

## **MERCANKÖŞK (*OREGANUM HERACLEOTICUM L.*) VE BAHÇE KEKİĞİ (*THYMUS VULGARIS L.*) UÇUCU YAĞI İÇEREN SOYA BAZLI YENİLEBİLİR FİMLERİN PATOJEN BAKTERİLERE KARŞI ANTİMİKROBİYEL ETKİLERİ**

**Gökçe Polat Yemiş<sup>1,\*</sup>, Zehra Karagöz Emiroğlu<sup>2</sup>, Kezban Candoğan<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sakarya

<sup>2</sup>Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara

<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş / Received: 08.12.2016; Kabul / Accepted: 07.01.2017; Online baskı / Published online: 08.02.2017

Polat Yemiş, G., Karagöz Emiroğlu Z., Candoğan, K. (2017). Mercanköşk (*Oreganum heracleoticum L.*) ve bahçe kekiği (*Thymus vulgaris L.*) uçucu yağı içeren soya bazlı yenilebilir filmlerin patojen bakterilere karşı antimikrobiyel etkileri *GIDA* (2017) 42 (3): 268-276 doi: 10.15237/gida.GD16106

### **Öz**

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda (%1, 2, 3, 4 ve 5) mercanköşk (*Oreganum heracleoticum L.*) ve bahçe kekiği (*Thymus vulgaris L.*) uçucu yağı ilave edilerek hazırlanmış izole soya proteini bazlı yenilebilir filmlerin *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Enteritidis ve *Bacillus cereus* üzerine antimikrobiyel etkileri belirlenmiştir. Mercanköşk ve bahçe kekiği uçucu yağı içeren filmlerin minimum konsantrasyonda (%1 w/v) tüm test bakterilerine karşı etkin antibakteriyel aktivite gösterdiği, kekik uçucu yağı içermeyen kontrol filmlerinin ise hiçbir şekilde inhibisyon zonu oluşturmadığı saptanmıştır. *S. Enteritidis* % 1 konsantrasyonda uçucu yağ içeren yenilebilir filmlere karşı en duyarlı bakteri olarak belirlenirken, bunu *L. monocytogenes* ve *B. cereus* izlemiştir. Yapılan bu çalışma ile mercanköşk ve bahçe kekiği uçucu yağlarının soya proteini bazlı yenilebilir filmlerle birlikte kullanımının gıdalarda patojen kontrolü açısından gelecek vadeden bir uygulama olduğu ortaya konmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Yenilebilir film, antimikrobiyel aktivite, bahçe kekiği uçucu yağı, mercanköşk uçucu yağı

## **ANTIMICROBIAL EFFECTS OF SOY PROTEIN BASED EDIBLE FILM CONTAINING OREGANO (*OREGANUM HERACLEOTICUM L.*) AND THYME (*THYMUS VULGARIS L.*) ESSENTIAL OILS AGAINST FOODBORNE PATHOGENS**

### **Abstract**

In this present study, antibacterial effects of soy protein edible coatings incorporated with different concentrations (1, 2, 3, 4 or 5%) of essential oils from oregano (*Oreganum heracleoticum L.*) or thyme (*Thymus vulgaris L.*) essential oils (EOs) were determined against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Enteritidis and *Bacillus cereus*. Oregano and thyme essential oils showed inhibition against all test organisms even at minimum concentration (1.0%) applied into the film formulation. Soy protein coating solution without addition of essential oil had no inhibitory effect against none of the pathogenic bacteria tested. Data from antibacterial activity test reveal that soy protein films without addition of essential oil had no inhibitory effect against none of the pathogenic bacteria tested. Greater antimicrobial activity of soy edible films containing essential oils was demonstrated against *S. Enteritidis* followed by *L. monocytogenes* and *B. cereus*. The results of this study indicated that the oregano or thyme incorporated soy protein edible films could be a promising application for control of pathogens in food.

**Keywords:** Edible film, antimicrobial activity, thyme essential oil, oregano essential oil

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ gokceyemis@sakarya.edu.tr,

☎ (+90) 264 295 7038,

☎ (+90) 264 295 5601

## GİRİŞ

Son yıllarda tüketicinin besin değeri yüksek, lezzetli, doğal ve güvenli gıdalara olan talebi nedeniyle, gıda bilimi ve teknolojisi alanında yapılan araştırmaların büyük bir bölümü yeni koruma teknolojilerine odaklanmıştır. Bu teknolojiler ise az işlem görmüş ve özellikle yapay katkı maddelerinden arındırılmış gıda üretimini amaçlamaktadır. Aktif ambalajlama gibi yeni ambalaj sistemleri bu teknolojiler içinde araştırmaların yoğunlaştığı uygulamalardan biri olarak dikkat çekmektedir. Aktif ambalajlama gıdayı sadece dış etkilere karşı korumakla kalmayıp, ambalaj materyaline ilave edilen aktif ajanlarla raf ömrünün uzamasını da sağlamaktadır. Aktif ambalajlamanın birçok formu mevcut olup bunlardan antimikrobiyel film ve kaplamaların kullanımı, gıdalarda ve özellikle taze et ürünleri ile süt ürünlerinde uygulama alanı bulan bir gıda koruma tekniğidir (1, 2).

