



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ BÖLÜMÜ ANABİLİM
DALI**

**MANTARDAN (*TRICHOLOMA TERREUM*) ELDE EDİLEN SU EKSTRAKTI
İLE KİTOSAN TEMELLİ YENİLEBİLİR FİLM ELDESİ VE
KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Behlül KOÇ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Murat KAYA

AKSARAY, 2019

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 162330401 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, **BEHLÜL KOÇ**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**MANTARDAN (*TRICHOLOMA TERREUM*) ELDE EDİLEN SU EKSTRAKTI İLE KİTOSAN TEMELLİ YENİLEBİLİR FİLM ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU**” başlıklı tezini, aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Danışman : Prof. Dr. Murat KAYA

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye :

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye :

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi:/...../.....

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdür

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ve bu eserleri her kullanımında alıntı yaparak yararlandığımı belirtir; bunu şerefimle doğrularım. Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Behlül KOÇ



TEŞEKKÜR

Aydınlığın ışığı, Yüksek Lisans sürecimde benden yardım ve bilgi birikimini esirgemeyen, akademik tecrübelerinden ve fikirlerinden faydalandığım, her zaman bana göstermiş olduğu anlayış, manevi destek, hoşgörü, sabır ve yardımları için, Yüksek Lisans Bitirme Tezimin yürütülmesine danışmanlık eden değerli danışman hocam Prof. Dr. Murat KAYA'ya çok teşekkür ederim.

Yüksek lisansım boyunca ve bu tez çalışmasında, bana öğretmiş olduğu bilgilerini, tecrübelerini, yardımlarını ve manevi desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK'a ve Dr. Lalehan AKYÜZ'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Bu tez çalışmasının antimikrobiyal aktivitenin deney ve yorumlama aşamasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Sedef İLK'e çok teşekkür ederim.

Yüksek lisansım süresince beraber ortak çalışmalar yaptığımız, birbirimizden desteğimizi, bilgilerimizi ve yardımlarımızı esirgemediğimiz grup arkadaşlarım Bahar YILMAZ ve Muhammad MUJTABA'ya teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her konuda bana güvenen, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, büyük sabır gösteren ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme çok teşekkür ederim.

Behlül KOÇ

AKSARAY, 2019

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Mantarlar	3
2.2 Kitosan.....	3
2.3 Yenilebilir Filmler	4
3. MALZEME VE YÖNTEM	8
3.1 Mantarların Toplanması	8
3.2 Kullanılan Materyaller	8
3.3 Mantardan Su Ekstraksiyonu.....	8
3.4 Filmlerin Üretilmesi	8
3.5 Karakterizasyon	9
3.5.1 Ekstraktın fenolik içeriğinin belirlenmesi	9
3.5.2 Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	9
3.5.3 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopu (FT-IR)	9
3.5.4 Diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC).....	9
3.5.5 Termogravimetrik analiz (TGA).....	10
3.5.6 Su temas açısı	10
3.5.7 Optik geçirgenlik	10
3.5.8 Mekanik özellikler	10
3.5.9 Suda çözünürlük	10
3.5.10 Antioksidan aktivite.....	11
3.5.11 Kitosan-mantar ekstraktı filmin biyo-deneyleleri.....	11
3.5.11.1 Bakteri kültürü	11
3.5.11.2 Kitosan-mantar ekstraktı filmin antimikrobiyal aktivitesi.....	11
3.5.11.3 Anti-quorum algılama aktivitesi	12
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	13
4.1 Ekstraktın Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi	13
4.2 Filmlerin Kalınlığı Ve Görünümü	13
4.3 SEM.....	14
4.4 FT-IR	15
4.5 DSC	16
4.6 TGA.....	17
4.7 Su Temas Açısı.....	18
4.8 Optik Geçirgenlik	19
4.9 Mekanik Özellikler.....	19
4.10 Suda Çözünürlük	21
4.11 Antioksidan Aktivite	21
4.12 Kitosan-mantar Ekstraktı Filmin Biyo-deneyleleri	22
4.12.1 Antimikrobiyal Aktivite	22
4.12.2 Anti-quorum Algılama Aktivitesi.....	23

5. SONUÇ VE ÖNERİLER	25
KAYNAKLAR	26
ÖZGEÇMİŞ	30



YÜKSEK LİSANS TEZİ

MANTARDAN (*TRICHOLOMA TERREUM*) ELDE EDİLEN SU EKSTRAKTI İLE KİTOSAN TEMELLİ YENİLEBİLİR FİLM ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU

Behlül KOÇ

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Murat KAYA

ÖZET

Bitki özleri ve hayvansal ürünler, kitosan temelli biyobozunur film üretmek için katkı maddesi olarak kullanılmıştır fakat mantar ekstraktı katkılı kitosan film üzerine yapılmış hiçbir çalışma yoktur. Bu çalışmada, ilk kez kitosan bazlı film üretiminde, yüksek fenolik bileşikler ile yenilebilir bir mantardan (*Tricholoma terreum*) elde edilen su ekstraktı kullanılmıştır. FT-IR analizi sonuçları, mantar ekstraktının kitosan filme başarıyla eklendiğini ortaya çıkarmıştır. Mantar ekstraktının eklenmesi, kitosan filmin elastikliğini, hidrofobikliğini, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini arttırmıştır. Ayrıca, elde edilen kitosan-mantar ekstraktı filmin anti-quorum sensing ve antimikrobiyal aktiviteleri yaygın olarak kullanılan bir antibiyotik olan gentamisinden çok daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, mantar ekstraktının kitosan filme dahil edilmesi, filmin saydamlığını ve termal stabilitesini azaltmıştır. Tüm bu sonuçlar, kitosan-mantar ekstraktı filmin, biyobozunur olmayan, kanserojenik petrol bazlı polimerik filmlerin yerine ambalajlama teknolojisinde kullanılabileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Mantar ekstraktı, Kitosan, Biyobozunur film, Karakterizasyon.

Mayıs, 2019; 31 sayfa

M.Sc. THESIS

**CHITOSAN BASED EDIBLE FILM OBTAINED WITH WATER EXTRACT
OBTAINED FROM THE FUNGUS AND CHARACTERIZATION**

Behlül KOÇ

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology**

Supervisor: Prof. Dr. Murat KAYA

ABSTRACT

Plant extracts and animal products have been used as additive materials in chitosan-based films to produce biodegradable films but there is no study on chitosan blended fungal extract film. A fungal extract obtained from an edible species (*Tricholoma terreum*) with its high phenolic compounds was used in chitosan-based film production for the first time in this study. FT-IR analysis results revealed that fungal extract was successfully added into the chitosan film. The addition of fungal extract enhanced elasticity, hydrophobicity, antioxidant and antimicrobial activity of the chitosan film. Additionally, anti-quorum sensing and antimicrobial activities of chitosan- fungal extract film were found much higher than gentamicin (commonly used antibiotic). Moreover, incorporation of fungal extract into chitosan film decreased transparency and thermal stability of the film. All these results supported that chitosan- fungal extract film could be used in packaging technology instead of non-biodegradable and carcinogenic petroleum based polymeric films.

Keywords: Mushroom extract, Chitosan, Biodegradable film, Characterization.

May, 2019; 31 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Mantar ekstraktının kromatogramı.	13
Şekil 4.2. Hazırlanan filmlerin görünüşü; a. kitosan-kontrol film ve b. kitosan mantar ekstraktı film.	14
Şekil 4.3. Kitosan-kontrol film a., b., c. ve kitosan-mantar ekstraktı film d., e., ve f. elektron mikroskobu görüntüleri.	14
Şekil 4.4. a kitosan, b mantar ekstraktı, c kitosan-kontrol ve d kitosan- mantar ekstraktı filmlerinin FT-IR spektrumları.	16
Şekil 4.5. a kitosan-kontrol film ve b kitosan-mantar ekstraktı filmlerinin DSC termogramı.	17
Şekil 4.6. a. Kitosan-kontrol film ve kitosan-mantar ekstraktı filmin kütle kaybı (%) ve b. TGA eğrisi.	18
Şekil 4.7. a kitosan-kontrol film ve b kitosan-fumantar ekstrakte filmin optik geçirgenliği.	19
Şekil 4.8. Kitosan-kontrol film ve kitosan-mantar ekstrakt filmin mekanik özellikleri (kopma mukavemeti, kopmada-uzama ve Young's modülü). .	20
Şekil 4.9. Kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstraktı filmlerin disk difüzyon testinin inhibisyon bölgeleri (mm).	23
Şekil 4.10. a. Anti-quorum algılama inhibisyonu için plaka difüzyon analizi b. Disk difüzyon testinin inhibisyon bölgesi (mm) (mor-gri çubuklar) ve kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstraktı filmin violacein inhibisyonunun (%) (mor daireler) kantitatif tayini.	24

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
g	Gram
kDa	Kilodalton
mg	Miligram
mm	Milimetre
μg	Mikrogram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
M	Molar
nm	Nanometre
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
μM	Mikrometre
μL	Mikrolitre
%	Yüzde
CO_2	Karbondioksit
DTG_{max}	Maksimum Bozunma Sıcaklığı
EtOH	Etil alkol
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HCl	Hidroklorik Asit
MIC	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromid
NaClO	Sodyum Hipoklorid
NaOH	Sodyum Hidroksit
pH	Hidrojen Potansiyeli
SD	Standart Sapma
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	Termal Gravimetrik Analizi
XRD	X-ışını Kırınımı Yöntemi

1. GİRİŞ

Yeni yapılan birçok çalışmada sentetik ambalaj malzemelerinin insan sağlığı ve çevre üzerindeki olumsuz etkileri ortaya koyulmuştur. Bu petrol bazlı ürünlerin sebep olduğu sağlık ve çevre ile ilgili artan endişeler ve beraberinde halkın bu konuda bilinçlenmesi, yenilenebilir biyo-bazlı filmler için artan bir talep oluşturmuştur. Biyopolimerler jelatin, aljinat ve kitosandan üretilen biyo-uyumlu ve biyo-bozunabilir filmler, halihazırda biyoteknoloji, biyomedikal ve gıda endüstrisi de dahil olmak üzere birçok alanda petrol bazlı plastiklerin yerini almaktadır. Bu biyopolimerler arasında kitinin deasetillenmiş türevi olan kitosan, bolluğu nedeniyle yenilebilir film teknolojisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Kumar, 2000). Deasetilasyon yoluyla, kitin daha çözünür hale gelir ve böylece aktif bir şekli elde edilir. Kitinin aksine, kitosan, günlük diyetin bir parçası olarak tüketilen asetik ve sitrik asitler gibi seyreltik asit asit çözeltisinde çözünebilir. Ayrıca, çok sayıda çalışma, kitosanın biyo-uyumlu, toksik olmayan, antioksidatif ve antimikrobiyal özellikler sergilediğini göstermiştir. Bu özelliklerden dolayı yenilebilir film üretim teknolojisinde kitosan bazlı filmlerin alternatif olarak kullanılabilirliği ortaya koyulmuştur (Tripathi vd., 2009; Chien vd., 2016; Tamer vd., 2016). Şimdiye kadar, sarımsak (Pranoto vd., 2005), tarçın (Ojagh vd., 2010), karanfil, kekik (Hosseini vd., 2009), biberiye (Abdollahi vd., 2012), bergamot (Sánchez-González vd., 2011), kekik, anason, fesleğen, kişniş (Zivanovic vd., 2005) gibi yenilebilir bitkisel yağlar kullanılarak veya üzüm çekirdeği (Moradi vd., 2012) ve Hint bekaşi üzümü (Mayachiew ve Devahastin, 2010) gibi ekstraktlar kullanılarak birçok kitosan kompozit film üretilmiştir. Mantarlar insan diyetinin bir parçasıdır ve birçok yenilebilir mantar türü vardır. Literatürde mantar ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ve antimikrobiyal özellikleri ile ilgili birçok çalışma vardır (Cheung vd., 2003; Alves vd., 2012). Fakat mantar ekstrakt katkılı kitosan film üretimi hakkında literatürde hiçbir bilgi yoktur. Mantarların su özü yüksek miktarda polifenolik bileşik, nişasta olmayan glukan ve glukan içerir. Bununla birlikte, yüksek ölçüde dallanmış 1,3-1,6-glukanlar, esas olarak mantar hücre duvarı yapılarında bulunur. Bu glukanlar glikozidik β - (1-3) veya β - (1-6) bağları ile bağlantılı glikoz monomerlerinden oluşur. Önceki çalışmalarda, mantarlardan elde edilen β -glukanın, lenfosit sayılarında artış ile organizmayı alerjik reaksiyonlara karşı koruduğu belirlenmiştir. Bağışıklık sisteminin güçlü bir uyarıcısı olarak da bilinirler (Akramiene vd., 2007; Rop vd., 2009). Bu çalışmada, *Tricholoma terreum*'un su ekstraktı, ilk kez

