



T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KEKİK VE DEFNE UÇUCU YAĞLARINI İÇEREN YENİLEBİLİR
KİTOSAN VE KARBOKSİMETİL SELÜLOZ FİLMERİN,
ANTİBAKTERİYAL VE BAZI KARAKTERİSTİK ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

RIZA SEVER

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
EYLÜL-2019



T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KEKİK VE DEFNE UÇUCU YAĞLARINI İÇEREN YENİLEBİLİR
KİTOSAN VE KARBOKSİMETİL SELÜLOZ FİMLERİN,
ANTİBAKTERİYAL VE BAZI KARAKTERİSTİK ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ

RIZA SEVER

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
EYLÜL-2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KEKİK VE DEFNE UÇUCU YAĞLARINI İÇEREN YENİLEBİLİR KİTOSAN
VE KARBOKSİMETİL SELÜLOZ FİMLERİN, ANTİBAKTERİYAL VE
BAZI KARAKTERİSTİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Rıza SEVER
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Emine AKSAN danışmanlığında hazırlanan bu tez 14/09/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Emine AKSAN ALDANMAZ
Başkan

Unvanı Adı SOYADI
Üye

Unvanı Adı SOYADI
Üye

Kod No:

Prof. Dr. Erdal SERTKAYA
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, Çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

13.09.2019

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Rıza SEVER

ÖZET

KEKİK VE DEFNE UÇUCU YAĞLARINI İÇEREN YENİLEBİLİR KİTOSAN VE KARBOKSİMETİL SELÜLOZ FİMLERİN, ANTİBAKTERİYAL VE BAZI KARAKTERİSTİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Bu çalışmada, yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filimler üretilmiş ve bu filmlere farklı konsantrasyonlarda (%0.012, %0.025 ve %0.037 ml) kekik, defne ve kekik+defne uçucu yağı ilavesi yapılarak karakteristik (kalınlık, renk, mikro yapı, tekstür) ve antibakteriyal özellikleri incelenerek karşılaştırma yapılmıştır.

Araştırmada, film kalınlığı ölçüm sonucunda yenilebilir karboksimetil selüloz filmleri (kontrol 0.133 ± 0.017 mm), yenilebilir kitosan filmlere (kontrol 0.10 ± 0.018 mm) göre daha kalın film kalınlığı saptanmıştır. Her iki örnekte de ilave edilen uçucu yağlar film kalınlığını azalttığı tespit edilmiştir.

Yenilebilir kitosan filmlerin kontrol gruplarının L^* (parlaklık) değerleri Colorimeter:Daylight analiz parametreleri için sırasıyla; 21.52 ± 0.64 : 21.41 ± 1 , 22.03 ± 2.27 : 22.01 ± 2.54 a^* (kırmızılık) değerleri sırasıyla -2.62 ± 0.29 : -1.88 ± 0.19 , 1.7 ± 0.93 : -0.9 ± 0.19 b^* (sarılık) değerleri sırasıyla -0.54 ± 1.05 : -0.4 ± 0.19 , 2.1 ± 0.041 , 2.12 ± 0.048 olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağ ilavesi kitosan ve karboksimetil selüloz filmleri parlaklığını artırmış, ancak sarılık ve kırmızılığı etkilememiştir.

Filmler mikroyapı açısından değerlendirildiğinde, karboksimetil selüloz filmler daha düzenli ve heterojen şekilde kırılmış bir yüzey, kitosan filmler ise daha yumuşak bir görünüm sunmuştur. Uçucu yağ ilavesi film yapısını daha homojen ve pürüzsüz olmasını sağladığı ve kekik yağı damlacıklarının defne yağına göre daha düzenli bir dağılım gösterdiği saptanmıştır.

Tekstür ölçüm değerlerine göre, yenilebilir karboksimetil selüloz filmlerinin (kontrol 26.83 ± 0.8 g), yenilebilir kitosan filmlere (kontrol 16.83 ± 1.02 g) göre daha sağlam yapı oluşturmuş ve uçucu yağ ilavesi filmlerin tekstür özelliklerini iyileştirmiştir. Her iki filmde de uçucu yağ ilavesinin filmlerin kırılma özelliklerini iyileştirmediği saptanmıştır.

Antimikrobiyal aktivitede, uçucu yağ içeren ve kontrol yenilebilir kitosan filmlerin düşük düzeyde antimikrobiyal etki saptanmış, ancak karboksimetil selüloz filmlerin tüm bakteriler üzerinde inhibe edici özelliğinin olduğu belirlenmiştir. En yüksek zon çapı 2.36 cm ile *Staphylococcus aureus* (%0.037 kekik+defne yağı)'da, en düşük zon çapı ise 1.33 cm ile *Pseudomonas aeruginosa* (%0.025 kekik+defne yağı)'da belirlenmiştir.

2019, 64 sayfa

Anahtar Kelimeler: Yenilebilir Kitosan v Karboksimetil selüloz Film, Uçucu Yağ, Antimikrobiyal

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL, PHYSICAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF EDIBLE CHITOSAN AND CARBOXYMETHYL CELLULOSE FILMS CONTAINING THYME AND DEFNE ESSENTIAL OILS

In this study, edible chitosan and carboxymethyl cellulose films were produced and thyme, laurel and thyme + laurel (%0.012, %0.025 ve %0.037) essential oil were added to these films and their characteristics (thickness, color, microstructure, texture) and antibacterial properties were compared.

