

## Meyve Kabuklarının Antimikrobiyal Özellikleri ile Yenilebilir Film Üretiminde Kullanım Potansiyelinin Belirlenmesi

Berna KILINÇ<sup>1\*</sup>, Hüsniye Tansel YALÇIN<sup>2</sup>, Gökür SÜRENGİL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 35100, Bornova-İzmir

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 35100, Bornova-İzmir

Geliş Tarihi: 23.03.2018

Kabul Tarihi: 18.06.2018

\*Sorumlu Yazar: berna.kilinc@ege.edu.tr

### Özet

Meyve-sebze kabukları sağlığa çeşitli olumlu etkileri bulunan polifenol, karotenoid gibi biyoaktif bileşenler açısından zengindir. Kabukların, meyve-sebzelerin diğer fraksiyonlarından daha fazla biyolojik aktiviteye sahip olmasından dolayı bunların değerlendirilmesi oldukça önemlidir. Çalışmada meyve kabuk artıklarının gıdalarda antimikrobiyal madde olarak veya yenilebilir film solüsyonu üretiminde kullanılması hedeflenmiştir. Bu amaçla limon, portakal, kırmızı elma, yeşil elma kabuk artıklarından elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi ve en yüksek aktivite gösteren meyve kabuğu ekstraktlarından yenilebilir filmlerin hazırlanması hedeflenmiştir. En yüksek aktivite gösteren portakal ve limon kabuklarından elde edilen doğal antimikrobiyal ekstrakt ile karagenan, ksantan ve keçiyoynuzu içeren yenilebilir filmler oluşturularak, bu filmlerin insan ve gıda patojeni olduğu bilinen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri Disk Difüzyon Yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre meyve kabuğu ekstraktlarının hepsinin antimikrobiyal etki sergilediği fakat en yüksek aktivitenin limon ve portakal kabuğu ekstraktlarında olduğu gözlemlenmiştir. Limon ve portakal kabuklarının ekstraktlarından hazırlanan yenilebilir filmlerin oluşturdukları zon çapları değerlendirildiğinde filmlerden ksantan limon, karagenan portakal, karagenan limon ve keçiyoynuzu limonun daha fazla antimikrobiyal etkili olduğu bulunmuştur. Limon ekstraktlarından hazırlanan filmler, portakal ekstraktlarından hazırlanan filmlere göre daha fazla antimikrobiyal etki göstermiştir. Sonuç olarak meyve kabuklarından elde edilen madde antimikrobiyal olarak kullanılabilmesi gibi meyve kabuklarından elde edilen antimikrobiyal özellikteki yenilebilir filmler gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılacak bir alternatif olabileceklerdir.

**Anahtar kelimeler:** Meyve kabukları, antimikrobiyal aktivite, antimikrobiyal madde, yenilebilir film

## Determination of the Efficiencies of Fruit Peels as Antimicrobial Agent and Edible Film for Foods

### Abstract

Fruits and vegetable peels, which contain bioactive compounds including carotenoids and polyphenols, have positive effects on human health. Additionally, the biological activity in the peels is higher than that in other parts of vegetables and fruits, which makes their assessment of great importance. The current study aimed to produce antimicrobial films as coating materials from fruit crust residues. First, the extracts of peel residues obtained from lemon, orange, red apple, green apple were evaluated for their antimicrobial activity. Later, the peels whose extracts demonstrated the highest antimicrobial activity were used to prepare edible films. All extracts obtained from the fruit peels demonstrated antibiotic activity yet those of lemon and orange were the highest. Therefore, edible films, containing carrageenan, xanthan and carob, were produced from lemon and orange peels. Moreover, higher antimicrobial effect was recorded when orange was used to prepare karagenan film and lemon was used to prepare the xanthan, karagenan and carob edible films. Such results indicate that films prepared from lemon extracts showed more antimicrobial activity than films prepared from orange extracts. As a result these findings; antimicrobial agents which are produced from fruit peels, can be an alternative for using directly as antimicrobial agent and extending the shelf-life of food products.

**Keywords:** fruit peels, antimicrobial activity, antimicrobial agent, edible film

## 1. Giriş

Bitkisel gıdalarda bazı doğal inhibitörler bulunmaktadır. Bazı baharat ve otlarda antimikrobiyal etkiye sahip etken maddeler mevcuttur. Karanfil, tarçın ve adaçayı eugenol, sarımsak ve soğandaki allisin, tarçındaki sinamik aldehit, hardaldaki isotiyosiyonat, adaçayı, kekik ve yabancı kekik deki timol ve isotimol, anasondaki anetol, vanilyadaki vanillin bunlara örnek gösterilebilir (Ünlütürk ve Turantaş, 2003). Bitkiler içeriğinde yer alan maddeler nedeniyle antimikrobiyal özelliğe sahiptir. Bitkilerin içeriğinde yer alan aldehitler, organik asitler ve fenolik bileşikler mikroorganizmaların gelişimine karşı antimikrobiyal özellik göstermektedir (Şahin 2006). Bazı bitkiler antimikrobiyal etkiye sahip uçucu yağlar içerirler. Portakal ve limon kabuğu gibi turunçgil yan ürünleri fenolik bileşik gruplarından biri olan doğal bir flavonoid kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Turunçgil meyvesinin yaklaşık yarısını oluşturan narenciye kabuklarının meyvede en yüksek derişimde flavonoid içeren kısım olduğu belirtilmektedir (Benelli ve ark., 2010). Turunçgil kabuklarının özellikle naringin, hesperidin, narirutin ve neohesperidin olmak üzere karakteristik flavanone glikozitler açısından zengin olduğu bildirilmektedir (Khan ve ark., 2014). Gorinstein ve ark. tarafından yürütülen bir çalışmada limon, portakal ve greylort kabuklarındaki toplam fenolik içeriğin soyulmuş meyvelerden oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir (Gorinstein ve ark., 2001). Bu atıklar doğal antioksidanların ve antimikrobiyallerin ucuz ve güvenilir kaynağı olan fenolik bileşenlerin elde edilmesi için oldukça önemlidir.