kitosan-mantar ekstrakte hkompozit filminin üretimi için kullanılmıştır. Bu yenilebilir mantar, dünyada olduğu gibi Türkiye'de de yaygın olarak bulunmaktadır. Önceki bir çalışmada *T. terreum*'un antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ortaya konulmuştur (Bozok vd., 2017). Bu çalışmada, kitosan filme mantar su ekstraktının katılmasının antimikrobiyal ve antioksidatif özelliklerini arttıracığı varsayılarak, yenilebilir *T. terreum* su ekstraktının kitosan filminin antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri üzerine etkilerini bildirmekte ve tartışmaktadır. Ayrıca kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstrakt filmlerinin fiziko-kimyasal karakterizasyonu, SEM, FTIR, DSC ve TGA analizi kullanılarak belirlenmiştir. Ek olarak, mantar ekstraktının dahil edilmesinin, kitosan filmlerin mekanik özelliklerini (Young modülüsünü, kopma uzaması ve gerilme mukavemeti) ve anti-quorum algılayıcı aktivitesini nasıl değiştirdiği araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Mantarlar

Dünyadaki her yıl mantar sayısı 1,2 milyon ton kadardır. Mantar üretiminde ise Doğu Asya ülkeleri özellikle Çin önde gelmektedir. Sahip olduğu yüksek besin değeriyle de çokça tercih edilen bir besin olan mantarların, ana yetiştirilen çeşitleri % 19 ila% 35 arası protein içermektedir. Dahası, mantar proteinleri tüm temel amino asitleri içerir ve özellikle başlıca tahıl gıdalarında eksik olan lizin ve lösin bakımından zengindir. Yapısındaki çoklu doymamış yağ asitleri (% 72 ila 85), mantarların sağlık açısından da önemli bir besin maddesi olduğunu ortaya koymaktadır. Taze mantarlar, başlıca yetiştirilen türler için yüksek karbonhidrat ve lif miktarı içermektedir. Mantarlar ayrıca tiamin, riboflavin, niasin, biyotin ve askorbik asit olmak üzere iyi bir vitamin kaynağı olarak rapor edilmiştir (Chang ve Buswell, 1996). Mantarların ikinci önemli özelliği ise tıbbi özellikleridir. Özellikle Çin ve Japonya'da, Doğu kültürleri tarafından uzun zamandır tanınmakta ve kullanılmaktadır. Örneğin; *Auricularia sp.*, geleneksel olarak hemoroid ve çeşitli mide rahatsızlıklarını tedavi etmek için; *Tremella fisisiformis*, akciğer dokusunu korumak için; *Hericium erinaceum*, mide ülseri hastaları için; *V. voluacea*, kan basıncını düşürmek ve yaraların iyileşmesini hızlandırmak için; *L. edodes*, raşitizmin önlenmesi için ve Çin'de iki milyondan fazla değerli olan önemli diğer tıbbi mantarların iç organlar, zekayı geliştirme ve yaşlanma sürecini geciktirmek gibi çok yönlü etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Jong ve Birmingham, 1992).

Aktivitesi bilinen ve yetiştirilen mantarların yanı sıra doğada kendiliğinden büyük miktarlarda yetişen ve atık durumda bulunan pek çok mantar türü bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında kullanılan *T. terreum*'da bu mantarlardan biridir. Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de bol bulunan yenilebilir bir mantar türü olduğu için bu çalışmada tercih edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin güçlü olduğu belirtilen bu mantardan elde edilen ekstraktın kitosan filme eklenmesi ile kitosan filmin özelliklerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2.2 Kitosan

Poli β - (1 \rightarrow 4) -N-asetil-d-glukozamin yapısına sahip olan kitin, dünyada ikinci en bol bulunan biyopolimerdir. En önemli kaynağı iki deniz kabuklusu olan karidesler ve yengeçlerdir (Alves vd., 2012). Bu biyopolimer, muazzam sayıda canlı organizma

tarafından sentezlenir. Kitin, doğada artropodların dış iskeletinde veya mantar ve maya hücre duvarlarında yapısal bileşenleri oluşturan sıralı kristalli mikrofibriller halinde ortaya çıkmaktadır. Kitosan, kitinin deasetillenmiş formudur. Kitin deasetilasyon derecesi yaklaşık % 50'ye ulaştığında (polimerin kaynağına bağlı olarak), sulu asidik ortamda çözünür hale gelir ve kitosan olarak adlandırılır. Kitosan, katı halde yarı kristal halde bulunmaktadır. Kitosan, kitinin çok daha aktif bir formudur ve toksik olmayan asetik asit, formik asit gibi zayıf asitlerin çok düşük derişimlerinde çözünerek jel hale gelebilmektedir.

Kitosan, sahip olduğu biyoyumluluk, biyobozunabilirlik, yenilebilirlik, yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktivite ve nontoksik özelliği sayesinde pekçok uygulama alanına sahiptir (Rinaudo, 2006). Bu alanların bazıları tarım; bitkilerde savunma, mekanizması, bitki büyümesinin uyarılması, tohum kaplama, donma koruması, gübre-besin maddelerinin toprağa zamanlı salınımı, su ve atık arıtma; suyun temizliği (içme suyu, havuzlar), metal iyonlarının uzaklaştırılması, ekolojik polimer (sentetik polimerleri gidermek,) kokuların azaltılması, yiyecek ve içecekler; insan tarafından sindirilemez (diyet lifi), lipid bağlayıcı (kolesterolü azaltıcı etki), soslar için koyulaştırıcı ve stabilizatör meyve için koruyucu (fungistatik, antibakteriyel) kozmetik; cilt nemi koruma, akne tedavisi, saçlardaki elektrikleşmenin azaltılması, cilt tonu eşitleme, biyofarmasotik; immünolojik antitümör, hemostatik, bakteriyostatiktir.

Kitosan, biyoyumlu, biyobozunur, yenilebilir olma ve antioksidan, antibakteriyel, nontoksik özellikleri sayesinde biyoyumluluk gerektiren biyo materyal üretimi için en uygun materyallerden biridir. Literatürde daha önce yapılmış hidrojel ve filmler gibi kitosan temelli pek çok biyomateryal bulunmaktadır. Kitosanın kitinden daha kolay işlenmesi büyük bir avantajdır, fakat daha hidrofilik karakterde oluşu ve pH duyarlılığı nedeniyle kitosan materyallerinin stabilitesi genellikle daha düşüktür. Bu ürünler içerisinde yenilebilir filmler son zamanların en dikkat çekici konularından biridir.

2.3 Yenilebilir Filmler

Gıda ürününün kalitesi organoleptik, besleyici ve hijyenik özelliklere bağlıdır, bunlar özellikle depolama ve ticarileştirme sırasında değişmektedir. Bu tür değişiklikler temel olarak gıdalar ve çevreleyen ortamlar arasındaki ilişkiler veya kompozit bir gıdadaki

farklı bileşenler arasındaki geçişlerden kaynaklanmaktadır. Sterilizasyon, yüksek basınç, radyasyon veya aktif ajanlar gibi birçok fiziksel ve kimyasal işlemler ile gıda kalitesini koruyacak şekilde geliştirilmiştir. Bununla birlikte, koruma işleminin nihai adımında sağlanan gıdaya uygun ortamın bir paket aracılığı ile sürdürülmesi ihtiyacı doğmuştur. Bu nedenle, ambalaj, gıda kalitesinin dayanıklılığı için önemli bir etmendir.

Sentetik ambalaj malzemelerinin performansı, gıda ve depolama ortamı arasında geçirgenliklerinin belirlenmesiyle, kütle kaybını azaltmak için verdikleri verimlilik ile değerlendirilmektedir. Seçici olarak gaz ve çözünen transferleri önemli ölçüde azaltabilen reçineler, selülozik ve plastik filmler gibi sentetik ambalajlardaki sürekli ilerleme, kompozit (kopolimer) ve / veya çok katmanlı film ambalajlarının kullanımının önünü açmıştır. Bununla birlikte, plastik filmlerin uygunluğu evrensel kabul görmemiştir. Bunun üzerine sentetik ve yenilebilir ambalajların kombinasyonu, gıda kalitesi muhafazasının ambalajlama ile verimliliğini arttırmak için önerilmiş ve üzerine yapılan çalışmalara yoğunlaşmıştır (Krochta, 1992). Diğer açılardan yenilebilir ambalajlar, kirletici olmayan ürünlerdir, çünkü bunlar tarımdan gelen doğal ve biyolojik olarak çözünebilir maddeleri içermektedirler. Böylece çevrenin korunmasına da katkıda bulunurlar.

1990'dan bu yana yenilebilir ambalaj üretimi ile ilgili doksanın üzerinde patent ve çok daha fazla sayıda bilimsel makale yayınlanmıştır. Bu çalışmaların çoğu su buharı transferleri ile ilgilidir, ancak diğer bazı potansiyel uygulamaların olduğu çalışmalarda mevcuttur. Yenilebilir ambalajlar, aroma bileşiklerini, antioksidanları, antimikrobiyal maddeleri, pigmentleri, koruyucu malzemeleri ya da vitaminler gibi besin maddelerini kapsüllemek için kullanılabilir (Deasy, 1984; Mazza ve Qi, 1991; Rico-Pena ve Torres, 1991; Avena-Bustillos ve Krochta, 1993; Debeaufort ve Voilley, 1994; Krochta vd., 1994).

Yenilebilir filmler ve kaplamalar için gerekli olan özellikler esas olarak, kaplanabilen gıda ürününün içeriğine bağlıdır. Örneğin, çoklu doymamış yağlar gibi oksidasyona duyarlı ürünler için düşük oksijen geçirgenliği gereklidir ya da yaş sebze meyve için saklanma sırasında ozmotik dehidrasyon gerçekleşirken kalitesine zarar veren reaksiyonları önlerken, meyve ve sebze solunumunu (O₂, CO₂, etilen değişimleri) mümkün kılmaktadır. Burada bariyer verimliliğinin yanı sıra yenilebilir filmler ve

kaplamalar, organoleptik ve fonksiyonel olarak gıdalarla uyumlu olmalıdır (El Ghaouth vd., 1991).

Yenilebilir ambalajlar, gıda maddelerinin kalitesini ve raf ömrünü arttırmak için çok sayıda potansiyel sunsa da endüstriyelleşme konusunda bazı sıkıntılar meydana gelmektedir. Bu ambalajların formülasyonunun stabilizasyonu güçtür, bu da bunların kullanımını ve uygulamalarını nispeten daha zor hale getirmektedir.

Bu nedenle, çözünebilir filmler ve kaplamalar gibi tarımsal kökenli polimerler aracılığıyla çözünen maddelerin ve uçucu maddelerin transfer mekanizmalarının daha iyi anlaşılması için daha fazla temel araştırma gereklidir.