In the study, film thickness measurement showed edible carboxymethyl cellulose films (control 0.133 ± 0.017), thicker film thickness than edible chitosan films (control 0.10 ± 0.018 mm). In both examples, it was found that the added essential oils reduced the film thickness.

L * (brightness) values (Calorimeter: Daylight) of the edible chitosan films were respectively 21.52 ± 0.64 : 21.41 ± 1 , 22.03 ± 2.27 : 22.01 ± 2.54 a * (redness), respectively , -2.62 ± 0.29 . : -1.88 ± 0.19 , 1.7 ± 0.93 : -0.9 ± 0.19 b * (jaundice) values were determined as -0.54 ± 1.05 : -0.4 ± 0.19 , 2.1 ± 0.041 , 2.12 ± 0.048 respectively. The addition of essential oil increased brightness in both films, but did not affect jaundice and redness.

In terms of the microstructure of the films, the carboxymethyl cellulose films provided a more uniform and heterogeneously cracked surface, while the chitosan films gave a softer appearance. The addition of essential oil makes the film structure more homogeneous and smooth and thyme oil droplets have a more uniform distribution than laurel oil.

According to the texture measurement values, edible carboxymethyl cellulose films (control 26.83 ± 0.8) were more stable than edible chitosan films (control 16.83 ± 1.02) and the addition of essential oil improved the fixing properties of the films. In both films, the brittleness was similar and the addition of essential oil did not improve the brittleness of the films.

In antimicrobial activity, low levels of antimicrobial effect of essential oil and control edible chitosan films were determined, but carboxymethyl cellulose films were found to have inhibitory properties on all bacteria. *Staphylococcus aureus* (0.037% oregano + laurel oil) with the highest zone diameter of 2.36 cm. The lowest zone diameter was 1.33 cm with *Pseudomonas aeruginosa* (0.025% oregano + bay oil).

2019, 64 pages

Keywords: Edible Chitosan and Carboxymethyl Cellulose Film, Essential oil, Antimicrobial

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen kıymetli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Emine AKSAN ALDANMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, jüri üyeleri Doç.Dr. Ahmet Doğan DUMAN ve Doç.Dr. Salih AKSAY'a teşekkürlerimi sunarım.

Labaratuvar çalışmaları sırasında yardımlarından dolayı Gıda Mühendisliği yüksek lisans öğrencisi Eda ALIŞ'a, Bitki Koruma yüksek lisans öğrencisi Dilan Çen'e minnetlerimi sunarım.

Bu süreçte her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Asiye AKARSU ve Cem Erdinç KALSEN'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca maddi manevi desteğini esirgemeyen annem Meryem SEVER'e, babam Abdullah SEVER'e, kardeşlerim Çınar ve Nesrin SEVER'e teşekkürleri bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	13
3.1. Materyal	13
3.1.1. Araştırmada Kullanılan Cihazlar	13
3.1.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar	14
3.2. Yöntem	14
3.2.1. Yenilebilir Filmlerin Üretimi	15
3.2.1.1. Yenilebilir Kitosan Filmlerin Üretimi	15
3.2.1.2. Yenilebilir Karboksimetil Selüloz Filmlerin Üretimi.....	16
3.2.2. Yenilebilir Filmlerin Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi	17
3.2.2.1. Film Kalınlığı	17
3.2.2.2. Renk Ölçümleri	17
3.2.2. Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü.....	17
3.2.2.4. Mekanik Özellikleri.....	18
3.2.3. Yenilebilir Filmlerde Antimikrobiyal Aktivite.....	19
3.2.3.1. Agar Difüzyon Yöntemi	19
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirmeler	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	20
4.1. Yenilebilir Filmlerin Karakteristik Özellikleri Analiz Sonuçları.....	20
4.1.1. Yenilebilir Filmlerin Kalınlık Ölçüm Sonuçları.....	20
4.1.2. Yenilebilir Filmlerin Renk Ölçüm Sonuçları.....	22
4.1.2.1. L^* (Parlaklık) Değeri Sonuçları.....	22
4.1.2.2. a^* (Kırmızılık) Değeri Sonuçları.....	23
4.1.2.3. b^* (Sarılık) Değeri Sonuçları.....	25
4.2. Yenilebilir Filmlerin Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi Sonuçları.....	26
4.3. Yenilebilir Filmlerin Mekanik Özellikleri Analiz Sonuçları	33
4.4. Yenilebilir Filmlerin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	34
4.4.1. Agar Difüzyon Yöntemi Analiz Sonuçları	34
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	43
6. KAYNAKLAR.....	46

7. ÖZGEÇMİŞ.....	52
8. EKLER	53



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan cihazlar	13
Çizelge 3.2. Kullanılan besi yerleri ve kimyasallar	14
Çizelge 4.1. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin kalınlıkları (milimetre)	21
Çizelge 4.2. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin L* değerleri	23
Çizelge 4.3. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin a* değerleri	24
Çizelge 4.4. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin b* değerleri.....	26
Çizelge 4.5. Yenilebilir filmlerin tekstür özellikleri analiz sonuçları.....	34
Çizelge 4.6. Kitosan Filmlerin Zon Çapı Ölçüm Sonuçları.....	36
Çizelge 4.7. Karboksimetil Selüloz Filmlerin Zon Çapı Ölçüm Sonuçları.....	39