Literatürler incelendiğinde bitkilerden, meyve ve meyve kabuklarından elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi üzerine yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Wan ve ark. (1998), fesleğen esansiyel yağlarının mikroorganizmaların gelişimi üzerine olan etkisini incelemiştir. Altuğ ve Karapınar (1998)'de defne, kekik, nane yaprak ekstraktlarının gıda zehirlenmelerine yol açan bakteriler üzerine etkisi incelenmiştir. Rasooli ve ark. (2006), *Listeria monocytogenes*'de kekik esansiyel yağının antimikrobiyel etkisini araştırmışlar ve elde edilen esansiyel yağın güçlü antimikrobiyel etkisi olduğu belirlenmiştir. Campo ve ark. (2000) yılında yaptıkları çalışmada kullanılan biberiye ekstratının bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisini, Sağdıç ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada ise baharat ve bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Schelz ve ark. (2006) yılında portakal, rezene, sardunya, nane, biberiye, okalptüs, ardıç yağının patojen bakteriler üzerine etkileri araştırılmıştır. Cerit (2008) yılında yaptığı çalışmada baharatların antimikrobiyal etkisinin genel olarak içerdikleri uçucu yağlardan kaynaklandığı belirtilmiştir. Dahham ve ark. (2010), nar kabuğu, nar çekirdeği, nar suyu ve tüm meyvenin antibakteriyel ve antifungal etkisine bakmışlardır. En yüksek aktiviteyi nar kabuğu ekstraktlarının gösterdiğini bildirmişlerdir. Kongruang (2011) yılında yaptığı çalışmada karanfil ve zencefil ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi konusunda çalışmıştır.

Ekici ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada kekik ve melisa uçucu yağlarının antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi konusunda yaptıkları çalışmada kekik yağının antimikrobiyal etkisinin melisa yağına göre daha fazla olduğu belirtilmiştir. Mathur ve ark. (2011) yılında bazı portakal kabuğu ve posasının antimikrobiyal ve antioksidant etkisi üzerine yaptıkları çalışmada, portakal kabuğu ve posasının sulu ekstraktının önemli bir antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Arora ve Kaur (2013) yaptıkları bir çalışmada portakal kabuklarından hazırladıkları aseton, hekzan, metanol ve su ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir.

Yukarıda literatür özeti verilen bitkilerden, meyve ve meyve kabuklarından elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi üzerine çok sayıda çalışma olmasına rağmen, meyve kabuklarından yenilebilir filmlerin üretilerek antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu amaçla çalışmada değerlendirilmeden atılan meyve kabukları (portakal, limon, yeşil elma ve kırmızı elma) değerlendirilerek antimikrobiyal özellikte madde ve en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip meyve kabuklarından yenilebilir film oluşturulması amaçlanmıştır. Böylece meyve kabuk artıklarının değerlendirilmesinin sağlanması yanısıra meyve kabuklarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenerek antimikrobiyal madde olarak kullanımı ve antimikrobiyal özellikte yenilebilir filmlerin üretimi hedeflenmiştir.

## **2. Materyal ve Metot**

### **2.1. Meyve (Limon, Portakal, Kırmızı Elma ve Yeşil Elma) Kabuklarının Ekstraktlarının Hazırlanması**

Çalışmada materyallerin temini, meyve kabuklarının kurutularak ekstraksiyonu, meyve kabuk ekstraktlarının antimikrobiyal analizleri ve film solüsyonu üretimi çalışmaları yapılmıştır. Limon, portakal, kırmızı ve yeşil elma kabukları İzmir ili semt pazarlarından temin edilerek oda sıcaklığında güneş ışığı almayacak şekilde doğal olarak kurutulmuştur. Kurutulan meyve kabukları elektrikli değirmende toz haline getirilmiştir. Ayrı ayrı toz haline getirilen meyve kabukları etanol ilave edilip mekanik karıştırıcıda 24 saat ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Elde edilen karışım filtre edildikten sonra, rotary evaporatörde uçurma işlemi uygulanarak (Baytop, 1999)' a göre yapılmıştır. Hazırlanan ekstraktlar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

## 2.2. Kullanılan Test Organizmaları

Antimikrobiyal aktivite testinde kullanılan mikroorganizmaların isimleri: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Enterococcus fecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Candida albicans* ATCC 10239. Liyofilize edilmiş mikroorganizmalar Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edilmiştir.

