

Atf İçin: Erdoğan, S. F. ve Erdal-Altıntaş, Ö. (2023). Uçucu Yağlar İçeren Kitosan Bazlı Filmlerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13(1), 143-151.

To Cite: Erdoğan, S. F. & Erdal-Altıntaş, Ö. (2023). Investigation of Antimicrobial Activities of Chitosan Based Films That Contain Essential Oils. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(1), 143-151.

Uçucu Yağlar İçeren Kitosan Bazlı Filmlerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi

Sevim Feyza ERDOĞMUŞ¹, Özlem ERDAL ALTINTAŞ²

Öne Çıkanlar:

- Gıda koruma
- Polimer
- Mikroorganizma

Anahtar Kelimeler:

- Antimikrobiyal aktivite
- kitosan film
- uçucu yağ

ÖZET:

Bu çalışmada, kitosan bazlı film üretilerek bu filmlerin yüzey özellikleri incelenmiş ve en uygun formülasyon belirlenmiştir. Film yapısının karakterizasyonu, taramalı elektron mikroskobu, fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi, x-ışınları difraksiyonu analizleri yapılarak değerlendirilmiştir. Bu formülasyon farklı konsantrasyonlarda çay ağacı ve/veya melisa uçucu yağı ilavesi yapılarak antimikrobiyal etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Filmler mikroyapı açısından değerlendirildiğinde homojen ve esnek bir yüzey yapısı oluşturmuştur. Film yapılarının antimikrobiyal aktivitesi *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* NRRLB 4420, *Enterococcus faecalis* ATCC 51289, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Bacillus subtilis* NRS 744, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 11778 ve *Candida albicans* ATCC 10231 üzerinde test edilmiştir. Test edilen film yapıları patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki göstermiştir. Uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteyi arttırdığı belirlenmiştir.

Investigation of Antimicrobial Activities of Chitosan Based Films That Contain Essential Oils

Highlights:

- Food preservation
- Polymer
- Microorganism

Keywords:

- Antimicrobial activity,
- chitosan film,
- essential oil

ABSTRACT:

In this study, chitosan based films were produced and the most suitable formula in terms of surface properties was determined. The characterization of the film layer was evaluated by scanning electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, x-ray diffraction analyses. Different concentrations of tea tree and/or lemon balm essential oil were added to this formula and their antimicrobial activities were compared. When the films were evaluated in terms of microstructure, they formed a homogeneous and flexible surface structure. Antimicrobial activities of films were tested on *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* NRRLB 4420, *Enterococcus faecalis* ATCC 51289, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Bacillus subtilis* NRS 744, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 11778 and *Candida albicans* ATCC 10231. The tested film structures showed an antimicrobial effect on the pathogenic microorganisms. It has been determined that essential oils increase the antimicrobial activity.

¹ Sevim Feyza ERDOĞMUŞ (Orcid ID: 0000-0002-4319-7558), Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye

² Özlem ERDAL ALTINTAŞ (Orcid ID: 0000-0003-4680-1738), Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Şuhot Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Sevim Feyza ERDOĞMUŞ, e-mail: feyza.erdogmus@afsu.edu.tr

