (2013). Synthesis of chitosan-gallic acid conjugate: Structure characterization and *in vitro* anti-diabetic potential. *International journal of biological macromolecules*, **62**, 321-329.

Liu, J., Meng, C. G., Yan, Y. H., Shan, Y. N., Kan, J., Jin, C. H. (2016). Protocatechuic acid grafted onto chitosan: Characterization and antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, **89**, 518-526.

López-Mata, M. A., Ruiz-Cruz, S., Silva-Beltrán, N. P., Ornelas-Paz, J. D. J., Ocaño-Higuera, V. M., Rodríguez-Félix, F., Shirai, K. (2015). Physicochemical and antioxidant properties of chitosan films incorporated with cinnamon oil. *International Journal of Polymer Science*, 2015.

Lopez-Rubio, A., Almenar, E., Hernandez-Muñoz, P., Lagarón, J. M., Catalá, R., Gavara, R. (2004). Overview of active polymer-based packaging technologies for food applications. *Food Reviews International*, **20(4)**, 357-387.

Mahoney, N. E., Gee, W. S., Higbee, B. S., Beck, J. J. (2014). Ex situ volatile survey of ground almond and pistachio hulls for emission of spiroketals: Analysis of hull fatty acid composition, water content, and water activity. *Phytochemistry Letters*, **7**, 225-230.

Maran, J. P., Swathi, K., Jeevitha, P., Jayalakshmi, J., Ashvini, G. (2015). Microwaveassisted extraction of pectic polysaccharide from waste mango peel. *Carbohydrate Polymers*, **123**, 67-71.

- Martorana, M., Arcoraci, T., Rizza, L., Cristani, M., Bonina, F. P., Saija, A., (2013). *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effect of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seed and skin extracts. *Fitoterapia*, **85**, 41–48.
- McHugh, T. H., Krochta, J. M. (1994). Milk-protein-based edible films and coatings. *Food technology*.
- Milillo, S. R., Friedly, E. C., Saldivar, J. C., Muthaiyan, A., O'bryan, C., Crandall, P. G., Ricke, S. C. (2012). A review of the ecology, genomics, and stress response of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes*. *Critical reviews in food science and nutrition*, **52(8)**, 712-725.
- 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.
- Mohammadi Moghaddam, T., Razavi, S. M. A., Malekzadegan, F., Shaker Ardekani, A. (2009). Chemical composition and rheological characterization of pistachio green hull's marmalade. *Journal of Texture Studies*, **40**, 390–405.
- Mohammadi, M., Ghorbani, M., Beigbabaei, A., Yeganehzad, S., Sadeghi-Mahoonak, A. (2019). Investigation effects of extracted compounds from shell and cluster of pistachio nut on the inactivation of free radicals. *Heliyon*, **5(9)**, e02438.
- Mokhtarpour, A., Naserian, A. A., Valizadeh, R., Danesh Mesgaran, M. (2014). Extraction of phenolic compounds and tannins from pistachio by-products. *Annual Review & Research in Biology*, **4**, 1330–1338.
- Nadira, P. P., Mujeeb, V. A., Rahman, P. M., Muraleedharan, K. (2022). Effects of cashew leaf extract on physicochemical, antioxidant, and antimicrobial properties of N, O-Carboxymethyl chitosan films. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, **3**, 100191.
- Ngouémazong, E. D., Christiaens, S., Shpigelman, A., Van Loey, A., Hendrickx, M. (2015). The emulsifying and emulsion-stabilizing properties of pectin: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **14**, 705–718.

No, H. K., Meyers, S. P., Prinyawiwatukul, W., Xu, Z. (2007). Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. *Journal of food science*, **72(5)**, R87-R100.

No, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H., Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International journal of food microbiology*, **74(1-2)**, 65-72.

NÖRNBERG, M. F., Friedrich, R. S., Weiss, R. D., Tondo, E. C., Brandelli, A. (2010). Proteolytic activity among psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. *International Journal of Dairy Technology*, **63(1)**, 41-46.

NTB, Nizip Ticaret Borsası. (1995). NTB Antep fıstığı yetiştiriciliği, hastalık ve zararlıları. NTB İnt: https://www.niziptb.org.tr/ntb/dosyalar/ANTEPFISTIGI_YETISTIRICILIGI_HASTALIK_VE_ZARARLILARI.pdf Yayın Tarihi: 17 Aralık 2016.