## 2.3. Meyve Kabuklarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Limon, portakal, yeşil ve kırmızı elma meyve kabuklarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi disk difüzyon yöntemi ve broth dilüsyon metodu kullanılarak yapılmıştır (CLSI, 2009).

### 2.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Test mikroorganizmaları deneme öncesi Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid) içerisinde 18-24 saat aktifleştirilmiştir. 0.5 McFarland bulanıklık standardına göre hazırlanan test organizmaları steril swaplar yardımıyla daha önceden petrilere dökülmüş besiyerlerinin üzerine inoküle edilmiştir. Ardından aktivitesi incelenecek meyve kabuklarının ekstraktları disklere 30µl olacak şekilde emdirilmiş ve kontrol antibiyotiği ile birlikte petrilere yerleştirilmiştir. İnkübasyon öncesi 2 saat 4°C’de bekletilen petrilere daha sonra 37°C’ye alınarak 24 saat inkübasyon sonrası disklerin çevresinde oluşan zonlar mm cinsinden ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak bakteriler için Ceftazidime (Oxoid, 30µg/disk) ve funguslar için Nystatin kullanılmıştır (Oxoid, 30µg/disk). (CLSI, 2009). Tüm test mikroorganizmalarına karşı yapılan antimikrobiyal aktivite deneyleri üç kez tekrarlı gerçekleştirilmiştir.

### 2.3.2. Broth Dilüsyon Metodu

Meyve kabuklarının minimum inhibitor konsantrasyonları (MİK), “Clinical and Laboratory Standards Institute” tarafından tanımlanan mikrodilüsyon yöntemine göre yapılmıştır (CLSI, 2009). Test organizmalarının 24 saatlik kültürlerinden % 0.85 NaCl çözeltisi içinde 0.5 Mc Farland’a (yaklaşık 108 kob/ml) karşılık gelecek şekilde süspansiyonlar hazırlanmıştır. Öncelikle 96 kuyucuklu standart bir mikroplaktaki her bir kuyucuğa çift kuvvet olarak hazırlanmış MHB

aktarılmıştır. Son hacmi 80 µl olacak şekilde test maddemizin seri dilüsyonları (0.9 mg/ml-500 mg/ml) hazırlanmıştır. Dilüsyonlar hazırlandıktan sonra her bir kuyucuğa mikroorganizma kültürlerinden 20'şer µl pipetlenmiştir. 37°C'de 20-24 saat inkübasyondan sonra "MİK" değerleri tayin edilmiştir. Ayrıca standart antibiyotik olan Ampicillin (Sigma) bakteriler için, standart antifungal madde olan flucytosine de (Sigma) *C. albicans* için pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Pozitif kontroller Ampicillin ve Flucytosine 0.9-250 µg/ml konsantrasyonda kullanılmıştır. Yapılan antimikrobiyal denemeler üç tekrarlı olacak şekilde yürütülmüştür.

#### **2.4. Meyve Kabuklarından Yenilebilir Film Solüsyonlarının Üretimi**

En yüksek antimikrobiyal etki gösteren portakal ve limon kabuklarından yenilebilir film üretimi gerçekleştirilmiştir. Yenilebilir film hazırlanmasında Sothornvit ve ark, (2011) tarafından kullanılan yöntem temel alınmıştır. Film solüsyonu hazırlanırken, keçiyoynuzu gamı, ksantan gam ve karagenan gamdan her biri % 1 (w/v) oranında distile su içinde 90°C'de 30 dakika boyunca ısıtmalı manyetik karıştırıcıyla homojenize edilmiştir. Karışıma plastikleştirici olarak %3 oranında gliserol ve MİK sonucu elde edilen konsantrasyonlarda %3,2 (g/100ml) doğal antimikrobiyal meyve kabuğu ekstraktları ilave edilmiştir. Ardından çözelti oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır.

#### **2.5. Yenilebilir Filmlerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi**

Limon ve portakal meyve kabuklarının ekstrelerinden hazırlanan filmlerin antimikrobiyal aktivite tayini Kuyucuk Agar Difüzyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Collins ve Lyne, 1987; Perez ve ark., 1990). 0.5 McFarland bulanıklık standardına göre hazırlanan test organizmaları steril swaplar yardımıyla daha önceden petrilere dökülmüş Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid) besiyerlerinin üzerine inoküle edilmiştir. Petrilere yayma işleminden sonra 6 mm çapında çukurlar açılmıştır. Aseptik koşullar altında açılan bu çukurlara hazırlanan yenilebilir film solüsyonlarından 50 µl ilave edilmiştir. 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra çukurların etrafında oluşan zon çapları milimetrik olarak ölçülerek sonuçlar değerlendirilmiştir. Denemeler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **3. Bulgular ve Tartışma**