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Yenilebilir kitosan filmi üretimi	15
Şekil 3.2. Yenilebilir karboksimetil selüloz film üretimi.....	16
Şekil 3.3. Taramalı elektron mikroskobu cihazı	18
Şekil 3.4. Tekstür analiz cihazı	18
Şekil 4.1. Kekik uçucu yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri	27
Şekil 4.2. Defne yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri	28
Şekil 4.3. Kekik+defne yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri	29
Şekil 4.4. Kekik yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri	30
Şekil 4.5. Defne yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri	31
Şekil 4.6. Kekik+ Defne yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri	32
Şekil 4.7. Kitosan Film Zon Çapı Grafik	37
Şekil 4.8. Karboksimetil selüloz Film Zon Çapı Grafiği	40
Şekil 4.9. Yenilebilir Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin (kontrol) antimikrobiyal aktivitesi a)kitosan, b)karboksimetil selüloz.....	41
Şekil 4.10. Kekik yağı içeren yenilebilir kitosan ve karboksimetil filmlerde antibakteriyal aktivitesi a)kitosan, b)karboksimetil selüloz	41
Şekil 4.11. Defne yağı içeren yenilebilir kitosan ve karboksimetil filmlerde antibakteriyal aktivitesi a) kitosan, b) karboksimetil selüloz	41
Şekil 4.12. Kekik+Defne yağı içeren yenilebilir kitosan ve karboksimetil filmlerde antibakteriyal aktivite a)kitosan, b)karboksimetil selüloz.....	42

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Santigrat derece
g	: Gram
µm	: Mikrometre
µL	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
m	: Metre
%	: Yüzde
L	: Litre

1. GİRİŞ

Gıda maddeleri, bulunduğu çevreyle temasına bağlı olarak nem, aroma ve renk kayıpları oluşmakta ve ayrıca mikrobiyolojik bulaşı riski ile karşılaşmaktadır. Böylece, gıdanın kalitesi ve raf ömrü azalmaktadır. Ambalajlama, gıdanın taşınmasında ve çevresel etkenlere karşı korunmasında önemli bir işlemdir. Genel olarak gıdaların ambalajlanmasında kalite kayıplarını ve gıda güvenliği risklerini önlemek amaçlanmaktadır (Delikanlı ve Özcan, 2014). Son yıllarda ise tüketicilerin gıda kalitesi ve güvenliği ile ilgili farklı talepleri nedeniyle, aktif ve akıllı ambalaj teknolojileri geliştirilmiştir (Anicuta ve ark., 2015; Realini ve Marcos, 2014).

Aktif ve akıllı ambalaj teknolojileri kullanımı, ambalajlara ışık ve oksijen geçirgenliği özellikleri kazandırılabilen ve ayrıca antimikrobiyel etki sağlayabilmektedir. Bunların yanı sıra, çevrede atık oluşturmeyen malzemeler kullanılabilmektedir (Brody, 2005, Devlieghere ve ark., 2004; Floros ve Özdemir , 2004).

Yenilebilir filmler; aktif ve akıllı gıda ambalajlamada uygulanabilir olması nedeniyle dikkat çekmektedir (Candan ve Bağdatlı, 2018; Erol ve Turhan, 2012; Kılınççeker ve Hepsağ, 2010). Yenilebilir filmler; gıda yüzeyine uygulanan yenilebilir özellikteki malzemelerden elde edilen ince kaplama tabakaları olarak tanımlanır. Bu malzemeler kullanılarak; gıdanın oksijen, nem ve katı bileşen kayıpları kontrol edilebilmektedir. Böylece, gıdanın başlangıç kalitesinde değişime uğramadan muhafaza edilmesi mümkün olmaktadır (Erol ve Turhan, 2012; Krishna ve ark., 2012; Fennema, 1985).

Gıdaların muhafazasında yenilebilir filmlerin kullanımı son yıllarda yaygınlaşmasına rağmen, çok eski yıllardan itibaren gıdaların korunmasında uygulanmıştır. 12.y.y.'da çeşitli meyveler mum ile kaplanarak muhafaza edilmiştir. 15.y.y.'da Asya ülkelerinde soya sütünden elde edilen filmler gıdaları korumak amacıyla kullanılmıştır. Etin yağ ile kaplanarak muhafaza edilmesi çok eski yıllardan itibaren uygulanmaktadır. Bu yüzyıldan itibaren de yenilebilir film uygulamaları yaygınlaşmaya başlamış ve jelatin kaplamalar ve yenilebilir kollojen kılıflar kullanılmıştır. 1930'da meyvelerin yağ ve mum ile kaplanarak muhafazası sağlanmıştır (Ayana ve Turhan, 2009; Debeaufort ve ark., 1998; Kester and Fennema, 1986).