Nunthanid, J., Puttipatkhachorn, S., Yamamoto, K., Peck, G. E. (2001). Physical properties and molecular behavior of chitosan films. *Drug development and industrial pharmacy*, **27(2)**, 143-157.

Omojate Godstime, C., Enwa Felix, O., Jewo Augustina, O., Eze Christopher, O. (2014). Mechanisms of antimicrobial actions of phytochemicals against enteric pathogens—a review. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, **2**, 77–85.

Özbek, H. N., Yanık, D. K., Fadiloğlu, S., Çavdar, H. K., Göğüş, F. (2018). Microwaveassisted extraction of non-polar compounds from pistachio hull and characterization of extracts. *Grasas Y Aceites*, **69**, 1–9.

Özçelik, B., Aslan, M., Orhan, I., Karaoglu, T. (2005). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera*. *Microbiological research*, **160(2)**, 159-164.

Panouillé, M., Thibault, J.-F., Bonnin, E. (2006). Cellulase and protease preparations can extract pectins from various plant byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 8926–8935.

Park, S., Szonyi, B., Gautam, R., Nightingale, K., Anciso, J., Ivanek, R. (2012). Risk factors for microbial contamination in fruits and vegetables at the preharvest level: a systematic review. *Journal of food protection*, **75**(11), 2055-2081.

Peck, M. W. (2006). *Clostridium botulinum* and the safety of minimally heated, chilled foods: an emerging issue. *Journal of Applied Microbiology*, **101**(3), 556-570.

Peck, M. W., Stringer, S. C., Carter, A. T. (2011). *Clostridium botulinum* in the post-genomic era. *Food microbiology*, **28**(2), 183-191.

Plaper, A., Golob, M., Hafner, I., Oblak, M., Šolmajer, T., Jerala, R. (2003). Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **306**, 530–536.

Podolak, R., Enache, E., Stone, W., Black, D. G., Elliott, P. H. (2010). Sources and risk factors for contamination, survival, persistence, and heat resistance of *Salmonella* in low-moisture foods. *Journal of food protection*, **73**(10), 1919-1936.

Raats, D., Offek, M., Minz, D., Halpern, M. (2011). Molecular analysis of bacterial communities in raw cow milk and the impact of refrigeration on its structure and dynamics. *Food microbiology*, **28**(3), 465-471.

Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G., Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, **4**(6), 1457-1465.

Rafiee, Z., Barzegar, M., Sahari, M. A., Maherani, B. (2017). Nanoliposomal carriers for improvement the bioavailability of high-valued phenolic compounds of pistachio green hull extract. *Food Chemistry*, **220**, 115–122.

Rafiee, Z., Barzegar, M., Sahari, M. A., Maherani, B. (2018). Nanoliposomes containing pistachio green hull's phenolic compounds as natural bio-preservatives for mayonnaise. *European Journal of Lipid Science and Technology*.
<https://doi.org/10.1002/ejlt.201800086>.

- Rajaei, A., Barzegar, M., Mobarez, A. M., Sahari, M. A., Esfahani, Z. H. (2010). Antioxidant, anti-microbial and antimutagenicity activities of pistachio (*Pistacia vera*) green hull extract. *Food and chemical toxicology*, **48**(1), 107-112.
- Rezaie, M., Farhoosh, R., Sharif, A., Asili, J., Iranshahi, M. (2015). Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. mutica) hull essential oil. *Journal of food science and technology*, **52**(10), 6784-6790.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in polymer science*, **31**(7), 603-632.
- Roostaei, M., Barzegar, M., Sahari, M. A., Rafiee, Z. (2017). The enhancement of pistachio green hull extract functionality via nanoliposomal formulation: Studying in soybean oil. *Journal of Food Science & Technology*, **54**, 3620–3629.
- Ruby, T., McLaughlin, L., Gopinath, S., Monack, D. (2012). *Salmonella's* long-term relationship with its host. *FEMS microbiology reviews*, **36**(3), 600-615.
- Sagoo, S., Board, R., Roller, S. (2002). Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products. *Food microbiology*, **19**(2-3), 175-182.
- Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., Griffin, P. M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States major pathogens. *Emerging infectious diseases*, **17**(1), 7.
- Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Thorup Cohn, M., Lindqvist, R., Barker, G. C. (2011). The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*, **2**(6), 580-592.
- Seeram, N. P., Zhang, Y., Bowerman, S., Heber, D. (2008). Phytochemicals and health aspects of pistachio (*Pistacia vera* L.). In C. Alasalvar, & F. Shahidi (Eds.). *Tree nuts: Composition, phytochemicals, and health effects* (pp. 295–303). Boca Raton: CRC Press.
- Seeram, N. P., Zhang, Y., Henning, S. M., Lee, R., Niu, Y., Lin, G., (2006). Pistachio skin phenolics are destroyed by bleaching resulting in reduced

antioxidative capacities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 7036–7040.