Meyve kabuklarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi disk difüzyon yöntemi ve broth dilüsyon metodu kullanılarak yapılmıştır. Limon, portakal, yeşil elma ve kırmızı elma

ekstraktlarının çalışmada kullandığımız test mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları Disk Diffüzyon sonuçları Tablo 1’de verilmiştir. Disk difüzyon sonuçlarına göre; bütün meyve kabuklarının antimikrobiyal etkili olduğu, limon ve portakal kabukları ekstraktlarının yeşil ve kırmızı elmaya göre daha fazla etkili olduğu bulunmuştur. Limonun portakala göre *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445, *Candida albicans* ATCC 10239’a karşı daha yüksek antimikrobiyal etkisi olduğu saptanmıştır. Portakal ve limon kabuklarının test edilen diğer mikroorganizmalara karşı aynı antimikrobiyal etki gösterdiği gözlenmiştir. Akgül ve Kıvanç (1989)’da kimyon, defne, nane ve rezene uçucu yağlarının *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Proteus vulgaris*’in gelişimi üzerine inhibe edici etkisi olduğu bildirilmiştir. Altuğ ve Karapınar (1998)’de % 0,5 konsantrasyonda defne yaprağı ekstraktının *S. aureus* gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir. Mejholm ve Dalgaard (2002)’de bakterinin inhibisyonunda en etkili antimikrobiyal etkinin mercanköşkü ve tarçından elde edilen esansiyel yağının olduğu bunları sırasıyla limon otu, kekik, karanfil, defne, keklkotu, adaçayı ve fesleğen yağının takip ettiği bildirilmiştir. Schelz ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada portakal yağının daha çok antifungal etki gösterdiği, nane yağının ise *E. coli* üzerinde en fazla antimikrobiyal etki gösterdiği belirtilmiştir. Campo ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada kullanılan biberiye ekstraktının *Escherichia coli*, *Erwinia carotovora* ve *Salmonella enteritidis* türü bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisi olmadığı fakat *Bacillus cereus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus mutans*’ı tamamen elimine ettiği saptanmıştır. Yukarıdaki çalışmalarda bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin bakteri türlerine göre farklılık gösterdiği yönünde elde edilen bulgular, yaptığımız çalışmada limon ve portakal kabuklarından elde edilen ekstraktların kırmızı ve yeşil elma kabuklarından elde edilen ekstraktlara göre mikroorganizmalar üzerinde daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği yönünde elde edilen bulgularla paralellik göstermektedir.

**Tablo 1.** Meyve kabuk ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi (Disk difüzyon testi)

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zonu (mm)*					
	Limon	Portakal	Yeşil Elma	Kırmızı Elma	CF	NYS
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	16±0.3	16±0.1	12±0.6	10±0.3	20±0.8	-
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	20±0.5	20±0.8	12±0.3	10±0.2	20±0.6	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	20±1.1	20±0.4	10±0.1	8±0.1	17±0.5	-
<i>B. cereus</i> ATCC 7064	16±0.8	16±0.3	10±0.1	10±0.2	15±0.3	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	15±0.2	11±0.1	11±0.3	9±0.4	14±0.2	-
<i>S. thyphimurium</i> CCM 5445	15±0.5	11±0.3	10±0.0	8±0.3	14±0.4	-
<i>C.albicans</i> ATCC 10239	15±0.6	10±0.2	9±0.1	8±0.5	-	18±0.1

CF: Cefotazidime ( 30 µg/disk); NYS: Nystatine (30 µg/disk). \* Disk çapı (6 mm), Ortalama±standart hata.

Limon, portakal, yeşil elma ve kırmızı elma ekstraktlarının minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) sonuçları Tablo 2’de verilmiştir. Meyve kabuğu ekstraktlarının MİK değerleri 3.9-250 mg/ml arasında bulunmuştur. MİK sonuçlarına göre en iyi mikrobiyal aktivite portakal ve limon kabuğu ekstraktlarında bulunduğu için yenilenebilir filmler portakal ve limon kabuğu ekstraktlarından hazırlanmıştır. Limon ve portakal kabuğu ekstraktlarının etkili olduğu en yüksek konsantrasyonu (31,2 mg/ml) limon için *S. aureus*, portakal için *E. coli* bakterilerinde görülmüştür. Bu iki bakterinin üremesinin engellemesi için yüksek konsantrasyonların gerekli olduğu tespit edilmiştir. Fakat limon ve portakal ekstraktlarının düşük konsantrasyonda (3,9 mg/ml) *S. epidermis* bakterisine karşı en etkili olduğu görülmüştür. Ekstraktların her bakteri için farklı engelleyici etkisinin olması, bakteriye göre ve ekstrakt içeriğindeki bileşenlere göre antimikrobiyalite etkisinin değişebileceğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Elde ettiğimiz limon ve portakal ekstraktlarının MİK analizleri sonucunda 31,2 mg/ml ortak ve maksimum antimikrobiyal aktivite değeri olarak 31,2 mg/ml seçilmiş, yenilenebilir film çözeltisinde yaklaşık değer olarak %3,2 (g/100 ml) ekstraktlar kullanılmıştır. Bununla birlikte her iki ekstrakt içinde *C. albicans* için bulgularan en yüksek değer olan 62,5 mg/ml ihmal edilerek bakterilere karşı maksimum antibakteriyal aktivite değeri belirlenmiştir. Pandey ve ark. (2011) yapmış oldukları bir çalışmada, limon kabuklarından