GİRİŞ

Birçok polimer ile biyoaktif bileşen içeren film yapıları elde edilebilmekte ve polimer karışımı içeriğine göre bu filmler yenilebilir özellikte olabilmektedir (Polat, 2007; Dursun ve Oğur, 2012). Polimer karışımı, film döküm kalınlığı ve kurutma koşulları gibi faktörler film yapıları üzerinde etkili olabilmektedir (Dhanapal ve ark., 2012). Kitosan, kitinin kısmi deasetilasyonu sonucu elde edilen, D-glukozamin ve N-asetil D-glukozamin polimerlerinin β -(1,4)-glikozidik bağıyla bağlanması sonucunda oluşan bir polisakarittir (Feyzioğlu, 2016). Kitosan; toksik olmaması, biyobozunur, biyoyumlu olması nedeniyle yenilebilir filmlerin üretiminde kullanılabilir (Sagoo ve ark., 2002; Dutta ve ark., 2009). Bu polimer sahip olduğu pozitif yük nedeniyle biyolojik yüzeylere yapışabilmekte ve böylece kararlı film yapıları oluşturabilmektedir (Dutta ve ark., 2009, Moradi ve ark., 2010; Venkatachalam ve Lekjing, 2020). Özellikle yenilebilir filmler; gıdalarda ve gıda üretiminde kullanılarak tekstür, renk, aroma gibi özelliklerinin korunmasına katkı sağlayabilmektedir. Yapılan araştırmalar, gıda ürünlerinin paketlenmesinde kitosan bazlı yenilebilir filmler kullanıldığında gıda içerisindeki kısmi oksijen basıncının azaldığını, ortamdaki nemin kontrol edilebildiğini ve bu sayede raf ömrünün uzayabildiğini göstermiştir (Feyzioğlu, 2016). Ayrıca, kitosanın antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip bir polimer olduğu bildirilmiştir (Pranoto ve ark., 2005; Beverly ve ark., 2008; Salmieri ve ark., 2014; Noshirvani ve ark., 2017; Han ve ark., 2018; Lee ve ark., 2019). Son yıllarda, yenilebilir filmlerin antimikrobiyal özellikleri artırılarak aktif ve akıllı ambalaj teknolojilerin geliştirilmesinde kullanılabilirleri üzerine yapılan çalışmalara olan ilgi artmaktadır (Tokatlı ve Demirdöven, 2015; Tan ve ark., 2021, Sarengaowa ve ark., 2022). Uçucu yağlar, polimer bazlı filmlerin antimikrobiyal etkinliklerinin geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Santiago-Silva ve ark., 2009; Torlak ve Nizamlioğlu, 2011, Anis, 2022). Uçucu yağlar, içerdikleri biyoaktif bileşenler sayesinde birçok mikroorganizmanın hücre duvar yapısını bozarak gelişimlerini engellemektedir (Ahmad ve ark., 2012). Çay ağacı ve melisa uçucu yağları ülkemizde yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu yağlarının antimikrobiyal etkinliği birçok çalışmada gösterilmiştir (Aslan ve ark., 2021). Fakat, uçucu yağlar yoğun aromaya sahip ve maliyetlerinin yüksek olması sebebiyle gıdaların korunmasında kullanımları sınırlı olmaktadır. Özellikle yenilebilir film yapılarına uçucu yağların eklenmesi ile bu film yapıların antimikrobiyal etkinlikleri artırılabilen gıdaları korumak amacıyla kullanılabilir olmaktadır.

Bu çalışmada, uçucu yağ içeren kitosan bazlı filmler üretilerek karakterize edilmiş ve patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri belirlenmiştir. Elde edilen film yapılarının yüksek antimikrobiyal aktivite göstermesi ve doğal bileşenler içermesi sebebiyle gıdaların muhafazasında yenilebilir film olarak kullanılabilir potansiyeli bulunmaktadır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Film yapılarını elde etmek için düşük (100.000-300.000 MA), yüksek (600.000-800.000 MA) moleküler ağırlığa sahip kitosan polimeri (Acros), çay ağacı ve melisa uçucu yağları ticari olarak satın alınmıştır.

Elde edilen film yapılarının antimikrobiyal etkinliğini araştırmak amacıyla, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* NRRLB 4420, *Enterococcus faecalis* ATCC 51289, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Bacillus subtilis* NRS 744, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 11778 ve *Candida albicans* ATCC 10231 test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Test mikroorganizmaları,

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Kitosan Bazlı Film Elde Edilmesi

Kitosan bazlı film elde etmek için düşük ve yüksek moleküler ağırlığa sahip olan iki farklı kitosan polimeri kullanılmıştır. Bu polimerin farklı konsantrasyonları hazırlanarak, %1 jelatin ve plastikleştirici olarak %0.2 Tween 80, %0.2 gliserol ilave edilerek farklı polimer çözeltileri %1 asetik asit solüsyonunda ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda homojen bir karışım elde edilinceye kadar 40°C'de çözündürülmüş ve steril petri kaplarına farklı miktarlarda dökülerek oda ısısında bir gün boyunca kurutulmuş ve steril petri kaplarına farklı miktarlarda dökülerek oda ısısında bir gün boyunca kurutulmuş bekletilmiştir (Çizelge 1). Daha sonra elde edilen film yapıları fiziksel özellikleri bakımından incelenmiştir. Bu film yapıları arasından en homojen, kırılma olmayan ve şeffaf özelliğe sahip olan film formülasyonu belirlenerek antimikrobiyal etkinliği artırmak amacıyla çay ağacı yağı, melisa yağı ve her ikisinin bir arada eklendiği uçucu yağ içeren film yapıları elde edilmiştir. Tüm çalışmalar üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir

Çizelge 1. Kitosan bazlı film elde edilmesinde kullanılan polimer çözeltileri

Formül Numarası	Kitosan oranı	Petri kaplarına dökülen polimer çözeltisi miktarı (ml)
1	%1 DM- kitosan	15
2	%1 DM- kitosan	10
3	%1 DM- kitosan	5
4	%1 DM- kitosan	3
5	%1 YM- kitosan	15
6	%1 YM- kitosan	10
7	%1 YM- kitosan	5
8	%1 YM- kitosan	3
9	%2 DM- kitosan	5
10	%2 DM- kitosan	3
11	%2 YM- kitosan	5
12	%2 YM- kitosan	3
13	%5 DM- kitosan	5
14	%5 YM- kitosan	5
15	%10 DM- kitosan	5
16	%10 YM- kitosan	5

DM-kitosan: düşük moleküler ağırlığa sahip kitosan, YM-kitosan: yüksek moleküler ağırlığa sahip kitosan

Uçucu Yağ İçeren Kitosan Bazlı Filmlerin Antimikrobiyal Etkinliklerinin Değerlendirilmesi

Kitosan bazlı film elde etmek için hazırlanan formülasyonlardan en uygun fiziksel özelliklere sahip olan dört numaralı formül seçilmiş ve bu formüle uçucu yağlar eklenerek uçucu yağ içeren kitosan bazlı filmlerin antimikrobiyal etkinlikleri belirlenmiştir. Antimikrobiyal etkinliğin değerlendirilmesinde dört farklı kitosan bazlı film kullanılmıştır. Birinci film (F1): Tablo 1'de yer alan dört numaralı formül ile hazırlanan film yapısı, ikinci film (F2): dört numaralı formül içerisine %5 oranında çay ağacı uçucu yağı ilave edilerek hazırlanan film yapısı; üçüncü film (F3): dört numaralı formül içerisine %5 oranında melisa uçucu yağı ilave edilerek hazırlanan film yapısı ile hazırlanan film yapısı ve dördüncü film (F4): dört numaralı formül içerisine %2,5 oranında çay ağacı uçucu yağı ve %2.5 oranında melisa uçucu yağı ilave edilerek hazırlanan film yapısıdır. Pozitif kontrol olarak; penisilin G (10 mg/mL), amikasin (30 mg/mL) ve flukonazol (10 mg/mL) kullanılmıştır. Tüm çalışmalar üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Kitosan bazlı filmlerin antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesi için agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Pranoto ve ark., 2005; Lee ve ark., 2019). İlk olarak patojen test mikroorganizmalarının sıvı kültürleri elde edilmiştir. Bakteriler için Nutrient broth besiyeri ve maya için Patates dekstroz broth besiyeri kullanılmıştır. Bakteri kültürleri 37°C'de ve maya kültürü 27 °C'de bir

gece boyunca inkübe edilmiştir. Elde edilen kültürler 0.5 Mac Farland bulanıklığına getirilmiştir. Elde edilen kültürler steril swab yardımıyla daha önce hazırlanan Müller hilton agar besiyeri içeren petrilerin yüzeyine yayılmıştır. Daha sonra antimikrobiyal aktivitesi belirlenecek film yapıları 1 cm² büyüklükte olacak şekilde kesilerek petri kutularına yerleştirilmiştir. Tüm çalışmalar aseptik koşullarda gerçekleştirilmiştir. Bakteri kültürü içeren petriler 37°C'de ve maya kültürü içeren petriler ise 27°C'de, 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petrilere yerleştirilen film örneklerinin etrafındaki inhibisyon zonlarının genişliği ölçülmüştür.

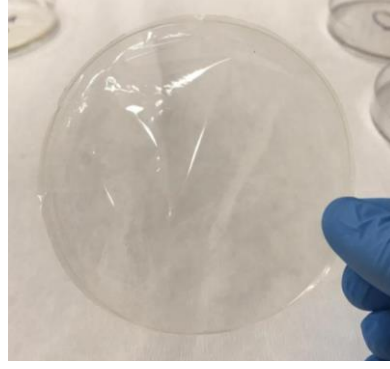
Uçucu Yağ İçeren Kitosan Bazlı Filmlerin Karakterizasyonu

Kitosan bazlı uçucu yağ içeren filmlerin karakteristik özelliklerinin belirlenmesi için taramalı elektron mikroskobu (SEM), fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, x-ışınları difraksiyonu (XRD) analizleri yapılmıştır. Elde edilen film yapıların morfolojik özelliklerinin belirleyebilmek için kesilen film örnekleri karbon bant üzerine yapıştırılmış ve 30 s, 100 mA'da altın ile kaplanarak LEO 1430 VP SEM (Carl Zeiss AG, Jena, Germany) ile görüntülenmiştir. Film yapıların FTIR spektrumları Perkin Elmer Spectrum Two spektrofotometresi kullanılarak belirlenmiştir. Her numune toz haline getirilerek potasyum bromür (KBr) ile karıştırılmıştır. Nihai süspansiyon, şeffaf bir pelet halinde preslenmiş ve 400-4000 cm⁻¹ absorbans aralığında incelenmiştir. Film yapıların XRD desenleri, Bruker D8 Advance difraktometresi kullanılarak belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