Seifaddini-pour, M., Farghadani, R., Namvar, F., Mohamad, J., Abdul Kadir, H. (2018). Cytotoxic effects and anti-angiogenesis potential of pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls against MCF-7 human breast cancer cells. *Molecules*, **23(1)**, 110.

Seifzadeh, N., Sahari, M. A., Barzegar, M., Gavligi, H. A., Calani, L., Del Rio, D., (2019). Evaluation of polyphenolic compounds in membrane concentrated pistachio hull extract. *Food Chemistry*, **277**, 398–406.

Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., Jeon, Y. J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in food science & technology*, **10(2)**, 37-51.

Shakeri, P., Madahian, A., Moktarpour, A. (2018). Effects of extracts derived from pistachio by-products on ruminal fermentation and methane production. *Journal of Livestock Science and Technologies*, **6(1)**, 1-8.

Shukla, H. D., Sharma, S. K. (2005). *Clostridium botulinum*: a bug with beauty and weapon. *Critical reviews in microbiology*, **31(1)**, 11-18.

Silva, F. V., Gibbs, P. A. (2010). Non-proteolytic *Clostridium botulinum* spores in low-acid cold-distributed foods and design of pasteurization processes. *Trends in food science & technology*, **21(2)**, 95-105.

Simoës, M., Bennett, R. N., Rosa, E. A. S. (2009). Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. *Natural Product Reports*, **26**, 746–757.

Sinell, H. J. (1980). Interacting factors affecting mixed populations. In *Microbial Ecology of Foods*, Academic Press, New York, p. 215.

Singh, R. P., Murthy, K. N. C., Jayaprakash, G. K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in vitro* models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 81–86.

Singla, A. K., Chawla, M. (2001). Chitosan: Some pharmaceutical and biological aspects-an update. *Journal of pharmacy and pharmacology*, **53(8)**, 1047-1067.

Sleator, R. D., Watson, D., Hill, C., Gahan, C. G. (2009). The interaction between *Listeria monocytogenes* and the host gastrointestinal tract. *Microbiology*, **155**(8), 2463-2475.

Söğüt, E., Seydim, A. C. (2018). Uçucu Yağ İçeren Kitosan Bazlı Filmlerin Karakterizasyonu. *Gıda*, **43**(4), 624-634.

Söğüt, E., Seydim, A. C. (2020). D-Limonen ve Nanoselüloz İçeren Aktif Kitosan/Polikaprolakton İki Katmanlı Filmler. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **24**(3), 618-625.

Srinivasa, P. C., Tharanathan, R. N. (2007). Chitin/chitosan—safe, ecofriendly packaging materials with multiple potential uses. *Food reviews international*, **23**(1), 53-72.

Supotngarmkul, A., Panichuttra, A., Ratisoontorn, C., Nawachinda, M., Matangkasombut, O. (2020). Antibacterial property of chitosan against *E. faecalis* standard strain and clinical isolates. *Dental Materials Journal*, **39**(3), 456-463.

Suyatma, N. E., Tighzert, L., Copinet, A., Coma, V. (2005). Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**(10), 3950-3957.

Synowiecki, J., Al-Khateeb, N. A. (2003). Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives.

Şule, İ. N. C. İ., Kirbağ, S. (2019). *Pistacia vera* L. 'nın Dış Kabuğunun Antimikrobiyal Etkisi. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **8**(4), 1218-1222.

Tabaraki, R., Ghadiri, F. (2016). Comparative study of extraction methods for pistachio hull antioxidants by multiple assays. *Journal of Applied Chemistry*, **10**, 19–29.

Taghizadeh, A., Rad-Moghadam, K. (2018a). Green fabrication of Cu/pistachio shell nanocomposite using *Pistacia vera* L. hull: An efficient catalyst for expedient

reduction of 4-nitrophenol and organic dyes. *Journal of Cleaner Production*, **198**,1105–1119.

Taghizadeh, S. F., Davarynejad, G., Asili, J., Riahi-Zanjani, B., Nemati, S. H., Karimi, G. (2018b). Chemical composition, antibacterial, antioxidant and cytotoxic evaluation of the essential oil from pistachio (*Pistacia khinjuk*) hull. *Microbial Pathogenesis*, **124**, 76–81.