hazırladıkları etanol, metanol, etil asetat ve su ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini belirlemede agar difüzyon yöntemini kullanmışlardır. En yüksek aktiviteyi *P. aeruginosa*'ya karşı metanol ekstraktının gösterdiğini belirtmişlerdir. Mathur ve ark. (2011) bazı portakal kabuğu ve posasının antimikrobiyal ve antioksidant etkisi üzerine yaptıkları çalışmada, portakal kabuğu ve posasının sulu ekstraktının önemli bir antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Khan ve Hane (2011) nar kabuklarından metanol, etanol ve su ekstraktı hazırlamışlar ve bunların antibakteriyal etkisini *E.coli*, *P.aeruginosa* ve *S.aureus*'a karşı etkisini disk difüzyon yöntemini kullanarak belirlemişlerdir. En yüksek antibakteriyal aktiviteyi etanol ekstraktında *S. aureus*'a karşı 24.5 mm, *E. coli*'ye karşı 23.3 mm ve *P. aeruginosa*'ya karşı 22.3mm olarak bulmuşlardır. Arora ve Kaur (2013) yaptıkları bir çalışmada portakal kabuklarından hazırladıkları aseton, hekzan, metanol ve su ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesine bakmışlardır. En yüksek aktiviteyi metanol ekstraktında *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı bulmuşlardır. Nuamsetti ve ark. (2013) yaptıkları bir çalışmada nar meyve kabukları ve çekirdekleri ile birlikte arillerin farklı ekstraktlarına agar difüzyon ve broth dilüsyon yöntemlerini kullanarak gıda ile ilişkili olan 4 bakterinin (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, ve *Salmonella typhimurium*) antibakteriyal etkisine bakmışlardır. Bütün ekstraktların test edilen tüm bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Çalışmamızda test mikroorganizmalarına karşı portakal ve limon kabuklarının MİK değerleri 3.9 mg/ml ile 62.5mg/ml arasında bulunmuştur. En yüksek antibakteriyal etki ise 3.9 MİK değeri ile *S. epidermidis*'e karşı saptanmıştır. Roy ve Lingampeta (2014) tarafından 5 meyve kabuğu atığından (nar, papaya, ananas, hint ayvası ve jackfruit tropikal meyve) 4 farklı çözücü (kloroform, petrol eteri, aseton ve benzen) kullanarak hazırladıkları ekstraktların gram pozitif ve gram negatif patojenik bakterilere karşı antibakteriyal potansiyelini disk difüzyon yöntemi, MIC ve MBC değerleri ile belirlemişlerdir. Test edilen solventler arasında en iyi antibakteriyal aktiviteyi aseton ekstraktında sırasıyla nar kabuğu, jackfruit kabuğu ve hint ayvasında gözlemlemişlerdir. En yüksek antibakteriyal aktivite gösteren nar kabuğu aseton ekstraktında *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *S. thyphimurium*, *Streptococcus pyrogenes*, *S. aureus* ve *E. faecalis*' e karşı MIC değerini 0.875mg/ml MBC değerini ise 1.75mg/ml olarak bulmuşlardır. Liu ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada çin greyfurdu kabuklarından elde edilen ekstraktın minimum inhibe edici konsantrasyonu (MİK) değerinin test edilen bakteri olan *Vibrio anguillarum*'a karşı etkisinin 0.5- 4.5 mg REs/ml aralığında olduğu bildirilmiştir. Yukarıdaki çalışmalarda meyve kabuklarından elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etki gösterdikleri yönündeki bulgular, çalışmamızdaki portakal, limon, kırmızı ve yeşil elma meyve kabuk ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 12228, *E. faecalis* ATCC 29212, *B. cereus* ATCC 7064, *E. coli* ATCC 25922, *S. thyphimurium* CCM 5445, *C.albicans* ATCC 10239 üzerine antimikrobiyal etki gösterdiği yönündeki bulgularla paralellik göstermektedir.



**Tablo 2.** Limon, portakal, kırmızı ve yeşil elma kabuk artıklarından elde edilen ekstraktların minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri

Mikroorganizmalar	MİK değerleri (mg/ml)					
	Limon (mg/ml)	Portakal (mg/ml)	Yeşil Elma (mg/ml)	Kırmızı Elma (mg/ml)	AMP (µg/ml)	FC (µg/ml)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	31.2±0.8	15.6±0.5	62.5±0.6	250±1.1	3.9±0.1	-
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	3.9±0.25	3.9±0.3	31.2±0.3	250±0.8	1.9±0.2	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	15.6±0.3	15.6±0.2	62.5±0.55	250±0.5	7.8±0.12	-
<i>B. cereus</i> ATCC 7064	15.6±0.12	15.6±0.1	62.5±0.3	125±0.33	7.8±0.15	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	15.6±0.55	31.2±0.35	62.5±0.4	250±0.55	1.9±0.3	-
<i>S. thyphimurium</i> CCM 5445	7.8±0.4	7.8±0.25	31.2±0.1	62.5±0.4	3.9±0.25	-
<i>C.albicans</i> ATCC 10239	62.5±0.33	62.5±0.1	250±0.5	500±0.6	-	7.8±0.33

AMP: Ampicillin, FC: Flucytosine, Ortalama±standart hata.