Antimikrobiyel ambalaj materyalleri genellikle sentetik plastik bazlı iken son yıllarda çevre bilincinin de gelişmesiyle biyobozunur ve yenilebilir film ve kaplamaların bu amaçla kullanımı yaygınlaşmıştır. Yenilebilir filmler, basit üretim teknolojisi gerektirmeleri, ekonomik olmaları, doğal bileşiklerden elde edilmeleri, fonksiyonel özelliklerindeki çeşitlilik ve biyolojik olarak bozunabilmeleri nedeniyle son zamanlarda dikkat çeken ambalaj materyalleridir (3). Son yıllarda yapılan araştırmalarda, yağlar (katı yağlar, balmumları, sıvı yağlar), polisakaritler (nişasta, alginat, selüloz eteri, kitozan, karragenan, pektin) ya da proteinlerden (kazein, peyniraltı suyu proteini, jelatin, fibrinojen, soya proteini, buğday gluteni, mısır proteini, yumurta albumini) oluşan yenilebilir film ve kaplamaların gıdalarda teknolojik kaliteyi iyileştirmesinin yanı sıra gıdaların tazelik ve güvenliğini artırdığı görülmüştür. Bunlar içerisinde gıda teknolojisinde yaygın olarak kullanılan polisakarit ve protein bazlı film ve kaplamalardır (4). Yenilebilir film ve kaplama üretiminde kullanılan proteinler, mısır proteini, peyniraltı suyu proteini ve soya proteinleridir. Protein bazlı filmlere olan ilgiyle beraber, düşük oksijen geçirgenliğine sahip olmaları, LDPE-düşük yoğunluklu polietilen, HDPE-yüksek yoğunluklu polietilen, PS-polistren gibi birçok plastik bazlı filmlere göre daha iyi bariyerleme özelliği göstermeleri ve mekanik dirençleri nedeniyle

soya proteinleri, yenilebilir film üretiminde hammadde olarak kullanımı önerilen proteinlerden biri olmuştur (5).

Yenilebilir film ve kaplamalar nem kaybı, oksidasyon ve mikrobiyel bozulmalara karşı etkili olmaları ve nem, gaz ve diğer uçucu maddelerin difüzyonuna karşı bariyerleme özelliklerinin yanında tatlandırıcılar, antimikrobiyel maddeler, antioksidanlar, vitaminler ve renklendiricileri de içeren birçok katkı maddesi için taşıyıcı olarak görev yaparlar (6). Yenilebilir film formülasyonuna yüksek antioksidan özellikleriyle bilinen bazı doğal pigment maddelerinin yanı sıra, yüksek antimikrobiyel özellikteki uçucu yağlar, organik asitler ve bakteriyosinler de ilave edilebilmektedir (7). Antimikrobiyel yenilebilir film üretimi üzerine yapılan çalışmalar, doğrudan filme dahil edilebilen biyolojik türevli antimikrobiyel materyallerin daha etkin olacağı görüşü üzerinde odaklanmıştır. Yüksek fenolik içerikleri nedeniyle güçlü antimikrobiyel aktiviteye sahip olan uçucu yağların film formülasyonlarına ilavesinin filmlerin antimikrobiyel etkisini önemli oranda arttırdığı yapılan birçok çalışmada ortaya konmuştur (8-10). Seydim ve Sarıkuş (11), mercanköşk, biberiye ve sarımsak uçucu yağları ilave edilmiş peyniraltı suyu proteini bazlı yenilebilir filmlerin in-vitro koşullarda antimikrobiyel aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmada, film içinde kekik ve sarımsak uçucu yağlarının biberiye uçucu yağına kıyasla *S. aureus*, *S. enteritidis*, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *L. plantarum*'a karşı etkin inhibisyon zonu verdiğini bildirmişlerdir. Ousallah ve ark. (12), taze et dilimi yüzeyine inoküle edilen *Pseudomonas* spp. ve *E. coli* O157:H7 bakterilerinin gelişimini değerlendirmek amacıyla %1 oranında mercanköşk uçucu yağı içeren süt proteini bazlı yenilebilir filmin antibakteriyel aktivitesi üzerinde çalışmışlardır. Sonuçta uçucu yağ içeren filmin, uçucu yağ içermeyen film ile muamele edilen et dilimi ve kontrol grubu ile kıyaslandığında mikroorganizma sayısını önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Kitozan içeren filmlere kekik, fesleğen ve anason uçucu yağlarının ilavesinin bologna salamalarında antimikrobiyel etkinliğinin incelendiği bir araştırmada, *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'e karşı en etkili uygulamanın kekik yağı içeren kitozan filmi olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kekik uçucu yağının kitozan filmine ilavesinin film materyalinin özelliklerini de olumlu

etkilediği bildirilmiştir (13). Uçucu yağlar içinde kekik yağlarının mikroorganizmalar üzerinde etkili oldukları birçok araştırmada bildirilmiştir (14-17). Kekik türleri arasında geniş flavonoid ve fenolik asit içeriğine sahip iki önemli çeşit *Thymus vulgaris* (bahçe kekigi) ve *Oreganum heracleoticum* (mercanköşk)'dur. Güçlü antimikrobiyel ve antioksidan özelliğindeki timol ve karvakrol bahçe kekigi ve mercanköşk çeşitlerinin bileşiminin büyük bir kısmını oluştururlar (15, 16).

Bu çalışmada, iki farklı çeşit kekik yağı mercanköşk (*Oregano- Oreganum heracleoticum* L.) ve bahçe kekigi (*Thyme- Thymus vulgaris* L.) ilave edilerek hazırlanmış soya proteini bazlı yenilebilir filmlerin *L. monocytogenes*, *Salmonella* Enteritidis ve *B. cereus* üzerine antimikrobiyel etkileri belirlenmiştir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Araştırmada yenilebilir film materyali üretiminde kullanılan izole soya proteini (>%90 protein içeriği), Gürhak Gıda ve Kimyevi Maddeler San. Dış Tic. Ltd. Şti. (İstanbul)'nden, mercanköşk-oregano (*Oreganum heracleoticum* L.) ve bahçe kekigi-thyme (*Thymus vulgaris* L.) uçucu yağları ise Timtaş Tarım İlaç ve Mahsulleri Ticaret A.Ş.(Mersin)'den temin edilmiştir.