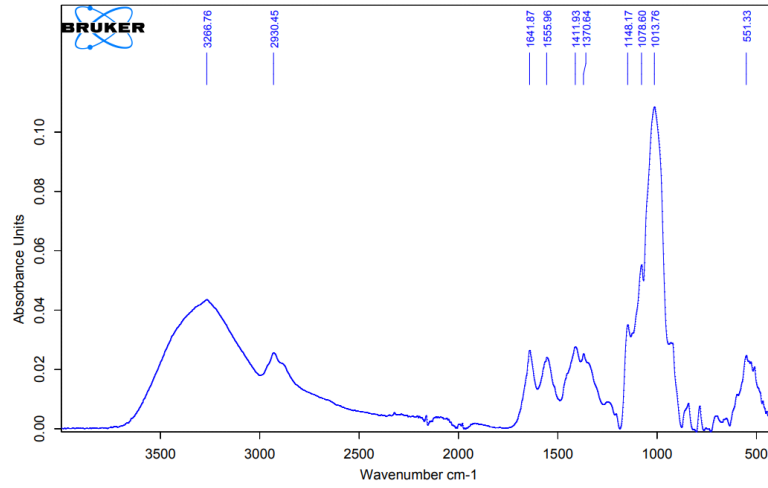
Doğal polimerlerden elde edilebilen ve antimikrobiyal maddeler içeren yapılar yenilebilir filmler olarak tanımlanmaktadır (Tural ve ark., 2017). Bunlar, kolay üretilibilmeleri, ekonomik olmaları, doğal bileşiklerden elde edilmeleri, toksik olmamaları, biyolojik olarak bozulabilir olmaları sebebiyle araştırmacıların ilgi odağı olmaktadır (Venkatachalam ve Lekjing, 2020). Kitosan bazlı filmler yarı geçirgen, dayanıklı, esnek, kolay yırtılmaması, toksik olmaması ve iyi bir oksijen bariyeri oluşturması gibi özelliklere sahip olmaları bakımından diğer polimerler ile kıyaslandıklarında gıda ambalajlamalarında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Rania ve ark., 2019). Kitosan bazlı filmler ile gıdaların kaplanması, gıdaların raf ömürlerinin uzatılması ve duyu özelliklerinin iyileştirilmesinde önemli katkı sağladığı birçok araştırmada bildirilmektedir. Ayrıca, bugüne kadar yapılan araştırmalarda kitosanın antimikrobiyal özellikte olduğu bildirilmiştir (Jayakumar ve ark., 2010; Tajdini ve ark., 2010).

Kitosan bazlı film elde edilmesinde Çizelge 1'de yer alan formülasyonlar ile denemeler yapılmıştır. Elde edilen film yapıları homojenlik, esneklik, kırılma, sertlik yönünden incelenmiştir. 1-12 numaralı formüllerde film yapıları elde edilmiştir. Ancak 1, 2, 5 ve 6 numaralı formüllerden elde edilen filmler sert ve kırılma bir yapı göstermiştir. 3, 4, 7 ve 8 numaralı formüllerden elde edilen film yapıları homojen, esnek, kırılma olmayan ve şeffaf filmler olarak değerlendirilmiştir. Bunlar arasında 4 numaralı formül ise diğerlerine kıyasla daha esnek, ince ve şeffaf olarak değerlendirilmiştir (Şekil 1). 9, 10, 11 ve 12 numaralı formüller kullanılarak elde edilen film yapıları incelendiğinde sert, homojen ve kırılma yapıya sahip oldukları görülmüştür. 13 ve 14 numaralı formüllerden elde edilen film yapıları heterojen ve yapışkan bir yüzey özelliğine sahip olduğu görülmüştür. Bu formüller arasında yer alan 15 ve 16 numaralı formüllerden film yapısı elde edilememiştir. Kitosanın antimikrobiyal etkinliğinde farklı mekanizmalar rol oynamaktadır. Bunlar arasında, kitosanın hücre zarı geçirgenliğini değiştirerek besin maddelerinin hücre içine girmesini engellemesi; hücre içerisindeki moleküllerin dışarıya çıkmasına ve dolayısıyla hücre ölümüne sebep olması, kitosandaki pozitif yüklü amino gruplarının bakteri hücre membranında bulunan negatif yüklü karboksil (-COO-) gruplarına bağlanarak hücre yüzeyindeki yüklerin dağılımını değiştirerek hücre zarının kararlılığını bozması yer almaktadır (Tokatlı ve Demirdöven, 2015).