Günümüzde ise son yirmi yıldır gıdaların muhafazasında yenilebilir film

uygulamaları güncellik kazanmıştır. Yenilebilir filmlerin kullanımına karşı olan bu ilginin en temel nedenlerinden biri, biyoçözünür materyallerden elde edilmeleridir. Sentetik ambalaj malzemeleri, çevre kirliliği ve sorunlarının oluşmasında büyük payları bulunmaktadır. Yenilenebilir filmler ise, çevre kirliliği oluşturmaması ve biyolojik olarak parçalanabilme özelliklerine sahip olması, aynı zamanda kolay temin edilebilmesi ve ekonomik olması nedeni ile, sentetik ambalaj malzemelerinin yerini almaktadır (Tang, Kumar, Alavi ve Sandeep, 2012; Lourdin ve ark., 1995)

Yenilebilir filmlerin gıdalarda kullanımında, geleneksel olarak kullanılan ambalaj materyalleri ile benzer faydalar (ürün kayıplarını önlemek, duysal özellikleri iyileştirmek, bozulma reaksiyonlarını önlemek) amaçlanmasının yanısıra farklı avantajları da bulunmaktadır (Krishna ve ark., 2012; Kamper ve Fennema, 1985). Yenilebilir filmler, ambalajlanmış ürün ile birlikte tüketilebilme özelliği bulunmaktadır. Gıda ile birlikte tüketilen yenilebilir filmlerde, biyoçözünür malzemeler olması nedeniyle doğada hızlı şekilde parçalanmakta ve böylece çevre için ideal bir ürün sunulmaktadır. Özellikle bileşiminde protein bulunan filmler, gıdanın beslenme değerini artırabilmekte ve ayrıca farklı bileşenlerin kullanımı ile gıdaların organoleptik özelliklerini artırılabilir. Gıdanın küçük porsiyon halinde ambalajlanmasında ve farklı gıda tabakaları arasına uygulanmaktadır. Ayrıca, sentetik ambalaj materyalleri ile birlikte kullanılarak gıda ile direkt temas eden iç tabakada kullanılmaktadır. Ayrıca farklı yapısal özellikler kazandırılarak gıdaların yapı bütünlüğü korunabilmektedir (Gennadios ve Weller, 1990).

Yenilebilir filmlerin üretiminde; polisakkaritler, lipitler ve proteinler kullanılmaktadır (Robertson, 2013). Genel olarak; lipitler gıdalardan nem kayıplarını azaltmakta, polisakkaritler oksijen geçirgenliğini önlemede kullanılmakta ve proteinler ise üründe mukavemet sağlamaktadır (Pavlat ve Orts, 2009). Yenilebilir film ve kaplamada bunların dışında çözücü, plastikleştirici, emülsifiye edici ve antioksidan maddelerden yararlanılmaktadır (Üstünol, 2009).

Polisakkaritler çeşitli bitkisel ve hayvansal kaynaklardan elde edilebilmektedir. Polisakkarit olarak, nişasta, selüloz, kitin, kitosan gibi çeşitli polisakkaritler kullanılmaktadır. Polisakkaritler yenilebilir filmlerin dayanıklılığını artırmakta, oksijen geçirgenliğini önlemekte ve nem geçirgenliğini kontrol etmektedir (Pavlat ve Orts, 2009). Bitkisel protein olarak; mısır zeini, buğday gluteni, soya, bezelye, ayçiçeği, yer fıstığı çığit proteinleri, hayvansal protein olarak; keratin, kollajen, jelatin, balık

miyofibriller, yumurta akı, kazein ve peyniraltı suyu proteinleri kullanılabilir (Robertson, 2013). Protein kullanılan filmler hem gıdanın dayanımı artırılmakta hem de besin değeri iyileştirilmektedir (Dursun ve Erkan, 2009). Lipitler ise genel olarak kaplama materyali olarak yararlanılması ile birlikte, yenilebilir film bileşimlerinde (balmumu, yağ asitleri, gliseroller) yer almaktadır. Gıdalarda nem kayıplarını önlemektedir. Özellikle et ürünlerinde, meyve ve sebzelerde kullanılması yaygındır (Robertson, 2013; Akbaba, 2006). Yenilebilir filmlerde ayrıca, yapıyı oluşturmak amacıyla çeşitli çözücüler, plastikleştiriciler, katkıları da kullanılmaktadır (Üstünol, 2009). Plastikleştiriciler, yenilebilir filmlerde dayanımı artırmakta ve polisakkarit filmlerin daha parlak olmasını sağlamaktadır (Dursun ve Erkan, 2009). Plastikleştirici olarak çeşitli şeker şurupları, oligosakkaritler, fosfolipitler ve yağ asitleri kullanılmaktadır (Üstünol, 2009). Bunların dışında selüloz eterleri de yenilebilir filmlerde kullanılmaktadır. Ayrıca, aljinat, kitosan, nişasta, pektin ve karagenan gibi hidrokolloitler de kullanılmaktadır (Gennadios ve ark., 1997).

Birçok polimer ve biyoaktif malzemelerden yenilebilir filmler üretilebilmektedir. Yenilebilir filmler, uygun bir yüzey üzerine dökülerek yayılması ve ardından kurutulmasıyla elde edilmektedir (Dursun ve Oğur, 2012; Polat, 2007). Yenilebilir filmin yapısı; çözelti bileşimi, film döküm kalınlığı ve kurutma koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Dhanapal ve ark., 2012). Kitosan ve selüloz yenilebilir film üretiminde yaygın olarak kullanılan bileşenlerdir. Kitosan ve selüloz doğada yaygın olarak bulunan polimerlerdir. Kitosanın, toksik olmaması, biyouyumluluk, biyobozunurluk ve film oluşturma kabiliyeti nedeniyle yenilebilir filmlerin üretiminde kullanılmaktadır (Dutta ve ark., 2009).