### Bakteri kültürü

Araştırmada, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilen *L. monocytogenes* (ATCC 7644), *S. Enteritidis* (ATCC 13076) ve *B. cereus* bakteri kültürleri kullanılmıştır. Bakteri kültürleri % 15 gliserol içeren Tryptic Soy Broth (TSB, Merck) besiyerinde -20 °C'da dondurularak muhafaza edilmiştir.

### Yenilebilir film üretimi

Soya proteini bazlı yenilebilir film çözeltisi hazırlanmasında, Choi ve ark. (18) ve Zivanovic ve ark. (19) tarafından önerilen yöntemler modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla, %5 (w/v) oranında izole soya proteini destile su içerisine manyetik karıştırıcıda karıştırılarak yavaş yavaş eklenmiştir. Karışıma plastikleştirici olarak %3.5 oranında gliserol katılmıştır. Manyetik karıştırıcıda

5 dakika süre ile homojen hale getirilen karışımın pH sı 0.1 N NaOH ile pH 10'a ayarlanmıştır. Daha sonra 90 °C' deki su banyosunda 30 dakika bekletilmiş ve oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. 40 °C'ye soğutulan karışıma % 0.5 oranındaki Tween 20 ile süspanse edilmiş % 1, 2, 3, 4 ve 5 (w/v) oranında mercanköşk (O) ya da bahçe kekigi (T) uçucu yağı ilave edilerek homojenizatör (İka Ultra-Turrax T25) ile 13500 rpm'de 1 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Kekik yağı içeren (O veya T) ve kekik yağı içermeyen (SP) izole soya protein bazlı film çözelti grupları, hava kabarcıklarını elemine etmek amacıyla 4 kat peynir bezi ile vakum pompası kullanılarak süzölmüş ve elde edilen film çözeltilerinden steril plastik Petri kaplarına 15±0.1 g tartılarak 30°C' deki kurutma dolabında 72 saat kurutulmuştur.

### Yenilebilir film disklerinin kalınlık ve ağırlık değerlerinin belirlenmesi

Film kalınlıkları dijital mikrometre (Mitutoyo, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler rastgele 15 farklı bölgeden alınarak gerçekleştirilmiştir. Antibakteriyel aktivite testi için hazırlanan film diskleri 17 mm çapında kesilerek tartılmıştır. Farklı konsantrasyonda O ve T uçucu yağı içeren ve uçucu yağ içermeyen film disklerinin (SP) kalınlık ve ağırlık ortalama değerleri sırasıyla 0.310±0.082; 0.321±0.062; 0.200±0.007 mm ve 0.095±0.021; 0.094±0.018; 0.056±0.001 g olarak belirlenmiştir.

### Antibakteriyel aktivite testi

Yenilebilir filmlerin antibakteriyel aktivitesi Pranoto ve ark. (20) tarafından bildirilen yöntemle göre belirlenmiştir. Test bakterileri, Tryptic Soy Broth (TSB, Merck) besiyerinde 37°C'da 24 saat inkübe edilerek aktive edilmiş ve steril swab ile Tryptic Soy Agar (TSA, Merck) besiyeri yüzeyine yayılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (%1, 2, 3, 4, 5) O ve T uçucu yağlarını içeren 17 mm çapındaki filmler besiyerine yerleştirilmiş ve 37 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. O ve T uçucu yağlarını içermeyen izole soya proteini bazlı filmler ise kontrol olarak değerlendirilmiştir. İnkübasyon sonrasında disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapı milimetre olarak ölçülmüştür. Denemeler iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

### İstatistiksel değerlendirme

Araştırma sonucunda elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi SAS istatistik paket programı kullanılarak varyans analiz tekniği (ANOVA) ile yapılmış ve farklılık görülen gruplarda farklılığın hangi düzeyde olduğu LSD (Asgari Önemli Fark) testi uygulanarak ( $P<0.05$ ) belirlenmiştir.