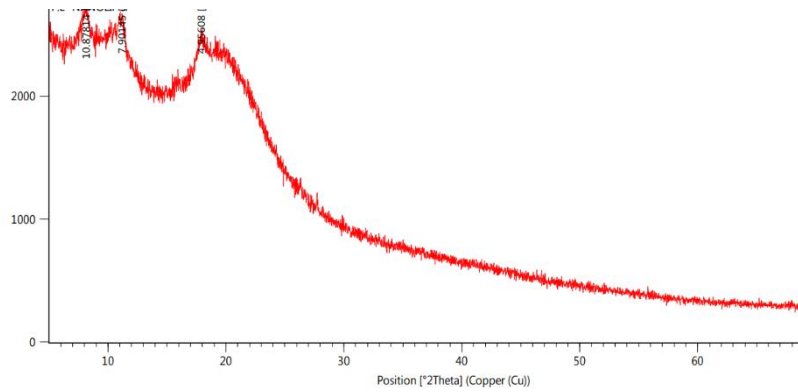
Şekil 1. Dört numaralı formülden elde edilen film görüntüsü

Dört numaralı formülden elde edilen film yapısının karakterizasyonun değerlendirilmesinde elde edilen FTIR spektrumunda; 3292 cm^{-1} , 2918 cm^{-1} , 1632 cm^{-1} , 1576 cm^{-1} ve 1465 cm^{-1} , 1379 cm^{-1} , 1148 cm^{-1} , 1078 cm^{-1} , 1013 cm^{-1} , 551 cm^{-1} dalga boylarında keskin pikler açığa çıktığı görülmektedir. $3500\text{--}3900\text{ cm}^{-1}$ aralığı içinde geniş bir absorpsiyon bandı O–H titreşimi tensional ile gösterilmiştir. Genel olarak, kitosanın varlığı $3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ (NH bağı) ile $1400\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$ (C=O bağı) bantlar arasındaki piklerde görünmektedir (Şekil 2).



Şekil 2. Kitosan bazlı dört numaralı formülden elde edilen film yapının FTIR spektrumu

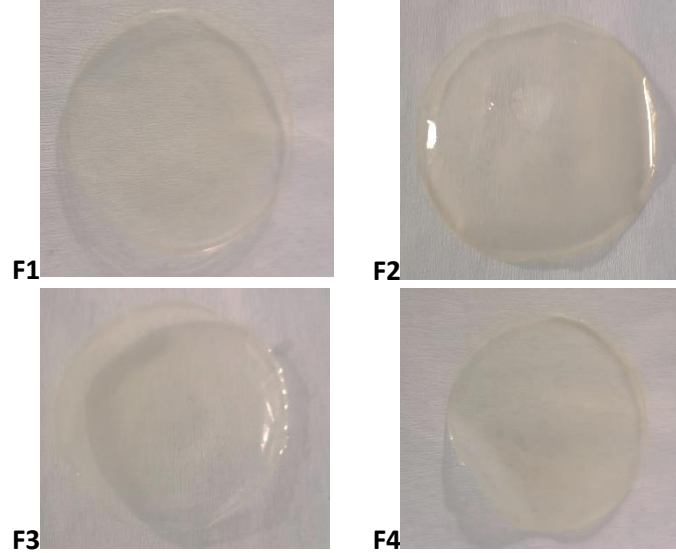
Film yapılarına ait XRD sonuçları Şekil 3'de gösterilmiştir. Analiz sonuçlarına göre kitosanın karakteristik piki olan 10 ve 19° civarında spektrum gözlenmiştir.