Kitosan, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından güvenli katkı maddesi olarak kabul edilmiştir. Kitosan, β -(1,4)-glikozidik bağlarıyla bağlı, D-glukozamin ve N-asetil D-glukozamin kopolimerinden oluşan katyonik bir doğal polisakkarittir ve kitinin kısmi deasetilasyonu sonucu elde edilmektedir (Feyzioğlu, 2016 ; USFDA. 2013; Shahidi ve ark. 1999). Bu çok yönlü polimer, pozitif yükünden dolayı biyolojik yüzeylere karşı özel bir yapışkanlığa sahiptir ve bu nedenle de kararlı filmler oluşturabilmektedir. Böylece, sert, kararlı, esnek ve parçalanmayan yenilebilir filmler üretilebilmektedir (Moradi ve ark., 2010; Dutta ve ark., 2009).

Kitosan, doğal kökenli potansiyel bir gıda koruyucusudur (Sagoo ve ark., 2002). Çeşitli gıda maddelerinde kitosan yenilebilir filmleri kullanılarak, tekstür, renk, aroma özellikleri korunabilmektedir. Kitosan yenilebilir filmlerin kullanımında gıdanın ambalaj içerisindeki kısmi oksijen basıncı azalmakta ve gıda ile ortam arasındaki nem alışverişi kontrol edilerek daha uzun süre raf ömrü sağlanabilmektedir (Feyzioğlu, 2016). Kitosanın, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri bulunmaktadır. Kitosanın antimikrobiyal etki mekanizması tam olarak açıklanamamaktadır. Genel olarak kitosanın, hücre membranı arasındaki etkileşimlere bağlı olarak hücre geçirgenliğindeki değişime neden olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca, kitosan antimikrobiyal etkisinin oluşmasında, ortamın pH değeri kendi pH değerinden yüksek olduğu durumda, seçici olarak iz elementler ile şelat oluşturarak toksin oluşumuna ve gelişmeye engel olarak, konak dokulardaki bazı savunma mekanizmalarını aktive ederek, hücre içine girerek DNA'ya tutunma ve mRNA ve protein sentezine engel olarak oluşturmaktadır (Shahidi ve ark. 1999; Papineau ve ark. 1991).

Dayanıklı ve esnek özelliklerde yenilebilir film üretiminde kullanılan diğer bir biyopolimer selülozdur. Metilselüloz en ekonomik selüloz türevidir (Ayana,2007). Karboksimetil selüloz, suda çözünür bir anyonik lineer polisakkarit ve selülozun 2, 3 ve 6 hidroksil gruplarının karboksimetil grupları ile kısmen ikame edilmesiyle üretilen yarı sentetik selüloz türevidir (Chakraborty ve ark. 2006; Tong ve ark. 2008; Yadav ve ark., 2013). USFDA (Gıda ve İlaç İdaresi) tarafından onaylanmakta ve GRAS (Tüketimi Sakıncalı Olmayan Maddeler) listesinde yer almaktadır. İyi film oluşturma özelliğine sahiptir (Oun ve Rhim, 2015). Hidrofilik özellikleri nedeni ile düşük su buharı geçirgenliği ve zayıf mekanik özellik göstermektedir. Metilselüloz yenilebilir filmler, gıdada oksijen, karbondioksit ve lipid koruyucu etkiler oluşturmaktadır (Li ve ark. 2008).

Kitosan ve metilselüloz yenilebilir filmler, gıda yüzeyine ya da farklı gıda katmanları arasına uygulanmaktadır. Genel olarak, gıda ve çevre arasındaki oksijen, nem, gaz ve uçucu bileşen değişimini azaltarak gıda stabilitesinin korunması amaçlanmaktadır. Taze veya işlem görmüş meyve ve sebzelerde yenilebilir film kullanılarak, depolama süresi boyunca meydana gelebilecek kalite kayıplarını (su kaybını, solunum hızı, oksidasyon oluşumunu) kontrol altında tutulması sağlanmaktadır (Işık ve ark. 2013; Kerch, 2015). Beyaz ve kırmızı et ve ürünlerinde, ayrıca deniz ürünlerinde yapılan uygulamalarda ise, yenilebilir filmlerin antioksidan özelliklerinden yararlanılmaktadır

(Can ve Patır, 2012; Tural, 2017). Yenilebilir filmlerin peynirlerde uygulaması ile, oksijen, karbondioksit ve su buharı geçirgenliğini kontrolü sağlanarak, istenmeyen koku, lezzet ve tekstürel bozulmalar önlenebilmektedir (Artiga ark., 2017; Costa ve ark., 2018). Çikolatalı ürünler de yenilebilir film uygulamaları ile, yağ tanelerinin açığa çıkması, kahverengileşme reaksiyonları ve nem/yağ göçü gibi renk değişikliklerine engellenmesi gibi bozulmaları engellenebilmektedir (McHung ve ark., 2012; Dias ve ark., 2018). Fırıncılık ürünlerinde de raf ömrünün uzatılması için yenilebilir film uygulanmaktadır (Quezada-Gallo, 2009).