Yenilebilir bir ambalajın seçimi, esas olarak, koruma ürünü ve saklama koşulları gerektiren gıda ürününün spesifik özelliklerine bağlıdır. Karbonhidratlar, proteinler, lipitler veya bunların karışımları gibi film ve kaplama formülasyonları için birçok malzeme kullanılmıştır. Yenilebilir filmler ve kaplamalar daha önce et, kümes hayvanları, deniz ürünleri, meyveler, sebzeler, tahıllar, şekerler, heterojen ve karmaşık gıdalar veya taze, kurutulmuş, dondurulmuş ve işlenmiş gıdalar üzerine uygulanmıştır.

Yenilebilir kaplamalar, gıda kalitesi, süreçler ve depolama sırasındaki iyileştirmede gelecek için çok umut verici bir sistemdir. Plastik ambalajların yerini alabileceği gibi plastik ambalajın uygulanmadığı yerlerde de kullanılabilirler, yani bir gıda içindeki birkaç bölme ayırabilirler. Yenilebilir ambalajlar akıllı ambalajlardır çünkü hem aktif hem de seçicidir ve sonsuz potansiyel kullanımı vardır.

Yenilebilir filmler ve kaplamalar, hayvansal ve bitkisel proteinler, sakızlar ve lipidler gibi tarımsal ürünlerden elde edilen ve biyolojik olarak mükemmel bir şekilde parçalanabilen ve dolayısıyla çevre için tamamen güvenli olan doğal polimerlerdir. Maliyetleri, polietilen veya polipropilen filmlerinkinden 10-50 kat daha yüksektir, fakat karmaşık, çok katmanlı veya aktif plastik filmlerle neredeyse aynıdır.

Bununla birlikte, maliyeti, kullanılan miktarlar çok düşük olduğundan ve maliyetleri katma değerli gıda ürünlerinde spesifik hedefler için uygulanabilir. Böylece, yenilebilir polimerlerin ve plastik malzemelerin bilgisinin, yeni uygulamaların geliştirilmesi, yeni biyolojik olarak parçalanabilen malzemeler ve yeni çevresel yaklaşımlar için sinerjistik olarak kullanılması gerekmektedir. Sonuç olarak,

yenilebilir ambalajlama materyalleri yarının gıda ambalajları için başarılı bir alternatif gibi görünmektedir (Debeaufort vd., 1998).



3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Mantarların Toplanması

T. terreum mantarları, kayın ormanından, 1110 m, 40 ° 33 'K - 30 ° 00' D, 11.11.2015, Sakarya, Türkiye (Kayıt numarası: Akata 6705) İnönü Yaylası'nda toplanmıştır.

3.2 Kullanılan Materyaller

Orta moleküler ağırlıklı kitosan (CAS Numarası: 9012-76-4, PCode: 101986515,% 75-85 deasetilatlı) Sigma-Aldrich 'den alınmıştır. Mantar ekstraksiyonu ve film hazırlığı için kullanılan kimyasallar Sigma-Aldrich 'den temin edilmiştir.

3.3 Mantardan Su Ekstraksiyonu

Mantarlar, doğrudan güneş ışığından uzakta oda sıcaklığında kurutulmuştur. Mantarlar, WARING (Conair Corp., Stamford, ABD) ticari karıştırıcı kullanılarak toz haline getirilmiştir. Daha sonra, 100 mL damıtılmış su, toza ilave edilmiş ve karışım 100 ° C'de kaynatılmıştır. Numune, 110 µm gözenek boyutlu bir filtre kağıdı kullanılarak süzölmüş ve sulu faz ayrılmıştır. Son olarak, mantarın su özü, bir buharlaştırıcı (Hei-VAP Avantajı, Heidolph) kullanılarak 100 ° C'de ısıtılmış ve kuru mantar ekstraktı elde edilmiştir.

3.4 Filmlerin Üretilmesi

Kitosan ve mantar ekstraktı kullanılarak iki farklı film hazırlanmıştır. Her film için 200 mg kitosan 20 mL% 1 asetik asit çözeltisi içinde çözülmüş ve her film matrisine plastikleştirici olarak 100 µL gliserol (0.63 g gliserol / kitosan) eklenmiştir. Mantar ekstraktı (100 mg) film matrisinden birine eklenmiştir. Mantar ekstraktı olmayan diğer film matrisi kontrol olarak kullanılmıştır. Film matrisi, bir homojenizatör (Heidolph, Silent Crusher M) kullanılarak 10 dakika boyunca 26000 rpm'de karıştırılmıştır. Film oluşturucu jel matris (20 mL), petri kaplarına dökülmüş ve bir fırında 48 saat 30 ° C'de kurutulmuştur. Numuneler kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstrakt filmleri olarak etiketlenmiştir. Hazırlanan filmlerin kalınlığını belirlemek için bir dijital mikrometre (Mitutoyo, Çin) kullanılmıştır.

3.5 Karakterizasyon

3.5.1 Ekstraktın fenolik içeriğinin belirlenmesi

Fenolik bileşiklerin analizi HPLC (Agilent 1200) tarafından gerçekleştirilmiştir. Kısaca, 0.1 g numune metanol (HPLC derecesi) içinde homojenize edilmiş, daha sonra karışım vorteksle karıştırılmış ve 0.45 µm'lik bir membran filtreden süzülmüştür. Süzüntü 278 nm'de HPLC ile analiz edilmiştir. Ayırma için ters fazlı kolon (Supelco LC18 250x4.6 mm², 5 µm) kullanılmıştır. Hareketli faz, Caponio ve ark. tarafından tarif edildiği gibi% 2 asetik asit (A) ve metanoldür (B) (1999). Fenolik bileşiklerin miktarı, tutulma sürelerinin ve fenolik bileşik standartları (benzoik asit, kafeik asit, kateşin, klorojenik asit, t-sinamik asit, p-kumarik asit, epikateşin, gallik asitler, hesperidin, hidroksibenzoik asit, kuersetin, rosmarinik asit, sinapik asit, siringik asit, t-ferulik asit) ile karşılaştırılarak yapılmıştır.

3.5.2 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstraktı filmlerinin yüzey morfolojileri, SEM (Zeiss, Eco 40, Almanya) analiziyle belirlenmiştir. Filmler, SEM görüntüleri çekilmeden önce Sputter Coater (Cressingto Auto 108) tarafından altın / paladyum ile kaplanmıştır.

3.5.3 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopu (FT-IR)

Kitosan-kontrol filminin ve kitosan-mantar ekstraktı filminin yapısal değişimlerini belirlemek için FT-IR analizi, 600-4000 cm⁻¹ dalga boyunda Perkin Elmer Spektrum FT-IR Spektrometre (Universal Attenuated Total Reflectance) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, kitosanın ve filme olan etkisini belirlemek için mantar ekstraktının FTIR spektrumları da kaydedilmiştir.

3.5.4 Diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC)

Üretilen filmlerin DSC analizleri N₂ atmosferi altında ve Mettler Toledo DSC822e (Schwerzenbach, İsviçre) kullanılarak -50 ila 420 ° C sıcaklık aralığında gerçekleştirilmiştir. Hermetik alüminyum tavaya beş mg numune konuldu ve 5 ° C dk⁻¹ ısıtma hızında ısıtılarak analiz edilmiştir.

3.5.5 Termogravimetrik analiz (TGA)

Filmlerin termal özellikleri, bir TGA / SDTA 851 Mettler Toledo cihazı kullanılarak termogravimetrik analiz ile belirlenmiştir. TGA eğrileri N₂ atmosferi altında, 30 °C - 600 °C sıcaklık aralığında ve 10 °C dk⁻¹ ısıtma hızında elde edilmiştir.

3.5.6 Su temas açısı

Filmlerin hidrofobisitesini belirlemek için Data Physics video-based contact angle analyzer system (OCA20) kullanılarak su temas açısı analizi gerçekleştirilmiştir. Film yüzeyine 5 µL su damlatılmış ve her numune için temas açısı değerlendirilmiştir. Yüzey serbest enerjisi değerlendirmek için film yüzeyinin farklı konumlarında alınan ortalama 10 ölçüm kullanılmıştır.

3.5.7 Optik geçirgenlik

Filmlerin optik geçirgenlik analizi, UV spektrofotometresi (Shimadzu UV-3600 UV-VIS-NIR) kullanılarak 400-700 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

3.5.8 Mekanik özellikler

İlk olarak, filmler 5 × 40 mm² boyutlarında kesilmiştir. Filmlerin gerilme mukavemeti testleri, 250 N'lik bir yük hücresi ve 5 mm'lik min⁻¹'lik deformasyon oranı ile Malzeme Test Sistemleri (MTS Insight 10) kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca elde edilen filmlerin Young's modülü, Kopma uzaması (%) ve Çekme mukavemeti (TS) MTS Test Works 4 yazılımı kullanılarak belirlenmiştir.

3.5.9 Suda çözünürlük

Su çözünürlük deneyi için filmler yaklaşık 2 x 3 cm² oranında kesilmiştir. Numuneler, sabit bir ağırlığa gelene kadar bir fırında 60 ° C'de kurutulmuştur. Daha sonra her bir film Petri kaplarına alınmış ve filmlerin üzerine 20 mL damıtılmış su eklenmiştir. Daldırma işleminden 2 gün sonra, filmler bir dereceye kadar erimiş ve filmlerin kalan kısmı alınarak sabit bir ağırlığa gelene kadar etüvde 24 saat 60 ° C'de kurutulmuştur. Deneyler üç kez tekrarlanmış ve ağırlık kaybı aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ WL} = ((W_i - W_f)) / W_i \times 100 \quad (1)$$

WL = ağırlık kaybı, W_i = başlangıç ağırlığı ve W_f = son ağırlık

3.5.10 Antioksidan aktivite

Filmlerin antioksidan aktivitesi, daha önce bildirilen 2,2-difenil-1-pikirilhidrazil (DPPH) yönteminin modifikasyonu kullanılarak kaydedilmiştir (Hajji vd., 2016). Kısaca, her filminden 15 mg'lık örnekler, 1 mL 6×10^{-5} M DPPH solüsyonunda çözündürülmüştür. Örnekler karanlık ortamda 3 saat inkübe edilmiş ve absorbans BECKMAN COULTER, DU 730 UV spektrofotometre ile 517 nm'de ölçülmüştür. Deneyle 3 kez tekrarlanmış ve sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. DPPH radikal süpürücü aktivite (% I) aşağıdaki denklemlerle hesaplanmıştır.

$$\text{DPPH radikal süpürücü aktivite (\% I)} = ((A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}) \times 100 \quad (2)$$

A_{kontrol} ve $A_{\text{örnek}}$, sırasıyla DPPH çözeltisi ve film örnekleri + DPPH çözeltisinin absorbansıdır.

3.5.11 Kitosan-mantar ekstraktı filmin biyo-deneyle

3.5.11.1 Bakteri kültürü

Antimikrobiyal aktivite ölçümleri için patojen mikroorganizmalar (Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Proteus vulgaris ATCC13315, P. mikrobilis ATCC 14153, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Bacillus thuringiensis, Enterobacter aerogenler ATCC13048, Streptococcus mutans ATCC 25175 ve Salmonella typhmurium SL 1344) kullanılmıştır. Ayrıca, anti-quorum algılama testi için, haberci suş (Chromobacterium violaceum CV026), mikrobiyal biyoaktivitenin kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstraktı filmlerinin özelliklerini değerlendirmek için kullanılmıştır.

3.5.11.2 Kitosan-mantar ekstraktı filmin antimikrobiyal aktivitesi

Test edilen patojenlere karşı filmlerin antimikrobiyal analizi, hafif modifiye edilmiş disk-difüzyon yöntemi (Klinik Laboratuvar Standardı Ulusal Komitesi (NCCLS) (Wayne, 2002) kullanılarak değerlendirildi. Mikroorganizmaların duyarlılığı referans olarak 0,5 McFarland standardı kullanılarak belirlendi. Mikroorganizmanın hazırlanan

süspansiyonu (100 µL), agar plakaları üzerinde ekildi ve daha sonra filtre diskler agar plakalara gömüldü ve örnekler (20 µL) yüklendi. Son olarak, petri plakaları 24 saat 37 ° C'de inkübe edildi.