Şekil 3. Kitosan bazlı dört numaralı formülden elde edilen film yapının XRD analizi sonucu

Bu çalışmada, elde edilen formüller arasından dört numaralı formül seçilerek içerisine antimikrobiyal etkinliği artırmak amacıyla uçucu yağlar ilave edilerek kitosan bazlı uçucu yağ içeren

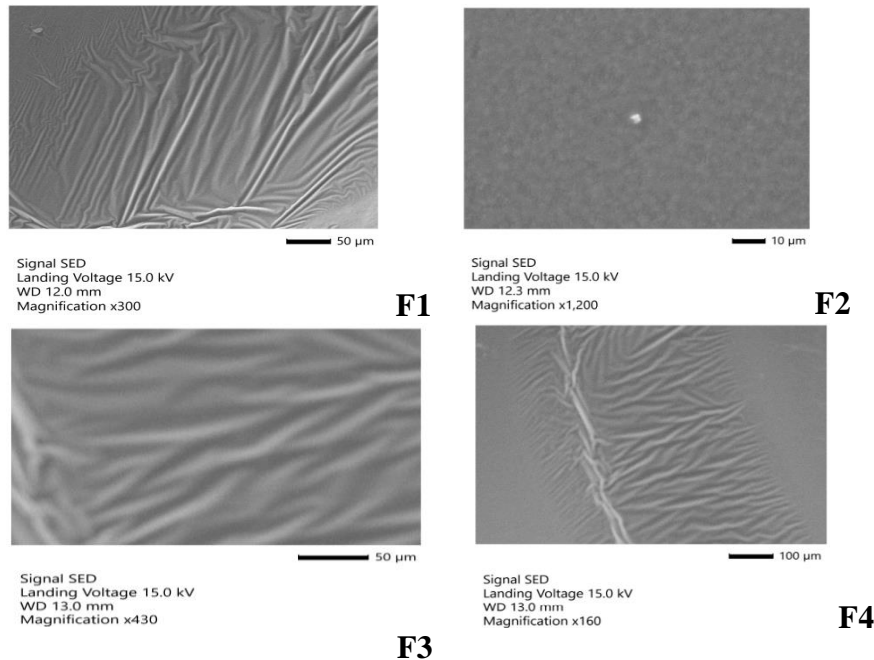
film elde edilmiştir. Uçucu yağ olarak çay ağacı yağı, melisa yağı ver her ikisinin birlikte kullanıldığı dört numaralı formülasyon ile kitosan bazlı uçucu yağ içeren film başarılı bir şekilde elde edilmiştir (Şekil 4). Uçucu yağ içeren film yapıları dört numaralı formülden elde edilen film yapısı ile karşılaştırıldığında benzer olarak esnek, homojen, ince film yapıları elde edilmiştir. Dört numaralı formülden elde edilen film yapısından farklı olarak daha bulanık bir yapı göstermişlerdir.



Şekil 4. Antimikrobiyal aktivite değerlendirilmesi için kullanılan kitosan bazlı filmler

(F1: dört numaralı formül ile hazırlanan film yapısı, F2: dört numaralı formül+%5 çay ağacı uçucu yağı, F3: dört numaralı formül + %5 melisa uçucu yağı, F4: dört numaralı formül + %2.5 çay ağacı uçucu yağı+ %2.5 melisa uçucu yağı)

F1, F2, F3 ve F4 numaralı film yapılarının karakterizasyonu için SEM, FTIR, XRD analizleri yapılmıştır. Film yapılarına ait SEM görüntüleri Şekil 5’de gösterilmiştir.



Şekil 5. Film yapılarının SEM görüntüleri

F1, F2, F3 ve F4 numaralı film yapılarının antimikrobiyal etkinlikleri agar difüzyon yöntemi ile belirlenmiş olup elde edilen zon çapları Çizelge 2’de gösterilmiştir. Test edilen film yapılarının tümü patojen test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Uçucu yağ içermeyen F1 numaralı film yapısı içerdiği kitosan sebebiyle antimikrobiyal etkinliği yüksek bulunmuştur. Film yapılarına eklenen uçucu yağların antimikrobiyal etkinliği artırdığı belirlenmiştir. Film yapıları

bakteriler üzerinde daha fazla inhibisyon etki göstermiştir. F1 film yapısı en çok *L.monocytogenes* ATCC 1911 (23±1.0) üzerinde en az *C. albicans* ATCC 10231 (16±0.0) üzerinde antimikrobiyal etki göstermiştir. F2 filmi en çok *P. aeurogenosa* ATCC 11778 (29±2.0), en az *S. aureus* ATCC 6538 (21±1.0) üzerinde inhibisyon etki göstermiştir. F3 filmi en yüksek inhibisyon etkiyi *E. coli* ATCC 25922 (25±2.0) ve en düşük etkiyi *C. albicans* ATCC 10231 (18±0.0) üzerinde göstermiştir. F4 filmi ise en yüksek antimikrobiyal etkinliği *L.monocytogenes* ATCC 1911 (25±1.0) ve en düşük etkiyi *C. albicans* ATCC 10231 (19±1.0) üzerinde göstermiştir.