Gıdaların ambalajlanmasında yeni bir yaklaşım olarak antimikrobiyal özellik kazandırılmaktadır. Günümüzde aktif ve akıllı ambalaj teknolojileri arasında kullanılan yenilebilir filmlerde de antimikrobiyal özelliklerin geliştirilmesi üzerinde durulmaktadır. Kitosan ve metilselülozun antimikrobiyal özellikleri birçok çalışmada belirtilmiş ve yenilebilir film olarak kullanımlarında arzu edilmeyen mikroorganizmaların gelişimini önledikleri belirtilmiştir (Pranoto ve ark. 2005; Zivanovic ve ark. 2005; Vartiainen ve ark. 2005; Beverly ve ark. 2008; Hosseini ve ark. 2009; Mehdi Abdollahi ve ark. 2012; Şahin, 2013; Muppalla ve ark. 2014; Salmieri ve ark. 2014; Qiumin Ma ve ark. 2016; Noshirvani ve ark., 2017; Han ve ark. 2018; Lee ve ark. 2019; Samsi ve ark. 2019). Ayrıca, çeşitli katkı maddeleri yenilebilir filmlerin bileşimlerinde kullanılarak antimikrobiyal özelliklerinin geliştirilmesi sağlanmaktadır (Erol ve Turhan, 2012).

Uçucu yağlar, yenilebilir filmlerin antimikrobiyal özelliklerinin geliştirilmesinde yaygın olarak araştırılan katkılardır. Böylece uçucu yağları içeren yenilebilir filmler, gıdaların mikrobiyal güvenliğini sağlamak ve ayrıca raf ömrünü artırılabilir (Raybaudi-Massilia ve ark., 2008; Santiago-Silva ve ark., 2009).

Uçucu yağlar, bileşimlerindeki terpenoidler, terpenler ve fenolik bileşikler nedeni ile birçok mikroorganizmanın hücre duvarının bozulmasını sağlayarak gelişimlerini engellemektedir (Ahmad ve ark., 2012). Kekik ve defne ülkemizde yaygın kullanılan baharatlardır ve uçucu yağlarının antimikrobiyal etkisi birçok çalışmada belirtilmiştir (Akgül, 1993; Çon ve ark. 1998; Yalçın, 2000; Ilcim ve ark., 2001; Sağdıç ve ark., 2002 Baydar ve ark., 2004; Körüklüoğlu ve ark. 2009; Cerit, 2008). Ancak, uçucu yağların, aromalarının yoğun olması ve maliyetlerinin yüksek olması nedeni ile gıda muhafazasında doğrudan kullanımları mümkün olmamaktadır. Yenilebilir filmlerde, uçucu yağların kullanılması yenilebilir filmlerin antimikrobiyal etkinliğinin

iyileştirilmesinde kullanılabilecek ve böylece de uçucu yağların gıda muhafazasında kullanım alanını artıracaktır. Hem yenilebilir filmler hem de uçucu yağlar, doğal ürünlere olan talep nedeniyle de tüketici tarafından tercih edilmektedir.

Gıda güvenliğinde ve muhafazasında yeni bir eğilim olarak uçucu yağları içeren yenilebilir filmlerin kullanım popülarlığı artmaktadır. Bu çalışmada kekik ve defne uçucu yağları içeren kitosan ve metilselüloz yenilebilir filmler üretilmiş ve bu filmlerin antibakteriyal, fiziksel ve mekanik özellikleri incelenerek karşılaştırılmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Antimikrobiyel madde içeren yenilebilir filmler, gıda yüzeyine uygulanan yenilebilir özellikteki polimerlerden elde edilen ince film tabakaları olarak tanımlanır. Yenilebilir filmler basit üretim teknolojisi gerektirmeleri, ucuz olmaları, doğal bileşiklerden elde edilmeleri, fonksiyonel özelliklerindeki çeşitlilik ve biyolojik olarak bozulabilmeleri nedeniyle son yılların dikkat çeken ambalaj materyalleridir (Cha ve Chinnan, 2004; Appendini ve Hotchkiss, 2002).

Min ve ark. (2005) peynir altı suyu proteini esaslı yenilebilir filmlerin *Salmonella enterica* ve *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyel etkilerini incelediklerini bildirmişlerdir.

Pranoto ve ark. (2005), sarımsak yağı (100-400 µL/g kitosan), potasyum sorbat (50-200 mg/g kitosan) veya nisin (51-204x103 IU/g kitosan) ilave edilen kitosan filmlerin, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* ve *Bacillus cereus* gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivitelerini incelemişlerdir. Sarımsak yağı, potasyum sorbat veya nisin içeren filmler; *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *B. cereus* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyel etki gösterirken, *E. coli* ve *S. Typhimurium* türlerine karşı antimikrobiyel etki göstermemiştir. *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *B. cereus* üzerine antimikrobiyel etki gösteren kitosan filmlerden en yüksek antimikrobiyel etkiyi sarımsak yağı içeren kitosan filmler göstermiştir. *S. aureus* ve *B. cereus* için en yüksek zon çaplarını (sırasıyla 34.46±3.28 mm ve 34.83±3.41 mm) 300 µL sarımsak yağı/g kitosan içeren filmler gösterirken, *L. monocytogenes* için en yüksek zon çapını (40.83±0.52 mm) 400 µL sarımsak yağı/g kitosan içeren filmler gösterdiğini açıklamışlardır.