Yukarıda belirtilen çalışmalarda sadece çeşitli meyve kabuklarının farklı mikroorganizma türlerine yönelik antimikrobiyal etkileri belirlenmesine rağmen, yapılan çalışmada farklı meyve kabuklarının (portakal, limon, kırmızı elma ve yeşil elma) antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi yanısıra meyve kabuklarının yenilebilir film üretiminde kullanabilme potansiyeli yönünde uygunluğu da araştırılmıştır. Çalışmada antimikrobiyal etkinliği en fazla olduğu belirlenen meyve kabuklarından (portakal ve limon) yenilebilir film solüsyonlarının üretimi gerçekleştirilmiştir. Yenilebilir filmlerin test mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 3’de verilmiştir. Limon ve portakal kabuklarının ekstrelerinden hazırlanan film sonuçlarına göre oluşturdukları zon çaplarına bakıldığında filmlerden ksantan limon, karagenan portakal, karagenan limon ve keçiyoynuzu limonun daha fazla antimikrobiyal etkili olduğu bulunmuştur. Limon ekstrelerinden hazırlanan filmler, portakal ekstrelerinden hazırlanan filmlere göre daha fazla antimikrobiyal etki göstermiştir. Ksantan limon, karagenan limon ve keçiyoynuzu limonun, *E. coli* ATCC 25922 (23, 24 ve 24mm), *S. aureus* ATCC 25923 (32, 35 ve 30mm), *E. faecalis* ATCC 29212 (28, 27 ve 26mm), *B. cereus* ATCC 7064 (23, 23 ve 22mm), *S. epidermidis*

ATCC 12228 (30, 30 ve 27mm), *S. thyphimurium* CCM 5445 (15, 15 ve 16mm) ve *C. albicans* ATCC 10239 (16,18 ve 15mm)'a karşı daha fazla etkili olduğu bulunmuştur. Portakal ekstresinden hazırlanan filmlerden de en fazla antimikrobiyal etki karagenan portakalda gözlenmiştir. Karagenan portakal test edilen mikroorganizmalardan sadece *C. albicans* ATCC 10239'a karşı etki göstermemiş, test edilen diğer mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Ksantan portakal test edilen mikroorganizmalardan sadece *B. cereus* ATCC 7064 ve *S. thyphimurium* CCM 5445'e karşı; keçiyoynuzu portakal ise *S. aureus* ATCC 2592, *B. cereus* ATCC 7064 ve *S. thyphimurium* CCM 5445'e karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Bu çalışmalar sonucunda antimikrobiyal yenilebilir filmlerin antimikrobiyal aktivitelerinin farklı olması, kullanılan antimikrobiyal maddelerin içeriğine, miktarına, filmdeki diğer bileşimlerle etkileşimine ve mikroorganizma türüne bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir.

**Tablo 3.** Filmlerin antimikrobiyal aktivitesi (Kuyucuk agar difüzyon)

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zonu (mm)*					
	KSP	KSL	KRP	KRL	KÇP	KÇL
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	32±0.4	19±0.3	35±0.8	12±0.5	30±0.2
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	-	30±0.25	20±0.5	30±0.6	-	27±0.3
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	28±0.3	12±0.1	27±0.5	-	26±0.2
<i>B. cereus</i> ATCC 7064	11±0.25	23±0.5	22±0.3	23±0.4	12±0.3	22±0.5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	23±0.8	17±0.2	24±0.2	-	24±0.4
<i>S. thyphimurium</i> CCM 5445	20±0.33	15±0.4	12±0.3	15±0.1	12±0.5	16±0.6
<i>C. albicans</i> ATCC 10239	-	16±0.2	-	18±0.5	-	15±0.2

KSP, Ksantan Portakal, KSL. Ksantan Limon, KRP. Karagenan Portakal, KRL. Karagenan Limon, KÇP. Keçiyoynuzu Portakal, KÇL. Keçiyoynuzu Limon, Ortalama±standart hata.

Torlak ve Nizamlioğlu (2009) yılında yaptıkları çalışmada kekik ve karanfil uçucu yağlarının yenilebilir film solüsyonuna % 0,5 ve %1 oranlarında ilave edildiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmada %1 oranında kekik uçucu yağı içeren filmlerin, *L. monocytogenes*'in inhibisyonunda aynı orandaki karanfil uçucu yağı içeren filmlere nazaran daha güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada tarçın ve kekik esansiyel yağı ilave edilerek hazırlanan kitosan yenilebilir filmlerin gıdaların yüzeyinde gelişebilen küflerin gelişimini önleyerek kalitelerini geliştirebileceği bildirilmiştir (Avila-Sosa ve ark., 2012). Kitosan, jelatin ve bitki ekstraktı içeren yenilebilir filmlerin gıda uygulamalarında aktif paketleme materyali olarak alternatif olabileceği belirtilmiştir. Bu yenilebilir filmlerin *S. aureus* ve *E.coli* üzerine inhibe edici etkisi olduğu da vurgulanmıştır (Bonilla ve Sobral, 2016). Çalışmamızda hazırlanan filmlerden karagenan limon, ksantan limon ve keçiyoynuzu limon test mikroorganizmalarının hepsine karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Kekik uçucu yağı içeren fesleğen tohumu sakızı ile yenilebilir film üretimi gerçekleştirilmiştir. %2-6 kekik uçucu yağ içeren bütün filmlerin patojen bakteriler olan *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etki gösterdiği belirtilmiştir (Hashemi ve Khaneghah, 2017). Kaya ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada *Berberis crataegina* tohumundan elde edilen yağ ve meyve ekstraktı içeren kitosan bazlı yenilebilir filmler hazırlanmıştır. Tohumyağı, meyve ekstraktı ve kitosan'ın psikokimyasal ve biyolojik özellikleri ile yenilebilir film üretiminde etkili olduğu ve kullanılabilmesi bildirilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada filmlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için narenciye pektininin içerisine farklı oranlarda (% 0.5, %1.0 ve %1.5) karanfil tomurcuk yağı ilave edilmiştir. Gıda sektörü için antimikrobiyal film ile kaplamalarda pektinin içerisine karanfil yağı karıştırılmasının iyi bir potansiyel olduğu belirtilmiştir (Nisar ve ark., 2018). Yukarıda çeşitli bitki ve meyvelerden üretilen ekstrakt ve yağlar kullanılarak elde edilen yenilebilir filmlerin patojen ve bozulma yapan bakteriler üzerine yaptıkları antimikrobiyal etkiler, çalışmamızdaki limon ve portakal kabuklarından elde edilen filmlerin bakteriler üzerine yaptıkları antimikrobiyal etki ile paralellik göstermektedir.