Çizelge 2. Kitosan bazlı filmlerin antimikrobiyal aktivitesi

Patojen Test Mikroorganizmaları	Zon Çapları (mm±SS)						
	F1	F2	F3	F4	PK1	PK2	PK3
<i>L.monocytogenes</i> ATCC 1911	23±1.0	24±2.0	24±1.0	25±1.0	25±1.0	15±1.0	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	19±1.0	26±1.0	20±1.0	22±1.0	29±2.0	13±0.0	
<i>K. pneumoniae</i> NRRLB 4420	18±1.0	27±2.0	20±0.0	23±1.0	29±1.0	14±0.0	
<i>P. aeurogenosa</i> ATCC 11778	20±1.0	29±2.0	22±2.0	23±1.0	30±0.0	15±1.0	
<i>E. feacalis</i> ATCC 51289	18±2.0	24±1.0	19±1.0	20±1.0	24±0.0	15±1.0	
<i>E. coli</i> ATCC 35213	21±0.0	23±2.0	22±1.0	23±0.0	31±1.0	14±1.0	
<i>B. subtilis</i> NRS-744	22±1.0	26±2.0	20±0.0	23±2.0	30±1.0	19±0.0	
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	21±1.0	21±1.0	24±0.0	22±0.0	30±0.0	17±1.0	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	22±1.0	25±1.0	25±2.0	24±1.0	30±1.0	16±0.0	
<i>P. aeurogenosa</i> ATCC 27853	22±1.0	26±1.0	21±0.0	23±0.0	22±0.0	14±1.0	
<i>S. aureus</i> ATCC 12600	18±1.0	25±1.0	19±2.0	23±1.0	32±0.0	15±0.0	
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	16±0.0	22±1.0	18±0.0	19±1.0	-	-	27±1.0

*Bakteriler için; PK₁: Penisilin G (10 mg/mL) PK₂: Amikasin (30 mg/mL)

**C. albicans* ATCC 10231 için; PK₃: Flukonazol (10 mg/mL), SS: standart sapma

Bugüne kadar polimer bazlı filmlerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemeye yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır (Ahmad ve ark. 2012; Çakır ve ark., 2005). Yapılan bir çalışmada, Zivanovic ve ark. (2005) çeşitli uçucu yağlar kullanarak (anason, fesleğen, kişniş, kekik uçucu yağları) kullanarak film yapıları elde etmiş ve bu yapıların *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* O157:H7 üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan yağların tek başına kullanımı ve film içerisinde kullanımında benzer antimikrobiyal etki gösterdiklerini saptamışlardır. Hosseini ve ark. (2009), kitosan içerikli polimer çözeltisinden elde etmiş oldukları yenilebilir film yapılarına kekik, karanfil ve tarçın uçucu yağları ilave ederek antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Kekik uçucu yağı içeren kitosan bazlı filmlerin diğer film yapılarına göre daha çok antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Ma ve ark. (2016), kitosan bazlı tarçın uçucu yağı ve soya fasulyesi yağı içeren filmlerin, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etkinliklerinin olduğunu belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada Noshirvani ve ark. (2017), tarçın ve zencefil uçucu yağları içeren kitosan ve karboksimetil selüloz içerikli filmlerin, *Aspergillus niger*'in gelişimi üzerinde antifungal etkisi olduğunu saptamışlardır. Söğüt ve ark. (2018), kitosan bazlı kekik, üzüm çekirdeği ve nar çekirdeği yağı içeren filmlerin elde ederek morfolojik yapılarını değerlendirmişlerdir. Kekik uçucu yağı içeren film yapıları daha homojen bir yapı gösterdiğini üzüm çekirdeği, nar çekirdeği yağı içeren film yapıları heterojen bir yapı gösterdiğini belirlemişlerdir.

SONUÇ

Son yıllarda çevre dostu ve geriye dönüşümlü materyallere doğru ilgi giderek artmaktadır. Gıda ambalaj materyali olarak yenilebilir film yapıları da bunlar arasında yer alır. Kitosanın sağlık açısından güvenilir, biyouyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir, antimikrobiyal özelliklere sahip olması yenilebilir film yapıları elde edilmesine olanak sağlar. Bu çalışmada elde edilen uçucu yağ içeren filmlerin antimikrobiyal etkinliği değerlendirilmiştir. Bu film yapılarının gıda kalitesini ve raf ömrünü