3.5.11.3 Anti-quorum algılama aktivitesi

Anti-quorum algılama aktivitesini belirlemek için, *Chromobacterium violaceum* CV026 bakteriyel süspansiyonları LB broth içinde gece boyunca aerobik büyümeyle (30 ° C) alt kültürlendi. Filmlerin anti-QS aktivitesini değerlendirmek için disk difüzyon yöntemi kullanıldı. C6-HSL sinyal molekülü içindeki LB agar (0.25 ug / mL) Petri plakalarına döküldü ve daha sonra bakteri kültürü aşılandı. Diskler (çap: 6 mm) hazırlanan agar üzerine konuldu, test edilen numuneler (20µL) yüklendi ve plakalar 30 ° C'de 24-30 saat inkübe edildi. Solventin kendisi (20 µL) ve gentamisin (10 µg disk⁻¹) sırasıyla negatif ve pozitif kontroller olarak kullanıldı. Bütün deneyler üç kez tekrarlandı.

Violacein inhibisyonunun kantitatif değeri, flask deneyi ile belirlendi. C6-HSL (5 mcM) sinyal molekülleri ve örnekler, bakteri aşılanmış LB broth içinde eklendi ve 30 ° C'de 24 saat inkübe edildi. Violacein ekstraksiyonu, Smiderle tarafından tarif edildiği gibi gerçekleştirildi (Smiderle vd., 2011). Tüm şişelerin (1 mL) süspansiyonu 10 dakika boyunca 9.000 g'de santrifüjlendi. Daha sonra çözeltiler dimetilsülfoksit (1 mL) içerisinde çözüldürüldü, vortekslendi ve santrifüjlendi. Geri kazanım, UV-vis spektrofotometresi (PG Instruments, T-60) ile 585 nm'de ölçüldü. Test üç kez tekrarlandı ve pigmentin inhibisyon yüzdesi aşağıda verilen formüle göre belirlendi:

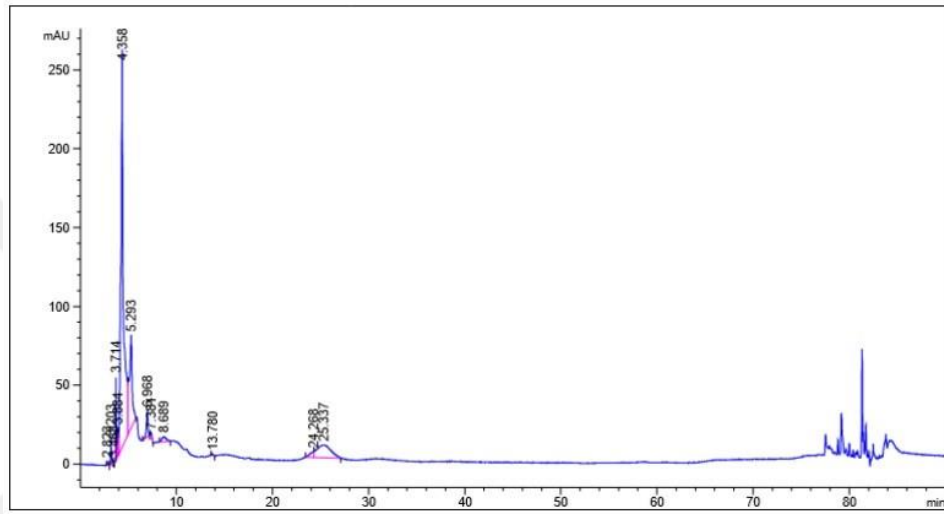
$$\% \text{ pigment inhibisyonu} = ((\text{kontrol A585} - \text{test A585})) / (\text{kontrol A585}) \times 100 \quad (3)$$

Değerler ortalama zon çapı inhibisyonu mm ± standart sapmada olarak verildi (ortalama ± SD).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Ekstraktın Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi

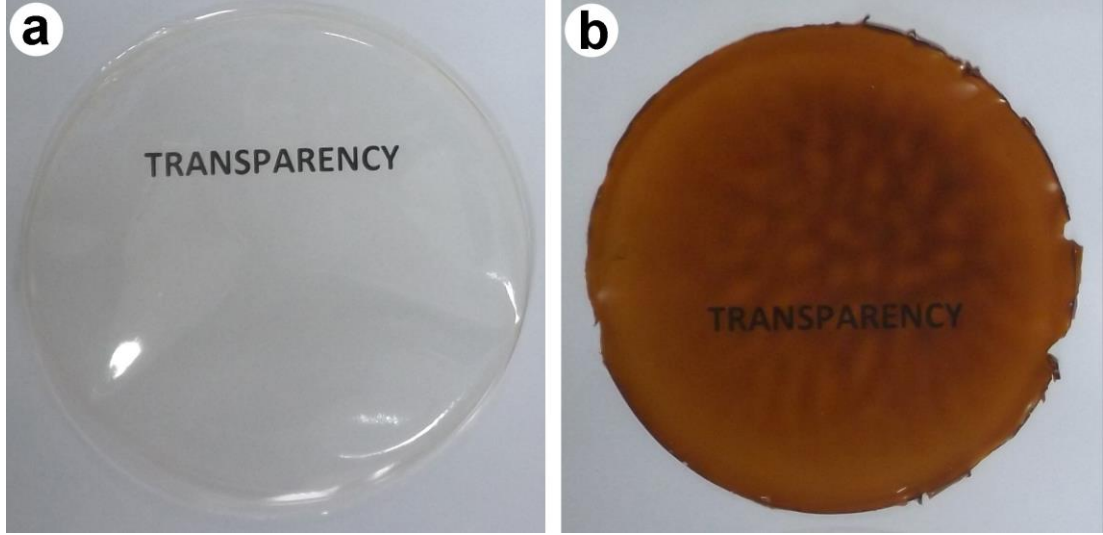
Mantar ekstraktın HPLC sonuçları, Şekil 4.1'de verilmiştir. Belirlenen fenolik içerik arasında, p-kumarik asit ve gallik asit dikkat çekicidir. 0.1 g mantar ekstraktında $2659.82 \mu\text{g g}^{-1}$ p-kumarik asit ve $2126,69 \mu\text{g g}^{-1}$ gallik asit bulunduğu tespit edilmiştir. *T. terreum*'un yüksek fenolik içeriği, önceki bir çalışmanın sonuçları ile tutarlı bulunmuştur (Tel vd., 2012).



Şekil 4.1. Mantar ekstraktının kromatogramı.

4.2 Filmlerin Kalınlığı Ve Görünümü

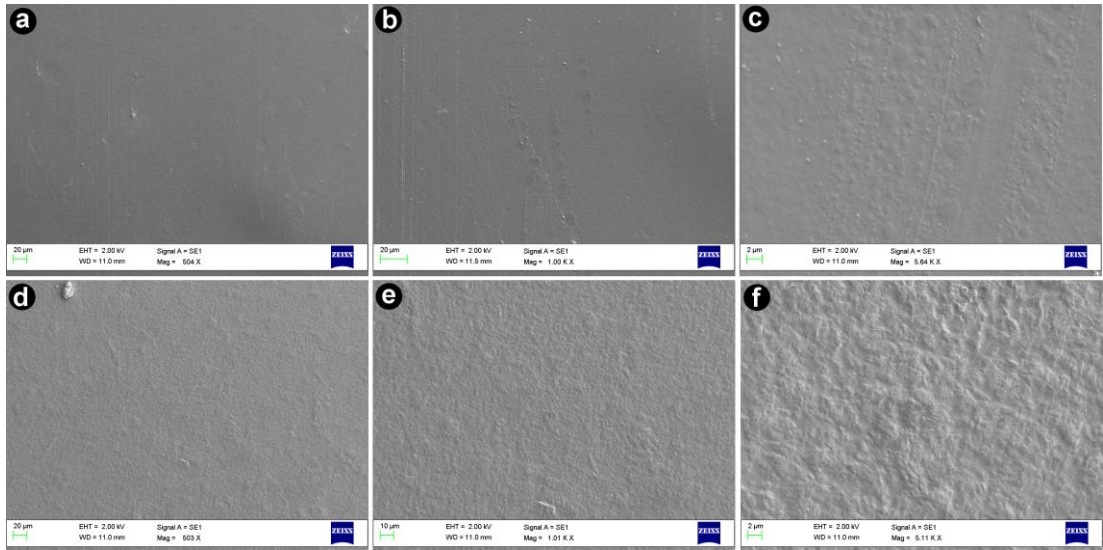
Kitosan-kontrol ve kitosan-mantar özü filmlerin görünümleri Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Kitosan-kontrol ve kitosan-mantar özü filmlerinin kalınlığı sırasıyla $60 \pm 2.24 \mu\text{m}$ ve $190 \pm 10.3 \mu\text{m}$ olarak kaydedildi. Kitosan filmine β -glukan içeren mantar özü eklendiğinde, kalınlığın arttığı belirlenmiştir. Kitosan kontrol film şeffaf olan görünümü, mantar ekstraktın eklenmesi ile Şekil 4.2'de görüldüğü açık kahverengi bir görünüme dönüşmüştür.



Şekil 4.2. Hazırlanan filmlerin görünüşü; **a.** kitosan-kontrol film ve **b.** kitosan-mantar ekstraktı film.

4.3 SEM

Yüzey yapısı çeşitli büyütmelerde incelendi (Şekil 4.3). Kitosan-kontrol filminin pürüzsüz yüzeyinin, filme mantar ekstraktı eklendikten sonra sertleştiği belirlenmiştir. Mantar ekstraktı ve kitosan polimer ağı arasındaki güçlü etkileşim nedeniyle, film yüzeyi homojen ve sürekli gözlenmiştir. Mantar ekstrakt % 1 asetik asit çözeltisinde çözülürken, korunmuş film bütünlüğü ile sonuçlanan etkileşim olasılığını arttırmıştır. Bu durumun suda çözünürlük deneyiyle de uyumlu olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.3. Kitosan-kontrol film **a.**, **b.**, **c.** ve kitosan-mantar ekstraktı film **d.**, **e.**, ve **f.** elektron mikroskobu görüntüleri.