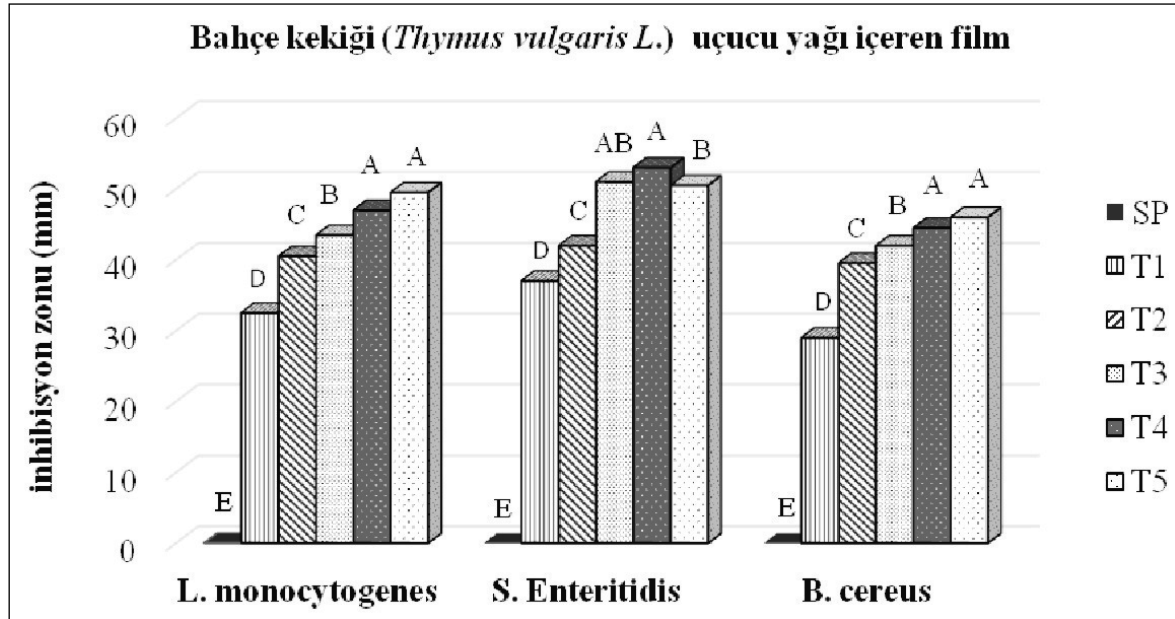
### SONUÇ ve TARTIŞMA

Farklı konsantrasyonlarda O ve T uçucu yağ ile hazırlanan (%0, 1, 2, 3, 4 ve 5) yenilebilir film diskleri ile kekik yağı içermeyen soya proteini bazlı yenilebilir film disklerinin *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* ve *B. cereus*'a karşı gösterdiği inhibisyon zonu çapları Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterilmiştir.

Yapılan agar difüzyon testinde, O ve T uçucu yağ içeren filmlerin minimum konsantrasyonda (%1 w/v) tüm test bakterilerine karşı etkin antibakteriyel aktivite gösterdiği, kekik uçucu yağ içermeyen kontrol filmlerinin ise hiçbir şekilde inhibisyon zonu vermediği belirlenmiştir (Şekil 1 ve Şekil 2). Genellikle, uçucu yağ konsantrasyonu arttıkça filmlerin inhibisyon etkisi de artış göstermiştir ( $P<0.05$ ). Araştırma bulgularına

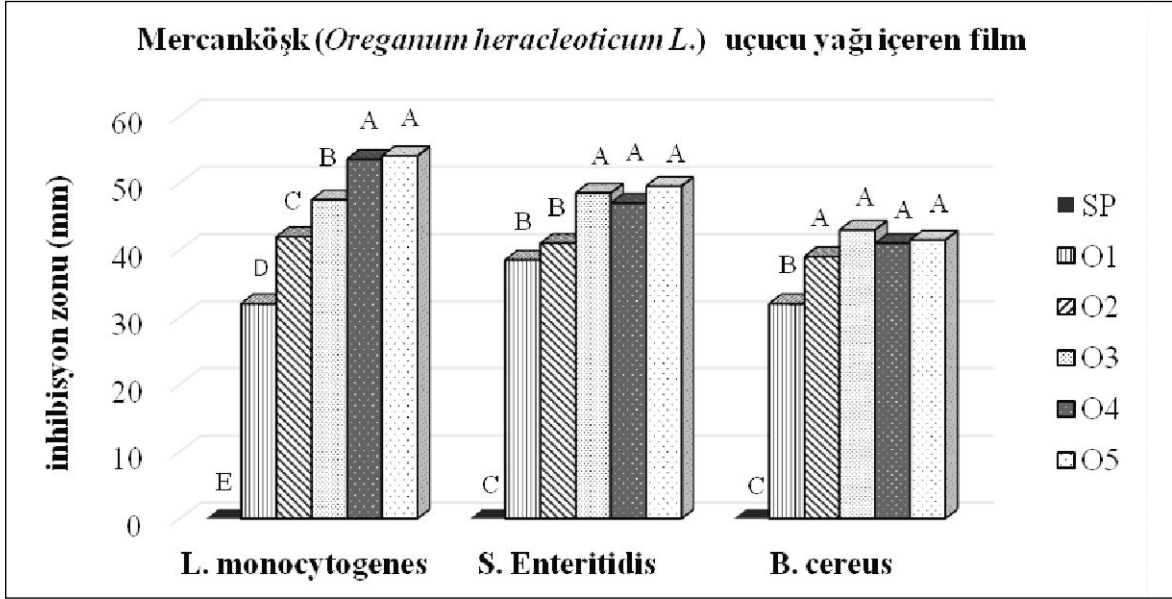
paralel olarak, Royo ve ark. (21), %1 oranında O uçucu yağ içeren peyniraltı suyu proteini bazlı yenilebilir filmlerin *L. innocua*, *S. Enteritidis* ve *S. aureus*'a karşı etkili olduğunu bildirirken, Seydim ve Sarıküş (11) minimum %2 düzeyde O içeren peyniraltı suyu proteini bazlı yenilebilir filmlerin *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Yapılan araştırmalarda O uçucu yağın ait antibakteriyel etkinlik düzeyleri arasındaki bu farklılıkların, uçucu yağ kompozisyonu, uçucu yağdaki aktif bileşiklerin difüzyon hızı ve suş farklılıklarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çeşitli uçucu yağların etkisinin farklı gıda patojenlerine karşı incelendiği bir çalışmada, etkin antibakteriyel aktivite düzeyi, etken maddenin hedef bakteriye karşı en yüksek inhibisyonun görüldüğü sınır konsantrasyon olarak bildirilmiştir (22). *L. monocytogenes* ile yapılan antimikrobiyal aktivite testinde, O uçucu yağ içeren film disklerinin verdiği zon çapları konsantrasyon arttıkça artmış ve konsantrasyonlar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Bakteri için O uçucu yağ ile yapılan denemede etkin antimikrobiyal aktivite düzeyinin %4 olduğu ve %4 ile %5 konsantrasyonda inhibisyon zonu