artırılmasında etkili olabileceği düşünülmektedir. Bundan sonraki çalışmalar bu film yapılarının farklı gıda materyalleri üzerinde gıda kalitesini ve raf ömrünü test etmeye yönelik olmalıdır. Bu film yapıları ile yapılacak çalışmaların kitosanın yenilebilir film olarak kullanımının yaygınlaşmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları arasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederiz.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Anis, A. (2022). Essential oils and chitosan based polymeric edible films and coatings as alternative to chemical preservatives. *Polymer Plastics Technology and Materials*, 61 (10), 1130-1152.
- Agullo, E., Rodriguez, M., Ramos, V. & Albertengo, L. (2003). Present and future role of chitin and chitosan in food. *Macromolecular Bioscience*, 3, 521-530.
- Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T. & Agustini, T.W. (2012). Physio-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocolloids*, 28(1), 189-199.
- Aslan, R., Taşkın Kafa, A.H., Hasbek, M. ve Çelik, C. (2021). Farklı esansiyel yağların in vitro antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 78(4), 525-534.
- Beverly, R.L., Janes, M.E., Prinyawiwatkula, W. & No, H.K. (2008). Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 25(3), 534-537.
- Çakır, N.T., Kaleağası, S. ve Kökdil, G. (2005). Umut vaat eden bir antimikrobiyal: Tea tree oil (çay ağacı yağı). *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 34 (4), 315-327.
- Dhanapal, A., Sasikala, P., Rajamani, L., Kavitha, V., Yazhini, G. ve Banu, M.S. (2012). Edible films from polysaccharides. *Food Science and Quality Management*, 3, 9-18.
- Dursun, O.S. (2012). Dumanlanmış Balıkların Kalite ve Raf Ömrü Üzerine Yenilebilir Protein Film Kaplamanın Etkisi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul.
- Dutta, P.K., Tripathi, S., Mehrotra, G.K. & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114, 1173e1182.
- Feyzioğlu, G.C. (2016). *Satureja hortensis* L. uçucu yağı yüklenmiş kitosan nanopartiküllerinin ve kitosan filmlerin üretimi ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul.
- Hosseini, M., Razavi, S. & Mousavi, M. (2009). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33 (6), 727-743.
- Han, Y., Yu, M. & Wang, L. (2017). Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil. *Food Packaging and Shelf Life*, 15, 35-42.
- Jayakumar, R., Menon Manzoor, D.K., Nair, S.V. & Tamura, H. (2010). Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials-a short review. *Carbohydrate Polymers*, 82, 227-232.
- Jeihanipour, A., Karimi, K. & Taherzadeh, M.J. (2007). Antimicrobial properties of fungal chitosan. *Research Journal of Biological Sciences*, 2(3), 239-243.

- Lee, J.Y., Coralia, V., Garcia Shin, G.H. & Kim, H.T. (2019). Antibacterial and antioxidant properties of hydroxypropyl methylcellulose-based active composite films incorporating oregano essential oil nanoemulsions. *LWT Food Science and Technology*, 106, 164-171.
- Ma, Q., Zhang, Y., Critzer, F., Davidson, P.M., Zivanovic, S. & Zhong, Q. (2016). Physical, mechanical, and antimicrobial properties of chitosan films with microemulsions of cinnamon bark oil and soybean oil. *Food Hydrocolloids*, 52, 533-542
- Moradi, M., Tajik, H., No, H.K., Razavi Rohani, S.M., Oromiehie, A.R. & Ghasemi, S. (2010). Potential inherent properties of chitosan and its applications in preserving muscle food. *Journal of Chitin and Chitosan*, 15, 35e45
- Mujtaba, M., Morsi, R.E., Kerch, G., Elsabee, M.Z., Kaya, M., Labidi, J. & Khawar, K.M. (2019). Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 889-904.
- Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Gardrat, C., Rezaei, M.R., Hashemi, M., Coz, C.L. & Coma, V. (2017). Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. *Food Hydrocolloids*, 70, 36-45.
- Polat, H. (2007). İşlenmiş et ürünlerinde yenilebilir filmler ve kaplamaların uygulamaları. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar.
- Pranoto, Y., Rakshit, S.K. & Salokhe, V.M. (2005). Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT Food Science and Technology*, 38, 859-865.
- Sagoo, S., Board, R. & Roller, S. (2002). Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products. *Food Microbiology*, 19, 175-82.
- Salmieri, S., İslam, F., Khan, R.A., Hossain, F.M., Haytham, M.M.I., Miao, C., Hamad, W.Y. & Lacroix M. (2014). Antimicrobial nanocomposite films made of poly(lactic acid)-cellulose nanocrystals (PLA-CNC) in food applications-part B: effect of oregano essential oil release on the inactivation of *Listeria monocytogenes* in mixed vegetables. *Cellulose*, 21(6), 4271-4285