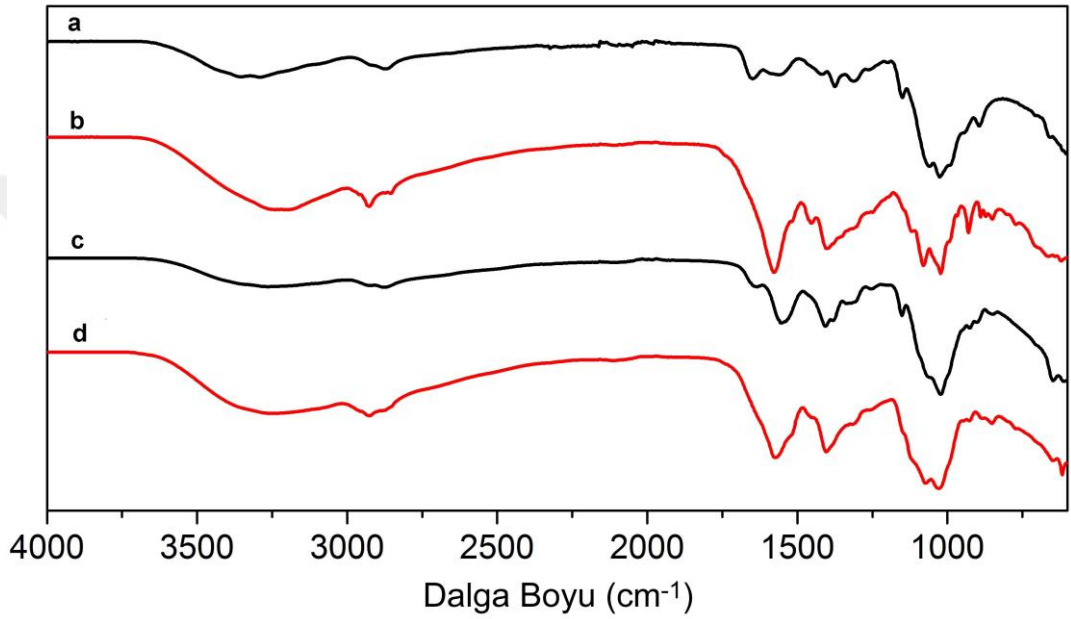
4.4 FT-IR

Kitosanın, mantar ekstraktının, kitosan-kontrol filmin ve kitosan-mantar ekstrakt filminin FTIR spektrumları Şekil 4.4'te verilmiştir. Bu spektrumların karşılaştırılmasıyla moleküler yapılardaki bağ değişimleri araştırıldı. Birinci spektrumda alifatik C-H gerilme titreşimine (2873.89 cm^{-1}) ve -OH bağlarına (3289.00 cm^{-1}) karşılık gelen kitosan karakteristik zirveleri görüldü. 1648.89 , 1561.90 , 1374.99 ve 1025.75 cm^{-1} 'deki zirveler sırasıyla amid I (C=O gerilmesi), amid II (N-H eğilme), amid III (C=N gerilmesi) ve kitosanın C=O gerilme titreşimine karşılık gelmektedir. Kitosanın spektrumunda, 3263.31 cm^{-1} 'de görülen -OH bağ piki, gliserol, su ve kitosan arasında moleküller arası H bağlarının oluşmasıyla genişlemiştir. Amid I ve amid III piklerinin yoğunluğu azalırken, kitosan ve kitosan film matrisi arasındaki moleküler etkileşimlere bağlı olarak amid II tepe yoğunluğu artmıştır. Gliserol CH₂ grubu titreşimleri 1405.75 cm^{-1} 'de gözlemlendi.

Mantar ekstrakt spektrumunda karakteristik polisakkarit bantları gözlemlendi. Polisakkarit piklerinin 889.34 ve 850.50 cm^{-1} seviyelerinde bulunması yapıda β -glukan olduğunu işaret etmektedir (Gonzaga vd., 2013). 1576.09 cm^{-1} 'de konjuge C=C gerilmesi, polifenolik bileşiklerin varlığını gösterdi. HPLC sonuçları, mantar ekstraktı içinde polifenolik bileşiklerin varlığını gösterdi. Ayrıca, CH₂ gruplarının titreşimleri β -glukan ve polifenolik bileşiklerin pikleri 1452.36 ve 1401.90 cm^{-1} 'de kaydedildi. Polifenolik bileşiklerin C-O-C glikosidik bağlarının β -glukan ve primer alkol gruplarının (C-O-H) pikleri sırasıyla 1079.70 ve 1022.18 cm^{-1} 'de gözlemlenmiştir. Güçlü CH alifatik germe titreşim piki (2926.81 ve 2854.91 cm^{-1}), C-O germe titreşimleri ($967.76 - 1118.83\text{ cm}^{-1}$ aralığında) ve β -glukanın C-H deformasyon bantları ($929.86 - 772.02\text{ cm}^{-1}$ aralığında) kaydedildi. Mantar ekstraktının FT-IR spektrumu, OH gruplarının (3196.21 cm^{-1}) güçlü absorpsiyon pikinden oluşmuştur. Spektrumdan görüldüğü gibi, OH grubu piki, bu moleküller içindeki polifenolik bileşikler ile β -glukan veya moleküller arası oluşan hidrojen bağlarından dolayı geniş olarak gözlemlendi.

Kitosan film matrisine mantar ekstraktı dahil edildiğinde, spektrumda pik genişlemesi, kayma ve yoğunluğun artması gibi çeşitli değişiklikler gözlemlendi. OH gruplarının güçlü absorpsiyon pikininin, kitosan film matrisi ile β -glukan ve polifenolik bileşikler arasında hidrojen bağlarının oluşumu nedeniyle genişlediği ve hafifçe daha düşük

frekanslara kaydığı gözlemlendi. CH alifatik germe titreşim pikinin yoğunluğu β -glukandan gelen alifatik CH₂ gruplarıyla artarak 2926.35 cm⁻¹'de gözlemlendi. Kitosan amid II bandı (1573.69 cm⁻¹), polifenolik bileşiklerin C = C gerilme pikinin üst üste binmesiyle yoğun olarak gözlemlendi. Ayrıca, β -glukanın CH₂ eğilme titreşimleri, amid III bandı (1403.95 cm⁻¹) ile çakıştığı gözlemlendi. C-O-C glikozidik bağların ve C-O-H gruplarının piklerinin, β -glukan ve polifenolik bileşiklerin etkisi ile genişlediği belirlendi.



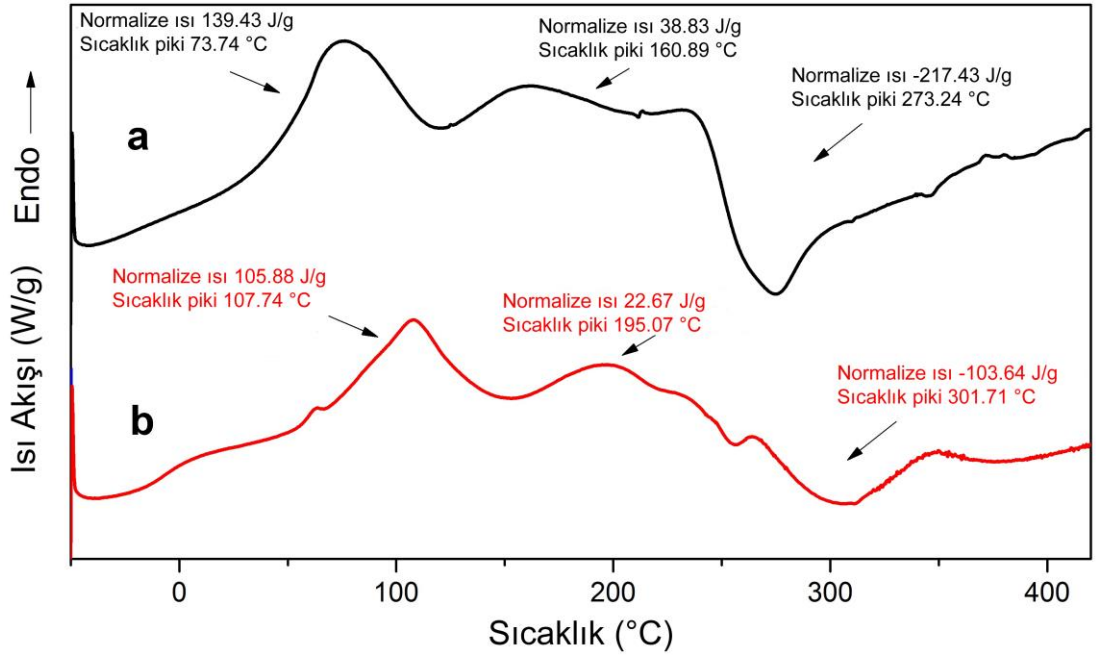
Şekil 4.4. a kitosan, b mantar ekstraktı, c kitosan-kontrol ve d kitosan- mantar ekstraktı filmlerinin FT-IR spektrumları.

4.5 DSC

Filmlerin cam geçiş sıcaklığının (T_g) belirlenmesi için DSC analizi yapıldı. DSC eğrileri Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstrakt filmler için 73.73 °C ve 107.74 °C'de gözlenen endotermik pikler, serbest-durum suyunun kaybına atfedilmektedir. Kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstrakt filmlerde suyun buharlaşması için gerekli olan enerjiler sırasıyla 139.43 J g⁻¹ ve 105.88 J g⁻¹ olarak kaydedilmiştir. 160.89 °C'de gözlemlenen ikinci termal olay, kitosanın T_g'si ile ilgilidir. Birkaç çalışma, kitosan T_g'nin belirlenmesinin zor olduğunu belirtmiştir (Dong vd., 2004). Kitosanın T_g'si, DMTA kullanılarak yaklaşık 150 °C'de olarak rapor edilmiştir (Ogura vd., 1980). Ahn, kitosan T_g pikinin 161 °C'de gözlemlendiğini ortaya koymuştur (Ahn vd., 2001). Bu çalışmada, DSC sonuçları literatür çalışmaları

ile uyumlu bulunmuştur. Kitosan-mantar ekstraktı film için, Tg zirvesi 195.07 °C'de gözlemlendi bu artış mantar ekstraktı eklenmesine atfedildi. Filmlerin yüksek Tg'sinin moleküller arası hidrojen sınırlarını oluşturan hidroksil gruplarının sayısındaki artışla ilişkili olabileceği söylenebilir. Bu gözlem yapılan çalışma ile uyumlu bulunmuştur (van Der Sman, 2013).

Ekzotermik tepeler, sırasıyla kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstraktı filmleri için 273 ° C ve 301 ° C'de gözlenmiştir. Bu zirveler, polimerlerin kristalleşmesine atfedilmiştir. Mantar ekstraktının ilave edilmesinin, kristalleşmeyi geciktirerek kitosan filminin kristalleşmesini arttırdığı ve bu nedenle daha geniş bir tepe gözlemlendiği görülmektedir. Bu, kitosan ve mantar ekstraktı arasındaki moleküller arası etkileşimlere ve ayrıca polimer yapısının dallanmasına da atfedilebilir.

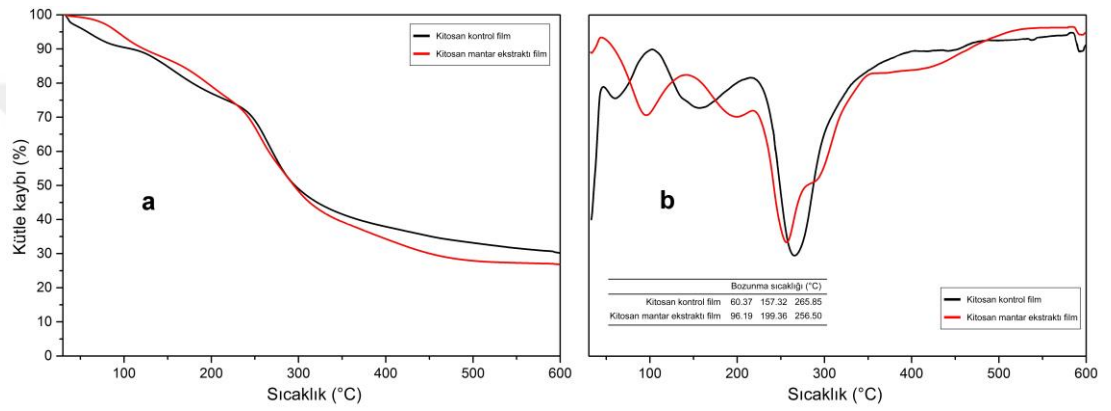


Şekil 4.5. a kitosan-kontrol film ve b kitosan-mantar ekstraktı filmlerinin DSC termogramı.

4.6 TGA

Filmlerin TGA sonuçları Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Kitosan kontrol filmi için üç ana bozulma piki gözlemlenmiş, ancak kitosan-mantar ekstraktı filmi için dört bozulma piki kaydedilmiştir. Her iki film için de, 30 ° C ila 100 ° C arasındaki ilk bozunma aşaması, su buharlaşmasına bağlanmıştır. İkinci bozunma piki kitosan-kontrol filmi için 110-220 ° C (max: 157.32 ° C) ve kitosan-mantar ekstraktı filmi için 140-210 ° C (max:

199.36 ° C) olarak kaydedilmiştir. Bu adım, Dou ve arkadaşları tarafından bildirildiği gibi gliserolün bozulmasına bağlıydı. Üçüncü bozunma, kitosan-mantar film için 220-340 ° C (max: 265.85 ° C) ve kitosan-mantar ekstraktı film için 210–270 ° C (max: 256.5 ° C) olarak kaydedilmiştir ve bu bozunma kitosan yapısının ayrışmasına bağlanmıştır (Hong ve arkadaşları, 2007). Dördüncü yıkım aşaması (270-440 ° C), sadece kitosan-mantar ekstraktı filmi için gözlemlenmiştir ve bu bozunma mantar ekstraktının bozulmasına bağlanmıştır. Ayrıca mantar ekstraktının kitosan filmine birleştirilmesi, ikinci aşamada gliserolün bozunma sıcaklığını 157.32 ° C'den 199.36 ° C'ye yükseltmiştir.