#### 4. Sonuçlar ve Öneriler

Limon ve portakal kabuklarının gıda sanayinde ekonomik değeri yüksektir. Kabuklar 'pektin' eldesi için birinci kaynaktır ve bir atık olarak değerlendirilir. Bunun yanısıra gerek gıda endüstrisinde, gerekse diğer endüstri kollarında kullanılacak doğal antimikrobiyallerin ucuz ve güvenilir kaynağı olan fenolik bileşenlerin elde edilmesi içinde önemli bir potansiyel kaynaktır. Bu amaçla çalışmada meyve kabukları atıklarının gıda sanayinde alternatif bir değerlendirme yöntemiyle değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre meyve kabuğu ekstraktlarının hepsinin antimikrobiyal etkili olduğu ancak kırmızı ve yeşil elma ile

karşılaştırıldığında en yüksek aktivitenin limon ve portakal kabuğu ekstralarında olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle limon ve portakal kabuklarının ekstralarından hazırlanan antimikrobiyal özellikli yenilebilir film solüsyonlarının sonuçlarına göre oluşturdukları zon çapları incelendiğinde filmlerden ksantan limon, karagenan portakal, karagenan limon ve keçiyoynuzu limonun daha fazla antimikrobiyal etkili olduğu bulunmuştur. Limon ekstralarından hazırlanan filmler, portakal ekstralarından hazırlanan filmlere göre daha fazla antimikrobiyal etki göstermiştir. Çalışmada meyve kabuklarının antimikrobiyal etkisinin saptanması üzerine; meyve kabuklarının gıda sanayinde alternatif değerlendirme yöntemiyle değerlendirilerek meyve kabuklarından antimikrobiyal madde ve yenilebilir film solüsyonlarının üretimi gerçekleştirilmesi sağlanabilecektir.

### **Teşekkür**

Bu çalışma Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı TAGEM/13/AR-GE/9 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

### **Kaynaklar**

- Akgül, A., and Kivanç, M. (1989). Sensitivity four foodborne moulds to essential oils from Turkish spices, herbs, and citrus Peel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 47, 129-132. doi: 10.1002/jsfa.2740470115.
- Altuğ, S.E., and Karapınar, M.E. (1988). Sensitivity of some common food poisoning bacteria to thyme, mint and bay Leaves. *Int. J. Food Microbiology*. 3 (6), 349-354.
- Arora, M., and Kaur, P. (2013). Antimicrobial & antioxidant activity of orange pulp and peel. *International Journal of Science and Research*. 2(11), 412-415.
- Avila-Sosa, R., Palou, E., Munguia, M.T.J., Nevarez-Moorillon G.V., Cruz, A.R.N., and Lopez-Malo, A. (2012). Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *International Journal of Food Microbiology*. 153, 66-72. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.017.
- Baytop, T. (1999). Türkiye’de bitkiler ile tedavi, geçmişte ve bugün. İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, İstanbul, 550 s.
- Benelli, P., Riehl, C. A. S., Smania Jr. A., Smania, E. F. A. and Ferreira, S. R. S. (2010). Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition, *Journal of Supercritical Fluids*, 55: 132 – 141.
- Bonilla, J., and Sobral, P.J.A. (2016). Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts. *Food Bioscience*, 16, 17-25. doi: 10.1016/j.fbio.2016.07.003
- Campo, J., Amiot, M.J., and Nguyen –The, C. (2000). Antimicrobial effect of rosemary extracts. *Journal of Food Protection*. 63, 1359-1368.
- Cerit, L.S. (2008). Bazi Baharat Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 55s.
- CLSI (2009). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, nineteenth informational supplement. Approved Standard M100-S19. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Collins, C.M., and Lyne, P.M. (1987). *Microbiological methods*”, Butterworths Co. (Publishers) Ltd. London. 456s.