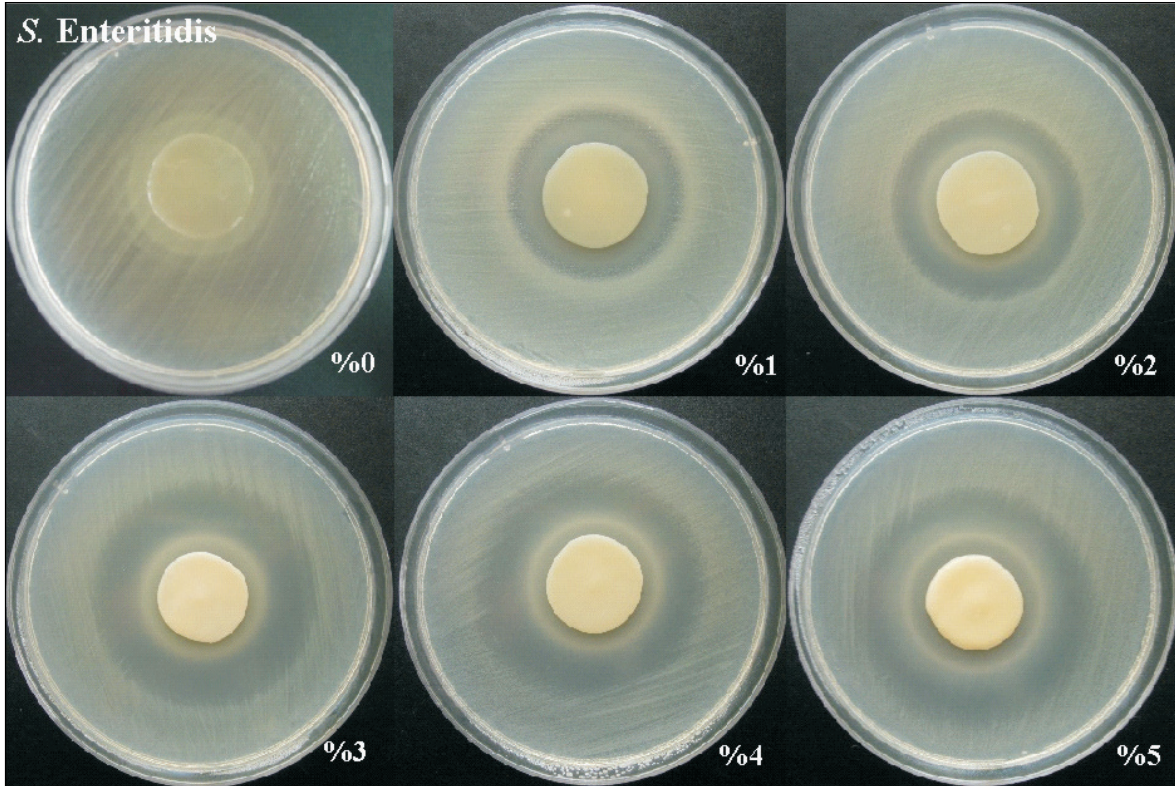


Şekil 1. Farklı konsantrasyonda (%1, 2, 3, 4, 5) bahçe kekiği uçucu yağı içeren soya proteini bazlı filmlerin test bakterilerine karşı gösterdiği inhibisyon zonları. Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $P<0.05$ )  
Figure 1. Inhibition zone diameters yielded by soy protein based edible film disks with various concentrations (0, 1, 2, 3, 4 and 5%) of thyme essential oil against test organisms. Bars with different superscript letters in each group are significantly different ( $P<0.05$ )





Şekil 2. Farklı konsantrasyonda (%1, 2, 3, 4, 5) mercanköşk uçucu yağı içeren soya proteini bazlı filmlerin test bakterilerine karşı gösterdiği inhibisyon zonları. Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $P<0.05$ )  
 Figure 2. Inhibition zone diameters yielded by soy protein based edible film disks with various concentrations (0, 1, 2, 3, 4 and 5%) of oregano essential oil against test organisms. Bars with different superscript letters in each group are significantly different ( $P<0.05$ )