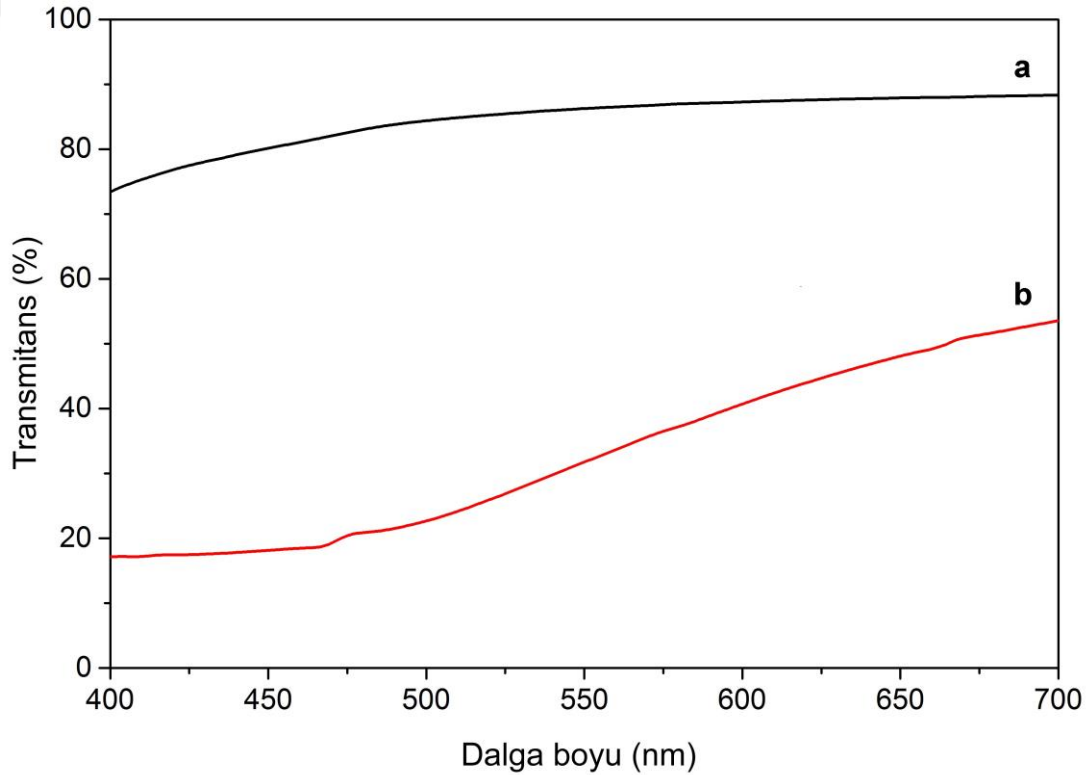
Şekil 4.6. a. Kitosan-kontrol film ve kitosan-mantar ekstraktı filmin kütle kaybı (%) ve **b.** TGA eğrisi.

4.7 Su Temas Açısı

Kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstrakt filmlerin su temas açıları sırasıyla $70.38^{\circ} \pm 1.89^{\circ}$ ve $76.06^{\circ} \pm 3.71^{\circ}$ olarak kaydedilmiştir. Sonuçlar, kitosan filme mantar ekstraktın ilave edilmesinin, su temas açısını önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir ($p < 0.05$). Kitosan-mantar ekstrakt filmin hidrofobikliğindeki artışın, β -glukan, fenolik bileşikler ve kitosan film matrisi arasındaki moleküller arası etkileşimlere bağlı olabileceği öngörülmüştür. Mantar ekstraktının, kitosan filme hidrofobik özellikler verdiği gözlemlenmiştir. Önceki çalışmalarda tarçın yağı, üzüm çekirdeği yağı ve zeytinyağı eklenen kitosan filmlerin suyla temas açıları sırasıyla $37.3\text{--}70.3^{\circ}$, $46\text{--}56^{\circ}$ ve $60\text{--}65^{\circ}$ olarak kaydedilmiştir (Ojagh vd., 2010; Moradi vd., 2012; Pereda vd., 2012). Bu çalışmalarla karşılaştırıldığında, kitosan-mantar ekstrakt filmin daha hidrofobik bir karaktere sahip olduğu görülmüştür.

4.8 Optik Geçirgenlik

Filmlerin ışık geçirgenliği Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Işık geçirgenliğinin, mantar ekstraktı eklenmesiyle büyük ölçüde değiştiği gözlemlendi. 400-700 nm dalga boylarında tarandığında, kitosan-kontrol filminin ışık geçirgenliğinin, kitosan-mantar ekstraktı filme göre çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda, biberiye esansiyel yağı, guar sakızı maddeleri gibi çeşitli maddelerin eklenmesi geçirgenliği arttırırken, polivinil alkol ve balık jelatini eklenmesi geçirgenliği azalttığı rapor edilmiştir (Rao vd., 2010; Abdollahi vd., 2012; Kanatt vd., 2012; Hosseini vd., 2013). Elde edilen sonuçlara göre, filmlerin geçirgenlik yüzdeleri kitosan-kontrol filmi için% 73-88, kitosan-mantar özütlemesi filmi için% 17-53 olarak belirlenmiştir.

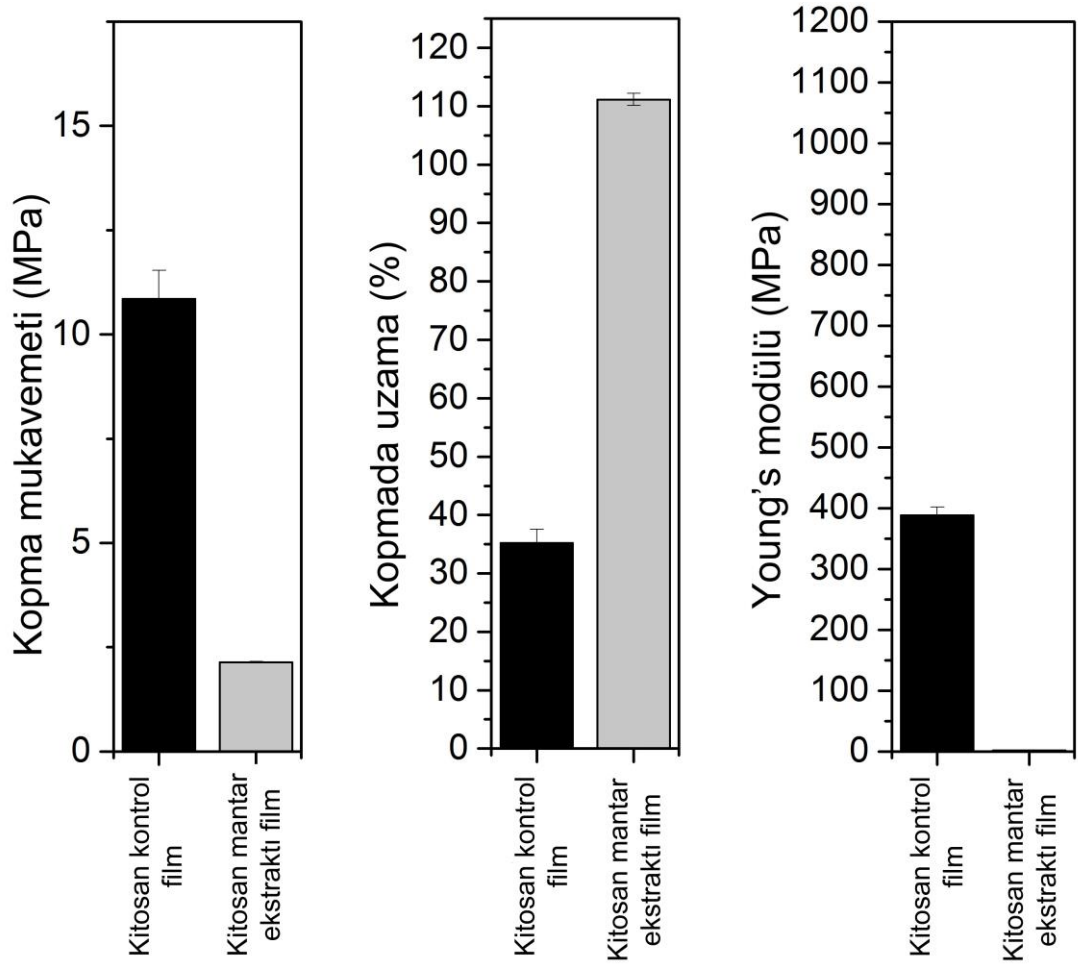


Şekil 4.7. a kitosan-kontrol film ve b kitosan-fumantar ekstrakte filmin optik geçirgenliği.

4.9 Mekanik Özellikler

Filmlerin Young's modülü, kopma ve gerilme mukavemeti sonuçları Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Kitosan-kontrol filminin Young's modülü (388.48 ± 13.54 MPa) ve gerilme mukavemeti (10.85 ± 0.69 MPa) değerleri kitosan-mantar ekstraktı filminden anlamlı derecede daha yüksek olmasına rağmen (sırasıyla 2.13 ± 0.17 MPa, $2.14 \pm$

0.02 MPa), kitosan-mantar ekstraktı filmin kopma değeriindeki uzama ($111.15 \pm 1.03\%$) kitosan kontrol filminden ($35.25 \pm 2.28\%$) çok daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla, kitosan filmin uzamasının ve elastikiyetinin mantar ekstraktı ilavesiyle arttığı söylenebilir. Film elastikiyetve uzama özelliklerindeki artış, bu filmin gelecekte gıda paketlenme ve yara bandı yapımında kullanılabileceğini göstermektedir (Caner vd., 2004; Jayakumar vd., 2009). Kitosanın polimerik zinciri ile mantar ekstraktın molekülleri arasındaki etkileşime bağlı olarak gerilme mukavemeti azalmıştır ve buna paralel olarak da Young's modülü azalmıştır.



Şekil 4.8. Kitosan-kontrol film ve kitosan-mantar ekstrakt filmin mekanik özellikleri (kopma mukavemeti, kopmada-uzama ve Young's modülü).

4.10 Suda Çözünürlük

Yapılan suda çözünürlük deneyinde, kitosan kontrol filmin, 48 saat 25 ° C sudaki inkübasyonu sonunda tamamen çözüldüğü belirlenmiştir. Kitosan kontrol filmin hidrofilik özellikte olduğu belirlenmiştir. Ancak, kitosan kontrol filmine mantar ekstraktın eklenmesinin ardından, suda çözünürlüğünün azaldığı belirlenmiştir. Kitosan-mantar ekstrakt filmin ağırlık kaybı % 34.69 olarak bulunmuştur. Kitosan film matrisi, polifenolik bileşikler ve β-glukan arasındaki güçlü moleküller arası etkileşimler, kitosan-mantar ekstrakt filmin sudaki çözünürlüğünün azalmasına neden olmuştur. Mantar ekstraktında suda çözünen bileşiklerin varlığına rağmen, kitosan filmine katılması, genel olarak suda çözünürlüğü azaltmıştır. Mantar ekstraktı ve kitosanın NH₂ gruplarının etkileştiğini ve suyun NH₂ gruplarına ulaşamadığını öngörülmüştür. Bu, ekstraktta bulunan p-kumarik asitin -COOH grubu ve kitosanın NH₂ grupları arasındaki etkileşime dayandırılabilir. Önceki bir çalışmada, kitosan filminin suya olan ilgisinin, tarçın yağı ilavesiyle azaldığı kaydedilmiştir (Ojagh vd., 2010).