- Dahham, S.S., Ali, M.N., Tabassum, H., and Khan, M. (2010). Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L.). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 9 (3), 273-281.
- Dehghani, S., Hosseini, S.V., and Regenstein, J.M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation: A Review. *Food Chemistry*, 240, 505-513. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.07.034
- Ekici, S., Diler, Ö., Didinen, B.I., and Kubilay, A. (2011). Balıklardan izole edilen bakteriyel patojenlere karşı bazı Bitkisel uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitesi, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 17, 47-54.
- Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R., and Aydın, H. (2010). Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri, *Cumhuriyet Tıp Dergisi*. 32, 281-286.
- Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., M., Trakhtenberg, S., (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits, *Food Chemistry*, 74 (3): 309 – 315.
- Hashemi, S.M.B., and Khaneghah, A.M. (2017). Characterization of novel-basil-seed gum active edible films and coatings containing oregano essential oil. *Process in Organic Coatings*, 110, 35-41. doi: 10.1016/j.porgcoat.2017.04.041
- Hassan, B., Chatha, S.A.S., Hussain, A.I., Zia, K.M., and Akhtar, N. (2018). Recent advantages on polysaccharides, lipid and protein based Edible films and Coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 109, 1095-1107. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.11.097.
- Kaya, M., Kavikumar, P., İlk, S., Mujtaba, M., Akyuz, L., Labidi, J., Salaberria, A.M., Çakmak, Y.S., and Erkul, S.K. (2018). Production and characterization of chitosan based edible films from *Berberis crataegina*'s fruit extract and seed oil. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45, 287-297. doi: 10.1016/j.ifset.2017.11.013.
- Khan, J.A., and Haneef, S. (2011). Antibacterial properties of punica granatum peels. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 2(3), 23-27.
- Khan, M. K., Huma, Z. E., Dangles, O. (2014) A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols, *Journal of Food Composition and Analysis*, 33: 85–104.
- Kongruang, S. (2011). Antibacterial activity of formulated fish snack from bacterial cellulose, *International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 5, 239-243.
- Lin, Z., Pan, Y., Li, Xiaoshuang, L., Jie, J., and Zeng, M. (2017). Chemical composition, antimicrobial and anti-quorum sensing activities of pummelo peel flavonoid extract. *Industrial Crops & Products* 109, 862-868. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.09.054
- Mathur, A., Verma S.K., Purohit, R., Gupta, V., Dua V.K., Prasad, GBKS., Mathur, D., Singh, S.K., and Singh, S. (2011). Evaluation of in vitro antimicrobial and antioxidant activities of peel and pulp of some citrus fruits. *IJPI's Journal of Biotechnology and Biotherapeutics*. 1(2), 1-17.
- Mejlholm, O., and Dalgaard, P. (2002). Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage microorganisms *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products, *Letters in Applied Microbiology*. 34, 27-31.
- Nisar, T., Wang, Z.C., Yang, X., Tian, Y., Iqbal, M., and Guo, Y. (2018). Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 670-680. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.08.068
- Nuamsetti, T., Dechayuenyong, P., and Tantipaibulvut, S. (2013). Antibacterial activity of pomegranate fruit peels and arils. *Science Asia*. 38, 319–322. doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2012.38.319
- Pandey, A., Kaushik, A., and Tiwari S.K. (2011). Evaluation of antimicrobial activity and phytochemical analysis of Citrus limon. *Journal of Pharmaceutical And Biomedical Sciences*, 13, 1-7.
- Perez, C., Paul M., and Bazerque P. (1990). An antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Acta Biol. Med. Exp.*, 15, 113-115.
- Rasooli, I., Rezaei, M.B., Allameh, A., 2006. Ultrastructural Studies On Antimicrobial Efficacy of Thyme Essential Oils On *Listeria monocytogenes*, *International Journal of Infectious Diseases*, 10, 236-241.
- Roy, S., and Lingampeta, P. (2014). Solid wastes of fruits peels as source of low cost broad spectrum natural antimicrobial compounds- furanone, furfural and benzenetriol. *International Journal of Research in Engineering and Technology*. 273-279.

- Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M., and Özçelik, S. (2002). Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth *E.coli* O157:H7. *Food Microbiology*, 19, 473-480. doi: 10.1006/yfmic.494.
- Sothornvit, R. (2011). Edible coating and post-frying centrifuge step effect on quality of vacuum-fried banana chips. *Journal of Food Engineering*, 107(3-4), 319-325.
- Şahin, E. (2006). Bitkisel kaynaklı antimikrobiallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Gıda Mühendisliği, 69 s.
- Schelz, Z., Molnar, J., and Hohmann, J. (2006). Antimicrobial and ANTIPLASMİD activities of essential oils. *Fitoterapi*, 77 (4), 279-285.
- Torlak, E., and Nizamlıoğlu, M. (2009). Doğal antimikrobiyal maddeler ile hazırlanan yenilebilir filmlerin *Listeria monocytogenes* üzerine etkileri, *Vet. Bil. Derg.*, 25 (1-2), 15-21.
- Wan, J., Wilcock, A., and Coventry, M.J. (1998). The effect of essential oils of basil on growth of *Aeromonas hydrophila*, and *Pseudomonas flourencens*. *Journal of Applied Microbiology*. 84 (2), 152-158.
- Ünlütürk, A., Turantaş, F., (2003). Gıda Mikrobiyolojisi. Temiz A., Gıdalarda Mikrobiyal Gelişimi Etkileyen Faktörler. 53-82.