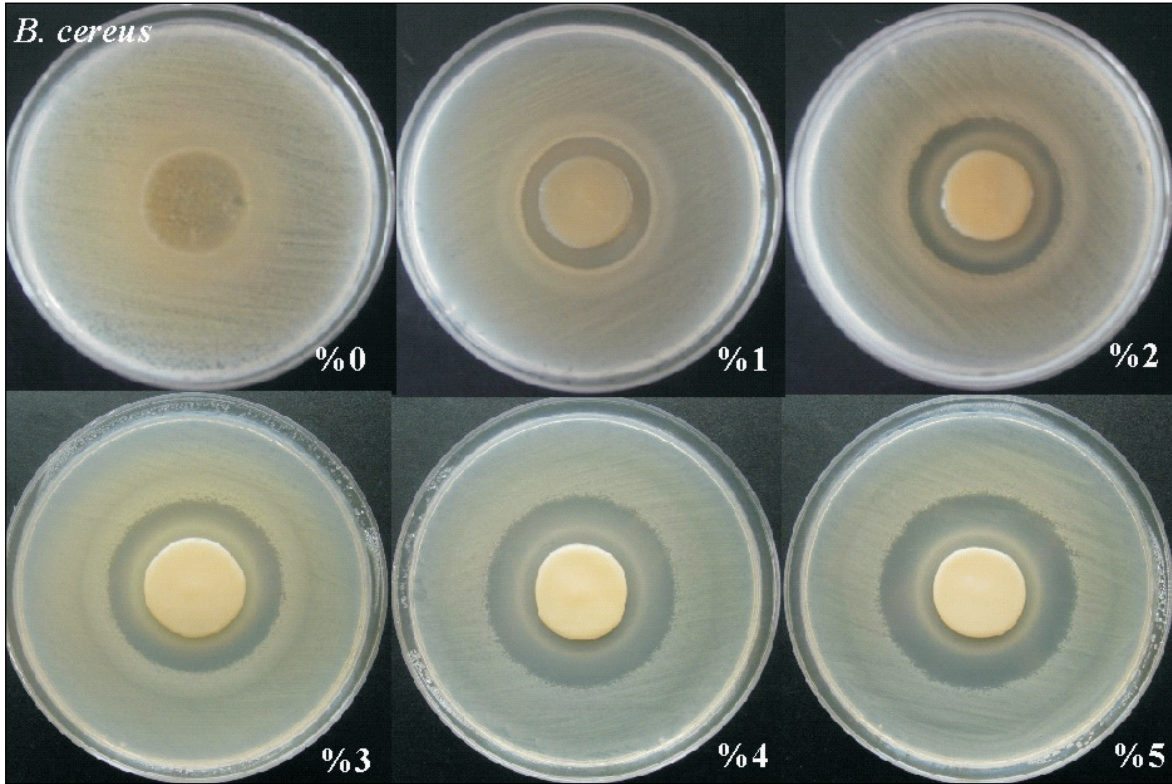


Şekil 3. Farklı konsantrasyonlarda mercanköşk uçucu yağı içeren soya proteini bazlı filmlerin *S. Enteritidis*'e karşı antibakteriyel aktivitesi  
 Figure 3. Antibacterial activity of soy protein edible films incorporated with various concentrations of oregano essential oil against *S. Enteritidis*

çapları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ( $P>0.05$ ) belirlenmiştir (Şekil 2). T uçucu yağı için ise etkin antimikrobiyel aktivite düzeyi %5 olarak belirlenmiştir. T uçucu yağı içeren yenilebilir film disklerinde aynı grup içinde ortalamalar arasındaki fark konsantrasyon artışı ile beraber istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Şekil 1). Konsantrasyonlar arasında grup farkları değerlendirildiğinde ise, %3, %4 ve %5 konsantrasyonlar arasında O ve T uçucu yağlarının verdiği zon inhibisyon çapları arasındaki farklar önemli bulunmuş ( $P<0.05$ ) ve O uçucu yağının *L. monocytogenes* üzerinde T uçucu yağına göre daha etkili olduğu saptanmıştır. O uçucu yağı içeren yenilebilir film disklerinin *S. Enteritidis* için verdiği inhibisyon zon çapları incelendiğinde %1 ile %2 düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olmazken ( $P>0.05$ ), %2 ile %3 konsantrasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuş ( $P<0.05$ ) ve bu noktadan sonra konsantrasyon artışı etkinlik düzeyini değiştirmemiştir (Şekil 2, Şekil 3). Dolayısıyla %3 konsantrasyon

düzei *S. Enteritidis* için etkin antimikrobiyel aktivite değeri olarak tespit edilmiştir. T uçucu yağı sonuçları değerlendirildiğinde ise, %4 düzeyine kadar konsantrasyon arttıkça etkinliğin arttığı ve etkin antimikrobiyal aktivite düzeyinin %4 olduğu belirlenmiştir (Şekil 1).

*B. cereus* için, T uçucu yağını içeren filmlerden elde edilen inhibisyon zonu çapları arasındaki farkın %1, %2, %3 ve %4 konsantrasyonlar için önemli olduğu ( $P<0.05$ ) buna karşın %4 konsantrasyondan sonraki değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı ( $P>0.05$ ) belirlenmiştir (Şekil 1, Şekil 4). Diğer yandan, O uçucu yağı içeren filmlerin verdiği inhibisyon çapları incelendiğinde, %1 ile %2 konsantrasyondaki film disklerinin verdiği zon çapları arasındaki farkın önemli olduğu ( $P<0.05$ ) ve diğer konsantrasyonlar boyunca etkinin sabit kaldığı görülmektedir (Şekil 2). Aynı konsantrasyon arasındaki gruplar karşılaştırıldığında O ve T içeren filmlerin *B. cereus*'a karşı benzer antimikrobiyel etki gösterdikleri söylenebilir.



Şekil 4. Farklı konsantrasyonlarda bahçe kekiği uçucu yağı içeren soya proteini bazlı filmlerin *B. cereus*'a karşı antibakteriyel aktivitesi