Vartiainen ve ark (2005), kitosan ile kaplanmış (1,8 g/m²) BOPP (polipropilen) filmlerinin *B. cereus* ve *E. coli*'ye karşı etkisini antimikrobiyal damla testi ile değerlendirdikleri çalışmalarında, 30°C'de 24 saat sonunda kitosan kaplanmış filmlerin kaplanmamış filmlere nazaran *B. cereus* sayısını yaklaşık 3 Log, *E. coli* sayısını ise yaklaşık 4 Log düzeyinde azalttığını saptadıklarını bildirmişlerdir.

Zivanovic ve ark. (2005), yenilebilir filmlerde anason, fesleğen, kişniş, kekik uçucu yağlarını kullanmışlar ve yenilebilir filmlerin *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 üzerinde antimikrobiyel aktiviteleri incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada, bu yağların

film içinde kullanımı ile tek başına kullanımında aynı antimikrobiyal etkiyi gösterdiklerini açıklamışlardır. Ayrıca uçucu yağ içeren filmleri, bologna tipi sosis dilimlerinde uygulamışlardır. Film uygulanan ürünlerde patojen bakterilerin azaldığını belirtmişlerdir.

Beverly ve ark. (2008), asetik asit ve laktik asit içinde %0.5 ve 1.0 (a/h) oranında düşük (470 kDa) ve yüksek molekül ağırlıklı (1106 kDa) kitosan içeren filmleri hazırlamışlardır. *L. monocytogenes* ile inoküle edilmiş tüketime hazır bifteklerde yenilebilir filmleri uygulamışlar ve 4°C'de 28 gün süre ile muhafaza etmişlerdir. Depolamanın 14. gününde, kitosan ile kaplanmış tüm örneklerde *L. monocytogenes* sayısında 1.40-1.65 logaritmik azalma tespit etmişlerdir. *L. monocytogenes* sayısında en fazla azalma, laktik asit çözeltisinde çözündürülmüş düşük molekül ağırlıklı kitosan (%0.5, a/h) ile kaplanmış biftek örneklerinde saptadıklarını belirtmişlerdir.

Sivaroban ve ark. (2008), soya protein esaslı filmde çeşitli antimikrobiyal ürünler kullandıklarını açıklamıştır.

Kristo ve ark. (2008), sodyum kazeinat kullanılarak elde edilen yenilebilir filmlerin *L. monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Hosseini ve ark. (2009), kitosan filmlerin kekik, karanfil ve tarçın uçucu yağlarının antibakteriyal aktivitesi üzerine yapmış oldukları çalışmada, kekik uçucu yağı içeren kitosan filmlerin, karanfil ve tarçın uçucu yağlarını içeren kitosan filmlerinden daha büyük inhibisyon bölgesi oluşturduğunu belirtmişlerdir. Filmlerin, gram (+) bakterilere karşı daha yüksek antibakteriyal aktivitesini saptadıklarını açıklamışlardır.

Min ve Oh, (2009), origanum yağı içeren yenilebilir jelatin filmleri yayın balığında uygulamışlardır. 4°C ve 10°C'de depolanan örneklerde, %2 origanum yağı içeren jelatin yenilebilir filmlerin *E. coli* O157: H7 ve *S. Typhimurium*'a antibakteriyel aktivitesi saptadıklarını açıklamışlardır.

Mehdi Abdollahi ve ark. (2012), birberiye uçucu yağı içeren kitosan filmlerinin, *L. monocytogenes*, *Pseudomonas putida*, *Streptococcus agalactiae*, *E. coli* ve *Lactococcus lactis* bakterilerine karşı antimikrobiyal özelliğini incelemişlerdir. Araştırmada, birberiye uçucu yağı içeren kitosan filmlerin *L. monocytogenes* ve *S. agalactiae* ve *E. coli*'ye antimikrobiyal aktivitesini saptadıklarını belirlemişlerdir.

Şahin, (2013), kekik uçucu yağı (%1) içeren kitosan yenilebilir filmleri sucuklarda uygulamışlardır. Örneklerde, toplam aerob mezofil bakteri ve toplam aerob psikrofil

bakteri, laktik asit bakteri, *Staphylococcus-Micrococcus spp.* Sayım sonucunda azalma olduğunu bildirmiştir. Çalışma süresince kitosanın antimikrobiyel etkisinin gözlemlendiği ancak, kekik uçucu yağının beklenen etkisinin görülmediği belirtilmiştir.

Fernández-Pan ve ark. (2014), tavuk göğüs etinin kalite ve raf ömrünü arttırmak için kekik ve karanfil uçucu yağı (%0.01- %0.02) içeren yenilebilir film üretmişlerdir. Bu filmler, tavuk göğüs etinin direkt yüzeyine eklenen kekik ve karanfil uçucu yağ örnekleriyle antimikrobiyal etki açısından karşılaştırılmıştır. Antimikrobiyal etkinin uçucu yağ içeren yenilebilir kaplama örneklerinde daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Göğüs etlerine uygulanan kekik uçucu yağ içeren yenilebilir filmlerin depolama süresini iki kat artırdığını belirtmişlerdir.