Teh, K. H., Flint, S., Palmer, J., Lindsay, D., Andrewes, P., Bremer, P. (2011). Thermo-resistant enzyme-producing bacteria isolated from the internal surfaces of raw milk tankers. *International Dairy Journal*, **21(10)**, 742-747.

Tharanathan, R. N., Kittur, F. S. (2003). Chitin the undisputed biomolecule of great potential.

Tokatlı, K., Demirdöven, A. (2015). Kitosan ve kitosan bazlı yenilebilir film uygulamaları. *Akademik Gıda*, **13(4)**, 348-353.

Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Monteleone, D., Giovino, C., Saija, A. (2010). Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie*, **92**, 1115–1122.

Torlak, E. (2009). Doğal antimikrobiyal maddeler ile hazırlanan yenilebilir ve kaplanmış plastik filmlerin gıda kaynaklı bazı patojenlere etkileri.

Tsai, G. U. O., Su, W. H., Chen, H. C., Pan, C. L. (2002). Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments. *Fisheries science*, **68(1)**, 170-177.

TÜİK, Türkiye İstatistik Kurumu. TÜİK, *bitkisel üretim istatistikleri*, 2020. TÜİK İnt: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2020-33737> Sayı: **33737** / Yayın Tarihi: 28 Aralık 2020.

Velge, P., Wiedemann, A., Rosselin, M., Abed, N., Boumart, Z., Chaussé, A. M., Virlogeux-Payant, I. (2012). Multiplicity of *Salmonella* entry mechanisms, a new paradigm for *Salmonella* pathogenesis. *Microbiologyopen*, **1(3)**, 243-258.

Véronique, C. O. M. A. (2008). Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat science*, **78**(1-2), 90-103.

Voit, M., Trampuz, A., Gonzalez Moreno, M. (2022). *In Vitro* Evaluation of Five Newly Isolated Bacteriophages against *E. faecalis* Biofilm for Their Potential Use against Post-Treatment Apical Periodontitis. *Pharmaceutics*, **14**(9), 1779.

Wang, S., Chen, F., Wu, J., Wang, Z., Liao, X., Hu, X. (2007). Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, **78**, 693–700.

Wang, T., Jonsdottir, R., Ólafsdóttir, G. (2009). Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food chemistry*, **116**(1), 240-248.

Wedmore, I., McManus, J. G., Pusateri, A. E., Holcomb, J. B. (2006). A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, **60**(3), 655-658.

Wiles, J. L., Vergano, P. J., Barron, F. H., Bunn, J. M., Testin, R. F. (2000). Water vapor transmission rates and sorption behavior of chitosan films. *Journal of Food Science*, **65**(7), 1175-1179.

Wright, J. S., Johnson, E. R., DiLabio, G. A. (2001). Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, **123**, 1173–1183.

Yadav, S., Mehrotra, G. K., Bhartiya, P., Singh, A., Dutta, P. K. (2020). Preparation, physicochemical and biological evaluation of quercetin-based chitosan-gelatin film for food packaging. *Carbohydrate polymers*, **227**, 115348.

Yaylı, N., (2013). Uçucu Yağlar ve Tıbbi Kullanımları. 1. İlaç Kimyası, Üretimi, Teknolojisi, Standardizasyonu Kongresi, *Kimyagerler Derneği*, 29-31, Antalya.

Yilmaz, P., Demirhan, E., Ozbek, B. (2022). Development of *Ficus carica* Linn leaves extract incorporated chitosan films for active food packaging materials and investigation of their properties. *Food Bioscience*, **46**, 101542.

Zivanovic, S., Chi, S., Draughon, A. F. (2005). Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of food science*, **70(1)**, M45-M51.



ÖZGEÇMİŞ (CV)

Kişisel Bilgiler

Ad ve Soyad : IMAN ALHVEİS

Eğitim Bilgileri

Yüksek Lisans : Gaziantep Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Biyoloji Bölümü, 2020-2022

Lisans : Gaziantep Üniversitesi / Fen Edebiyat Fakültesi / Biyoloji Bölümü (Arapça Programı), 2016-2019

Yayınlar

Uluslararası Kongre

Alhweis, I, Kepekçi, R., A., (2022). Antibacterial Activities Of The Extracts Of Pistachio Hull Prepared In Different Solvents. International Asian Congress On Contemporary Sciences-VI / May 27-29, 2022 /Van, Turkey. **134.**