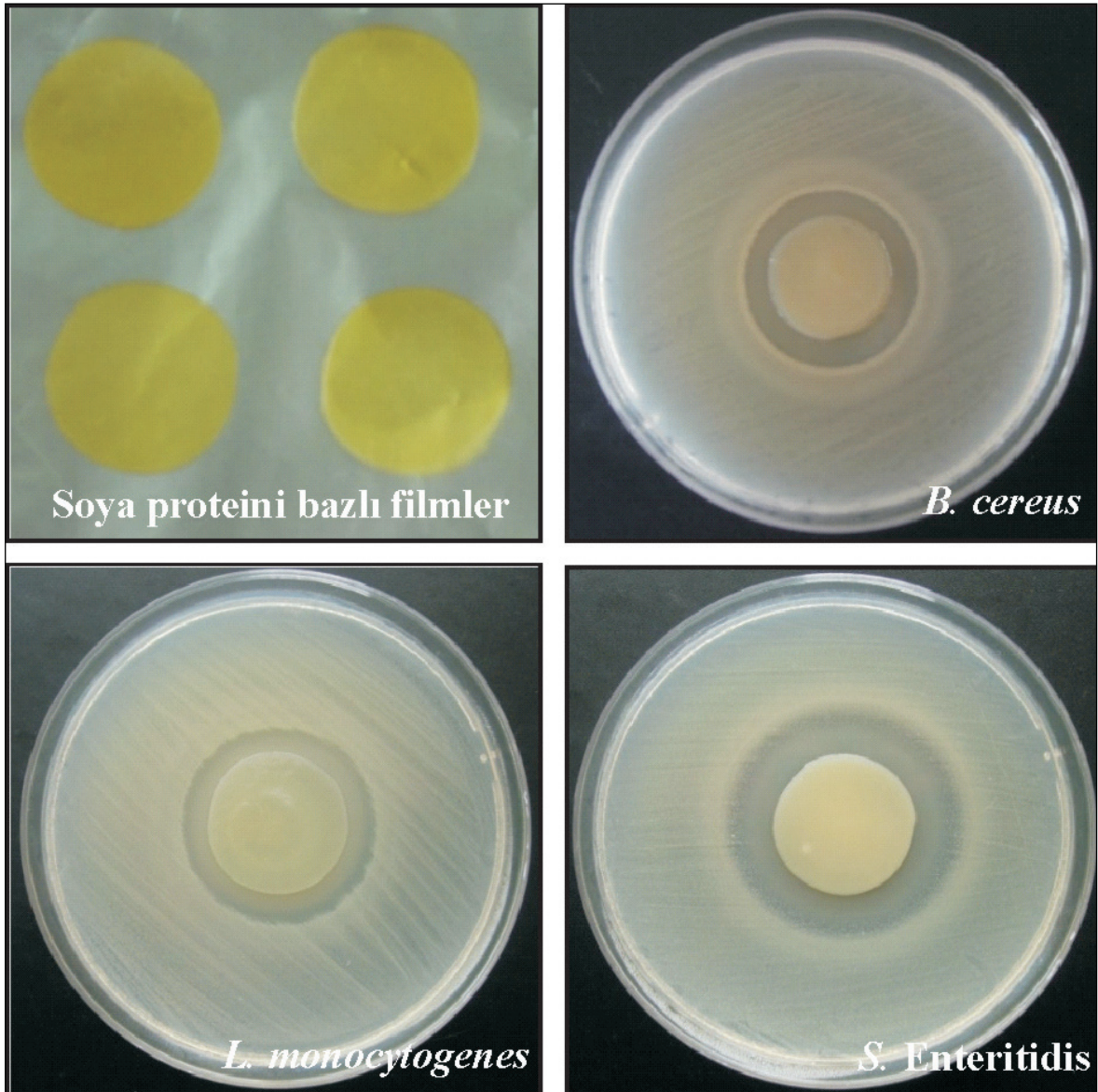
Figure 4. Antibacterial activity of soy protein edible films incorporated with various concentrations of thyme essential oil against *B. cereus*



Genel bir değerlendirme yapıldığında *S. Enteritidis* %1 konsantrasyonda T ve O içeren yenilebilir filmlere karşı sırasıyla 37 mm ve 38.5 mm inhibisyon zonu çapı ile en duyarlı bakteri olarak belirlenirken, bunu *L. monocytogenes* ve *B. cereus* izlemiştir (Şekil 5). Araştırmamızda diğer test bakterilerden elde edilen zon çapları kıyaslandığında *B. cereus*'un kekik uçucu yağına karşı daha dirençli olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ). Benzer şekilde, Jouki ve ark. (23) T uçucu yağı ilave edilmiş ayva çekirdeği jelinden üretilen yenilebilir filmlerin in-vitro

koşullarda antibakteriyel aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmada, %2 T uçucu yağı içeren filmlerin *S. Typhimurium*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7 ve *Y. enterocolitica*'ya karşı *B. cereus*'a kıyasla daha etkin olduğunu belirlemişlerdir.

Kekik uçucu yağında yüksek oranda bulunan fenolik bileşiklerden timol, karvakrol, p-simen ve  $\gamma$ -terpinen antimikrobiyel etkiden sorumlu bileşiklerdir. Kekik uçucu yağının antimikrobiyel etkisi, yapı ve fonksiyon değişikliği ile sitoplazma zarında görülmektedir. Sitoplazmik zarın seçici



Şekil 4. Farklı konsantrasyonlarda bahçe kekliği uçucu yağı içeren soya proteini bazlı filmlerin *B. cereus*'a karşı antibakteriyel aktivitesi

Figure 4. Antibacterial activity of soy protein edible films incorporated with various concentrations of thyme essential oil against *B. cereus*

geçirgenliğinin kaybı çoğunlukla hücre ölümünün nedeni olarak belirtilmektedir. Yapılan araştırmalar genel olarak Gram pozitif bakterilerin bitkisel uçucu yağlara karşı Gram negatif bakterilere göre daha hassas olduğunu ortaya koymuştur. Gram negatif bakterilerin uçucu yağlara karşı olan direnci, hidrofobik bileşiklere karşı hücre içine girişi için bariyer özelliği gösteren hidrofilik dış membrana sahip olmaları ile ilişkilendirilmektedir (15, 24). O uçucu yağı ilavesi ile antibakteriyel özellik kazandırılmış aljinat filmlerinin etkinliğinin belirlendiği bir araştırmada, yukarıdaki literatür bilgisi ile uyumlu olarak, uçucu yağ içeren filmlerin Gram pozitif test bakterileri üzerine (*S. aureus*, *L. monocytogenes*) Gram negatif test bakterilerine kıyasla (*E. coli*, *S. Enteritidis*) daha etkin olduğu bildirilmiştir (25). Buna karşın araştırmamızda *S. Enteritidis*'in kekik uçucu yağına karşı diğer test bakterilerine göre daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Bu durumun nedeninin *S. Enteritidis* alt türlerine özgü direnç mekanizmalarının farklılığı ile ilgili olabileceği varsayılmaktadır.