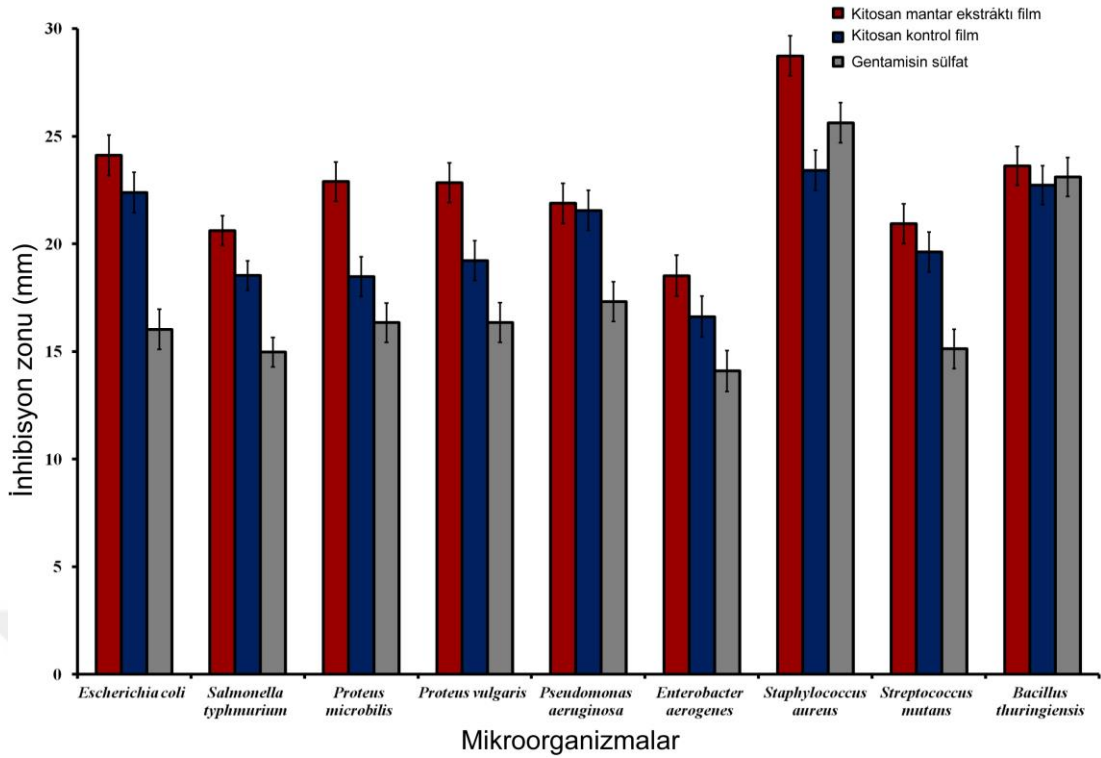
4.11 Antioksidan Aktivite

Filmlerin radikal süpürücü aktivitesi, DPPH analizi kullanılarak analiz edilmiştir. Kitosan kontrol film için antioksidan aktivite % 37.62 ± 3.58 olarak belirlenmiştir. Kitosan-mantar ekstrakt filmin antioksidan aktivitesi % 84.40 ± 0.31 olarak kaydedilmiştir. DPPH analiz çalışmalarının sonuçları, kitosan-kontrol filmin antioksidan aktivitesinin, mantar ekstraktı eklenmesiyle önemli ölçüde arttığını göstermiştir (p < 0.05). Önceki bir çalışmada, β-glukanın yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Thondre vd., 2011). Ayrıca ekstraktın antioksidan aktivitesinin yüksek olmasının nedeni *T. terreum*'un polifenolik bileşiklerine atfedilebileceği belirtilmiştir (FU vd., 2002; Sadi vd., 2016). Bu çalışmada, HPLC analizi, mantar ekstraktında p-kumarik asit bulunduğunu göstermiştir (Torres y Torres ve Rosazza, 2001). Kitosan-mantar ekstrakt filminin antioksidan aktivitesindeki artışın temel nedeni, mantar ekstraktta bulunan β-glukan ve polifenolik bileşiklere dayandırılabilir. Mantar ekstraktının antioksidatif film üretimi için katkı maddesi olarak iyi bir alternatif olabileceği belirlenmiştir.

4.12 Kitosan-mantar Ekstraktı Filmin Biyo-deneyleri

4.12.1 Antimikrobiyal Aktivite

T. terreum'dan elde edilen β -glukan içeriği yüksek ekstraktın, kitosan-kontrol filmin ve kitosan-mantar ekstraktı filmin antimikrobiyal aktivitesi, test mikroorganizmaları kullanılarak araştırılmıştır. Filmlerin antimikrobiyal aktiviteleri için ortalama inhibisyon değerleri, Şekil 4.9'da sunulmuştur. Sonuçlara bakıldığında, kitosan-mantar ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin kitosan-kontrol filminden önemli ölçüde daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Kitosan-mantar ekstraktı filminin, test edilen mikroorganizmalara karşı, 18.52 ± 0.81 mm (*E. aerogenes*) ve $28.75-0.92$ mm (*S. aureus*) inhibisyon zonu çapıyla yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Kitosan-mantar ekstrakt filminin zon değerleri, kitosan kontrol filminin inhibisyon çapı değerlerinden yaklaşık% 22.0-1.2 kadar artmıştır. Tüm testlerde, kontrol (sadece çözücü) inhibisyon bölgesi göstermemiştir. Ayrıca, kitosan-mantar ekstraktı film, test edilen mikroorganizmalara karşı ticari gentamisin'den biraz daha yüksek inhibisyon değerleri (14.09 - 0.37 - 26.63 - 0.89 mm arasında) göstermiştir. Bizim çalışmamızda sentezlenmiş olan kitosan-mantar ekstraktı filmin, toksik olmayan özelliği, sağlam ve biyolojik olarak parçalanabilir yapısı sayesinde gıdaların korunması ve çevre sorunları ile ilgili aktif gıda ambalajı olabilecek potansiyelde bir materyal olduğu öngörülmüştür.

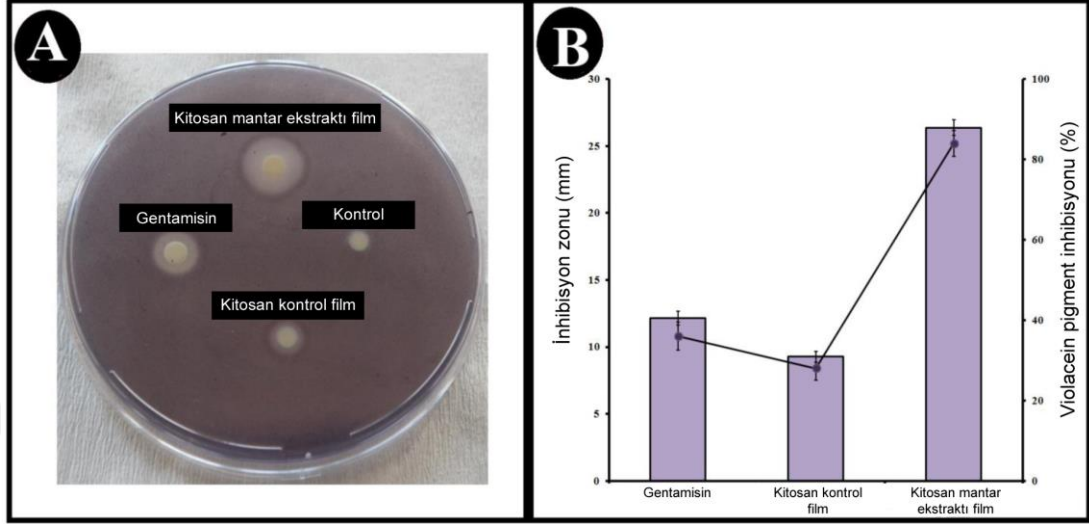


Şekil 4.9. Kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstraktı filmlerin disk difüzyon testinin inhibisyon bölgeleri (mm).

4.12.2 Anti-quorum Algılama Aktivitesi

Anti-QS aktivitesi, kitosan-kontrol film ve kitosan-mantar ekstraktı film için *C. violaceum* CV026'ya karşı değerlendirilmiştir. Her iki test edilmiş kitosan filmde, mor pigmentasyon kaybıyla değerlendirilen kayda değer anti-QS aktivitesi değerleri sergilemiştir. Kitosan-kontrol film ve kitosan-fungal ekstrakt film, 26.38 ± 1.12 ve 9.06 ± 0.72 mm arasında değişen bölgelerdeki violacein üretiminin inhibisyonunu sergilemiştir (Şekil 4.10.a.). İnhibisyon zonu yarıçapında, kitosan-mantar ekstrakt film, boş kitosan kontrol filminden daha yüksek pigment klirensi sergilemiştir ayrıca pigment inhibisyonu antibiyotik gentamisinden daha yüksek aktivite (12.14 ± 0.84 mm) sergilemiştir. Violaceinin kantitatif inhibisyon değeri, kitosan-mantar ekstraktı filmi için $84,12 \pm 3,2$ aralığında violacein üretimini azaltma kabiliyetine sahip olduğunu göstermiştir (Şekil 4.10.b.). Kitosan-fungal özüt filmin QS inhibisyon zonu, kitosan-kontrol film ile karşılaştırıldığında aynı sonuçları sergilediği belirlenmiştir (28.26 ± 1.1), violacein üretimi önemli bir inhibisyonu sergilemiştir. Bu çalışmada, ilk kez, kitosan-mantar ekstrakt filminin anti-QS ajan olarak potansiyel kullanımını bakteri büyümesi ile violacein inhibisyonu ile değerlendirmiştir. Çalışmamızdaki kitosan

kontrol filmin, antibiyotikler, virülans ve sinyallemeye moleküllerinin üretimi gibi biyolojik fonksiyonları düzenlemek için kullanılabileceği öngörülmüştür (Gibot, 2004; Boyen vd., 2009).



Şekil 4.10. a. Anti-quorum algılama inhibisyonu için plaka difüzyon analizi **b.** Disk difüzyon testinin inhibisyon bölgesi (mm) (mor-gri çubuklar) ve kitosan-kontrol ve kitosan-mantar ekstraktı filmin violacein inhibisyonunun (%) (mor daireler) kantitatif tayini.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada yenilebilir mantar *T. terreum* kullanılarak kitosan-mantar ekstraktı kompozit film üretilmiştir. FTIR spektrum analizi, mantar ekstraktının, kitosan filme başarıyla dahil edildiğini göstermiştir. Kompozit filmin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri, ekstraktta bulunan yüksek fenolik bileşikler sayesinde artmıştır. Kitosan-mantar ekstraktı filmin, bakterisitlere karşı evrensel bir antibiyotik olan gentamisinden iki kat daha fazla anti-QS aktivitesi sergilediği saptanmıştır. Ek olarak, kitosan filmin elastikiyetinin ve hidrofobikliğinin, mantar ekstraktının dahil edilmesiyle geliştiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, kitosan filmin suda çözünürlüğü mantar ekstraktı ile azaltılmıştır. Fizikokimyasal özellikleri, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri göz önüne alındığında, kitosan-mantar ekstraktı kompozit filmler, mikrobiyal ataklara karşı güçlü bir bariyer olarak hareket edebilen alternatif bir ambalaj malzemesi olarak önerilebilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Rezaei, M. ve Farzi, G., 2012. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging, *International journal of food science & technology*, 47, 4, 847-853.
- Ahn, J.-S., Choi, H.-K. ve Cho, C.-S., 2001. A novel mucoadhesive polymer prepared by template polymerization of acrylic acid in the presence of chitosan, *Biomaterials*, 22, 9, 923-928.
- Akramiene, D., Kondrotas, A., Didziapetriene, J. ve Kevelaitis, E., 2007. Glucana. Efeito no sistema imune, *Medicina (Kaunas)*, 43, 8, 597-606.
- Alves, M.J., Ferreira, I.C., Dias, J., Teixeira, V., Martins, A. ve Pintado, M., 2012. A review on antimicrobial activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds, *Planta medica*, 78, 1707-1718.
- Alves, M.J., Ferreira, I.C., Dias, J.F., Teixeira, V., Martins, A. ve Pintado, M., 2012. A review on antimicrobial activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds, *Planta medica*, 78, 1707-1718.
- Avena-Bustillos, R. ve Krochta, J., 1993. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslinking and lipid content, *Journal of food science*, 58, 4, 904-907.
- Boyen, F., Eeckhaut, V., Van Immerseel, F., Pasmans, F., Ducatelle, R. ve Haesebrouck, F., 2009. Quorum sensing in veterinary pathogens: mechanisms, clinical importance and future perspectives, *Veterinary microbiology*, 135, 3-4, 187-195.
- Bozok, F., Dogan, H.H., Taskin, H., Kafkas, E. ve Büyükalaca, S., 2017. Volatile constituents of the edible *Tricholoma terreum* in Marmara region of Turkey, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20, 1, 253-258.
- Caner, C., Hernandez, R.J. ve Harte, B.R., 2004. High-pressure processing effects on the mechanical, barrier and mass transfer properties of food packaging flexible structures: a critical review, *Packaging Technology and Science: An International Journal*, 17, 1, 23-29.
- Chang, S. ve Buswell, J., 1996. Mushroom nutraceuticals, *World Journal of Microbiology and biotechnology*, 12, 5, 473-476.
- Cheung, L., Cheung, P.C. ve Ooi, V.E., 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts, *Food chemistry*, 81, 2, 249-255.
- Chien, R.-C., Yen, M.-T. ve Mau, J.-L., 2016. Antimicrobial and antitumor activities of chitosan from shiitake stipes, compared to commercial chitosan from crab shells, *Carbohydrate polymers*, 138, 259-264.

- Deasy, P.B., 1984. Microencapsulation and related drug processes. Drugs and Pharmaceutical sciences, New York: Marcel Dekker, Inc.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.-A. ve Voilley, A., 1998. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review, *Critical Reviews in Food Science*, 38, 4, 299-313.
- Debeaufort, F. ve Voilley, A., 1994. Aroma compound and water vapor permeability of edible films and polymeric packagings, *Journal of agricultural and food chemistry*, 42, 12, 2871-2875.
- Dong, Y., Ruan, Y., Wang, H., Zhao, Y. ve Bi, D., 2004. Studies on glass transition temperature of chitosan with four techniques, *Journal of Applied Polymer Science*, 93, 4, 1553-1558.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R. ve Boulet, M., 1991. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries, *Journal of food science*, 56, 6, 1618-1620.
- FU, H.Y., SHIEH, D.E. ve HO, C.T., 2002. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms, *Journal of food lipids*, 9, 1, 35-43.
- Gibot, S., 2004. Fighting the enemy properly?, *Critical care medicine*, 32, 5, 1223-1224.
- Gonzaga, M.L.C., Menezes, T.M., de Souza, J.R.R., Ricardo, N.M. ve Soares, S.d.A., 2013. Structural characterization of β glucans isolated from *Agaricus blazei* Murill using NMR and FTIR spectroscopy, *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2, 2, 152-156.
- Hajji, S., Chaker, A., Jridi, M., Maalej, H., Jellouli, K., Boufi, S. ve Nasri, M., 2016. Structural analysis, and antioxidant and antibacterial properties of chitosan-poly (vinyl alcohol) biodegradable films, *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 15, 15310-15320.
- Hosseini, M., Razavi, S. ve 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.
- Hosseini, S.F., Rezaei, M., Zandi, M. ve Ghavi, F.F., 2013. Preparation and functional properties of fish gelatin–chitosan blend edible films, *Food chemistry*, 136, 3-4, 1490-1495.
- Jayakumar, R., Egawa, T., Furuike, T., Nair, S. ve Tamura, H., 2009. Synthesis, characterization, and thermal properties of phosphorylated chitin for biomedical applications, *Polymer Engineering & Science*, 49, 5, 844-849.
- Jong, S. ve Birmingham, J., 1992. Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*. In: *Advances in applied microbiology*. Eds: Elsevier, p. 101-134.

- Kanatt, S.R., Rao, M., Chawla, S. ve Sharma, A., 2012. Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts, *Food Hydrocolloids*, 29, 2, 290-297.
- Krochta, J., 1992. Control of mass transfer in food with edible coatings and films, *Advanced in Food Engineering*, 517-538.
- Krochta, J.M., Baldwin, E.A. ve Nisperos-Carriedo, M.O., 1994. Edible coatings and films to improve food quality, Technomic Publ. Co.
- Kumar, M.N.R., 2000. A review of chitin and chitosan applications, *Reactive and functional polymers*, 46, 1, 1-27.
- Mayachiew, P. ve Devahastin, S., 2010. Effects of drying methods and conditions on release characteristics of edible chitosan films enriched with Indian gooseberry extract, *Food Chemistry*, 118, 3, 594-601.
- Mazza, G. ve Qi, H., 1991. Control of after-cooking darkening in potatoes with edible film-forming products and calcium chloride, *Journal of agricultural and food chemistry*, 39, 12, 2163-2166.
- Moradi, M., Tajik, H., Rohani, S.M.R., Oromiehie, A.R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J. ve Hadian, M., 2012. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract, *LWT-Food Science and Technology*, 46, 2, 477-484.
- Ogura, K., Kanamoto, T., Itoh, M., Miyashiro, H. ve Tanaka, K., 1980. Dynamic mechanical behavior of chitin and chitosan, *Polymer bulletin*, 2, 5, 301-304.
- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. ve Hosseini, S.M.H., 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water, *Food Chemistry*, 122, 1, 161-166.
- Pereda, M., Amica, G. ve Marcovich, N.E., 2012. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films, *Carbohydrate polymers*, 87, 2, 1318-1325.
- Pranoto, Y., Rakshit, S. ve Salokhe, V., 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin, *LWT-Food Science and Technology*, 38, 8, 859-865.
- Rao, M., Kanatt, S., Chawla, S. ve Sharma, A., 2010. Chitosan and guar gum composite films: Preparation, physical, mechanical and antimicrobial properties, *Carbohydrate Polymers*, 82, 4, 1243-1247.
- Rico-Pena, D.C. ve Torres, J.A., 1991. Sorbic acid and potassium sorbate permeability of an edible methylcellulose-palmitic acid film: water activity and pH effects, *Journal of food science*, 56, 2, 497-499.
- Rinaudo, M., 2006. Chitin and chitosan: properties and applications, *Progress in polymer science*, 31, 7, 603-632.

- Rop, O., Mlcek, J. ve Jurikova, T., 2009. Beta-glucans in higher fungi and their health effects, *Nutrition reviews*, 67, 11, 624-631.
- Sadi, G., Kaya, A., Yalcin, H.A., Emsen, B., Kocabas, A., Kartal, D.I. ve Altay, A., 2016. Wild edible mushrooms from Turkey as possible anticancer agents on HepG2 cells together with their antioxidant and antimicrobial properties, *International journal of medicinal mushrooms*, 18, 1.
- Sánchez-González, L., Cháfer, M., González-Martínez, C., Chiralt, A. ve Desobry, S., 2011. Study of the release of limonene present in chitosan films enriched with bergamot oil in food simulants, *Journal of Food Engineering*, 105, 1, 138-143.
- Smiderle, F.R., Ruthes, A.C., van Arkel, J., Chanput, W., Iacomini, M., Wichers, H.J. ve Van Griensven, L.J., 2011. Polysaccharides from *Agaricus bisporus* and *Agaricus brasiliensis* show similarities in their structures and their immunomodulatory effects on human monocytic THP-1 cells, *BMC complementary and alternative medicine*, 11, 1, 58.
- Tamer, T.M., Valachová, K., Mohyeldin, M.S. ve Soltes, L., 2016. Free radical scavenger activity of chitosan and its aminated derivative, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6, 4, 195-201.
- Tel, G., Apaydın, M., Duru, M.E. ve Öztürk, M., 2012. Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three *Tricholoma* species with total phenolic and flavonoid contents: the edible mushrooms from Anatolia, *Food Analytical Methods*, 5, 3, 495-504.
- Thondre, P., Ryan, L. ve Henry, C., 2011. Influence of polyphenols on in vitro starch digestibility of oat porridges, *Proceedings of the Nutrition Society*, 70, OCE4.
- Torres y Torres, J.L. ve Rosazza, J.P., 2001. Microbial Transformations of p-Coumaric Acid by *Bacillus megaterium* and *Curvularia lunata*, *Journal of Natural Products*, 64, 11, 1408-1414.
- Tripathi, S., Mehrotra, G. ve Dutta, P., 2009. Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan–PVA film for food packaging applications, *International journal of biological macromolecules*, 45, 4, 372-376.
- van Der Sman, R., 2013. Predictions of glass transition temperature for hydrogen bonding biomaterials, *The Journal of Physical Chemistry B*, 117, 50, 16303-16313.
- Wayne, P., 2002. National committee for clinical laboratory standards, Performance standards for antimicrobial disc susceptibility testing, 12, 01-53.
- Zivanovic, S., Chi, S. ve Draughon, A.F., 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils, *Journal of food science*, 70, 1, M45-M51.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Behlül KOÇ
Doğum Tarihi ve Yeri : 22.04.1992 Aksaray/ TÜRKİYE
E-posta adresi : behlulkoc.bk@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lisans : Cumhuriyet Üniversitesi, 2011-2015
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Sivas / Türkiye

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, 2016 – 2019
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü
Aksaray/ TÜRKİYE

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Erasmus Staj Programı (02.01.2018-03.03.2018), Vytautas Magnus Üniversitesi, Kaunas /LİTVANYA

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Muhtaba, Muhammad, et al. "Production of novel chia-mucilage nanocomposite films with starch nanocrystals; An inclusive biological and physicochemical perspective." International journal of biological macromolecules 133 (2019): 663-673.
2. Muhtaba, Muhammad, et al. "Novel, multifunctional mucilage composite films incorporated with cellulose nanofibers." Food Hydrocolloids 89 (2019): 20-28.

3. Akyuz, Lalehan, et al. "Diatomite as a novel composite ingredient for chitosan film with enhanced physicochemical properties." *International journal of biological macromolecules* 105 (2017): 1401-1411.
4. Kaya, Murat, et al. "Incorporation of sporopollenin enhances acid–base durability, hydrophobicity, and mechanical, antifungal and antioxidant properties of chitosan films." *Journal of industrial and engineering chemistry* 47 (2017): 236-245.

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. **Behlül Koc**, Murat Kaya, “An Ecofriendly Chitosan Film Production Incorporated with Diatoms”, Ecology 2017 International Conference, MAY 2017-KAYSERİ.
2. Bahar AKYÜZ YILMAZ*, Murat KAYA, Lalehan AKYÜZ, Yavuz Selim ÇAKMAK, Seher KARAMAN ERKUL, İdris SARGIN, **Behlül KOÇ**, “Farklı Oranlarda Anason Tohumu Yağı Katkılı Kitosan Temelli Filmlerin Özelliklerinin Belirlenmesi”, EsAn 2018nUluslararası Eser Analiz Kongresi” 20-23 Haziran 2018 Sivas/TÜRKİYE
3. **Behlül KOÇ** “Ulva lactuca ve Cladhophora sp. Makroalglerinin protein, fenolik bileşik, flavanoid içeriğinin ve antioksidan aktivitelerinin karşılaştırılması”, EsAn 2018nUluslararası Eser Analiz Kongresi” 20-23 Haziran 2018 Sivas/TÜRKİYE