Yapılan bu çalışma ile O ve T uçucu yağları ile antimikrobiyel özellik kazandırılmış olan soya bazlı yenilebilir filmlerin test edilen gıda kaynaklı patojenlere karşı etkinliği ortaya konmuştur. Yenilebilir filmlerle birlikte antimikrobiyel ajanların kullanıldığı çalışmaların çoğu model sistemlerle sınırlıdır. Özellikle doğal bitki ekstraktlarının biyobozunur ambalaj sistemlerinde kullanılma potansiyeline yönelik araştırmalar önem taşımaktadır. O ve T uçucu yağlarının soya proteini bazlı yenilebilir filmlerle birlikte gıdalarda kullanımı, gıda güvenliği ve raf ömrü açısından gelecek vadeden bir uygulamadır. Uçucu yağların yüksek konsantrasyonlarda kullanımının gıdalarda istenmeyen organoleptik değişikliklere yol açabileceği de dikkate alınarak yapılacak çalışmalar duyu analizler ile de desteklenmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Devlighere F, Vermeiren L, Debevere J. 2004. New preservation technologies: possibilities and limitations. *Int Dairy J*, 14, 273-285.
2. Vermeiren L, Devlighere F, Van Beest M, de Kruijf N, Debevere J. 1999. Developments in the active packaging of foods. *Trends in Food Sci and Techn*, 10, 77-86.
3. Ayana B, Turhan KN. 2010. Gıda ambalajlamasında antimikrobiyal madde içeren yenilebilir filmler/kaplamalar ve uygulamaları. *Gıda*, 35 (2), 151-158.
4. Gennadios A, Hanna MA, Kurth LB. 1997. Application edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review. *LWT - Food Sci Technol*, 30, 337-350.
5. Swain SN, Biswal SM, Nanda PK, Nayak PL. 2004. Biodegradable soy-base plastics: Opportunities and challenges. *J Polym Environ*, 12(1), 35-42.
6. Guillard V, Broyart B, Bonazzi C, Guilbert S, Gontard N. 2003. Preventing moisture transfer in a composite food using edible films: Experimental and mathematical study. *J Food Sci*, 68(7), 2267-2277.
7. Vermeiren L, Devlighere F, Debevere J. 2002. Effectiveness of some antimicrobial packaging concepts. *Food Addit Contam*, 19, 163-171.
8. Jouki M, Fazdi FT, Mortazavi SY, Koocheki A. 2014. Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocoll*, 36, 9-19.
9. Fernández-Pan I, Royo M, Maté JI. 2012. Antimicrobial activity of whey protein isolate edible films with essential oils against food spoilers and foodborne pathogens. *J Food Sci*, 77, 383-390.
10. Min BJ, Oh JH. 2009. Antimicrobial activity of catfish gelatin coating containing origanum (*Thymus capitatus*) oil against gram-negative pathogenic bacteria. *J Food Sci*, 74, 143-148.
11. Seydim AC, Sarikus G. 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res Int*, 39, 639-644.
12. Oussalah M, Caillet S, Salmieri S, Saucier L, Lacroix M. 2004. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *J Agric Food Chem*, 52, 5598-5605.
13. Zivanovic S, Chi S, Draughon AF. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *J Food Sci*, 70 (1), 45-50.
14. Paster, N, Juven BJ, Shaaya E. 1990. Inhibitory effects oregano and thyme essential oils on moulds and food born bacteria. *Lett Appl Microbiol*, 11, 33-37.



15. Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *Int J Food Microbiol*, 94, 223-253.
16. Sánchez-González L, Vargas M, González-Martínez C, Chiralt A, Cháfer, M. 2011. Use of essential oils in bioactive edible coatings. *Food Eng Rev*, 3, 1-16.
17. Silva N, Alves S, Gonçalves A, Amaral JS, Poeta P. 2013. Antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean aromatic plants against several foodborne and spoilage bacteria. *Food Sci Technol Int*, 19, 503-10.
18. Choi SG, Kim KM, Hanna MA, Weller CL, Kerr WL. 2003. Molecular dynamics of soy-protein isolate films plasticized by water and glycerol. *J Food Sci*, 68 (8), 2516-2522.
19. Zivanovic S, Chi S, Draughon AF. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *J Food Sci*, 70 (1), 45-50.
20. Pranoto Y, Rakshit SK, Salokhe VM. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT - Food Sci Technol*, 38, 859-865.
21. Royo M, Fernandez-Pan I, Mate JI. 2010. Antimicrobial effectiveness of oregano and sage essential oils incorporated into whey protein film sor cellulose-based filter paper. *J Sci Food Agric*, 90, 1513-1519
22. Smith-Palmer A, Steward J, Fyfe L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett Appl Microbiol*, 26, 118-22.
23. Jouki M, Mortazavi SY, Fazdi FT, Koocheki A. 2014. Characterization of antioxidant-antibacterial quince seed mucilage films containing thyme essential oil. *Carbohydr Polym*, 99, 537-546.
24. Evren M ve Tekgüler B. 2011. Uçucu Yağların Antimikrobiyel Özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 9(3), 27-40.
25. Benavides S, Villalobos-Carvajal R, Reyes JE. 2012. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *J Food Eng*, 110, 232-239.