Stephane Salmieri ve ark. (2014), kekik uçucu yağı içeren polisüloz nanokompozitlerinden yapılan filmlerin 4°C'de 14 gün depolama sürelerinde karışık meyve örneklerindeki *L. monocytogenes* inaktivasyonu üzerindeki etkisini incelemişlerdir. 14 gün depolanan örneklerde, 3. günden itibaren toplam mikroorganizma sayısında azalma belirlendiğini tespit ettiklerini açıklamışlardır.

Muppalla ve ark. (2014), karanfil ve polivil alkol içeren karboksimetil selüloz filmler üretmişlerdir. Karanfil uçucu yağı içeren tüm filmlerin konsantrasyona bağlı olarak *B. cereus* ve *S. aureus*'a antimikrobiyal etkisini bildirmişlerdir.

Ma ve ark. (2016), tarçın uçucu yağı ve soya fasulyesi yağı mikroemülsiyonları içeren kitosan filmlerin antimikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. %2 ve %3 a/a tarçın uçucu yağı içeren filmler *E. coli*, *Salmonella enterica*, *L. monocytogenes* 'e antimikrobiyal etkisini saptamışlardır.

Noshirvani ve ark. (2017), farklı oranlarda tarçın ve zencefil uçucu yağları içeren kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin, *Aspergillus niger*'in gelişimi üzerindeki antimikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. Hem kontrol örneğinde hem de uçucu yağ içeren kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin antifungal etkisini belirlediklerini açıklamışlardır. Tarçın ve zencefil uçucu yağ konsantrasyonu ile antifungal etkinin doğru orantılı olarak arttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, tarçın uçucu yağ içeren filmlerin antifungal etkisinin zencefil uçucu yağ içeren filmlere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Talón ve ark. (2017a), kekik uçucu yağı, nişasta ve kitosan içeren filmlerin kalınlık farklılıklarını incelemişlerdir. Sadece kitosandan hazırlanan filmlerin, diğer filmlere göre

daha yüksek kalınlığı tespit edilmiştir. Film kalınlığı, polimer zincirlerinin organizasyonuna, polimer zincirleri arasındaki etkileşimlere ve film matrisinin polifenol ve su içeriğine bağlı olarak değiştiğini açıklamışlardır.

Talón ve ark. (2017b), kekik uçucu yağı, nişasta ve kitosandan farklı formülasyonlarda elde ettikleri filmlerin Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) analizinde farklılıklar gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Kitosan filmlerin, daha düzenli ve kristalli bölgelerinden dolayı heterojen şekilde kırılmış bir yüzey sunduğunu tespit etmişlerdir. Nişasta filmleri ise, daha yumuşak bir görünüm sergilese de, filmlerin üstünde ve altında kristal bölgelerin varlığı da gözlemlenmiştir. Kekik uçucu yağı içeren kitosan filmlerin, kekik uçucu yağı içeren nişasta filmlere göre polimer yapıları daha uyumlu olduğundan daha homojen ve pürüzsüz bir yapı sunduğunu açıklamışlardır.

Yingying Han ve ark. (2017), tarçın uçucu yağı ile birleştirilen sodyum aljinatlı karboksimetil selüloz yenilebilir filmler üretmişler ve bu filmlerin *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Kontrol yenilebilir film örneklerinde, antibakteriyel etki belirlenmemiş, ancak tarçın uçucu yağı içeren yenilebilir filmlerin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisini tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Antimikrobiyal etkinin, tarçın konsantrasyonunun artışına bağlı olarak yükseldiğini saptamışlardır. Tarçın uçucu yağı içeren yenilebilir filmler, *S. aureus*'a karşı *E. coli*'den daha yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği saptanmıştır. Bu etkinin gram (-) bakterilerin (*E. coli*) dış membran proteinlerinin veya hücre duvarı lipopolisakkaritlerinin korunmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Söğüt ve ark. (2018), kekik uçucu yağı, üzüm çekirdeği yağı ve nar çekirdeği yağı içeren kitosan filmler üretmişler ve kalınlık değerlerini incelemişlerdir. Kekik uçucu yağı, üzüm çekirdeği yağı ve nar çekirdeği yağı ilavesinin, kitosan filmlerin kalınlık değerlerini azalttığını bildirmişlerdir. Film örneklerinin kalınlıklarında görülen bu farklılık, kitosanın film yapısı ve bu yapıya eklenen diğer bileşenler arasındaki etkileşimler nedeniyle oluşabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca, filmlerin mekanik özelliklerini araştırmışlardır. Üzüm çekirdeği yağı ve nar çekirdeği içeren kitosan filmler, kekik uçucu yağı içeren kitosan filmlerle karşılaştırıldığında daha düzensiz/ pürüzlü bir yapı sergilediklerini belirtmişlerdir. Üzüm çekirdeği yağı ve nar çekirdeği yağı içeren filmlerin yağ damlaları kolaylıkla seçilirken, kekik uçucu yağı içeren filmlerinin daha homojen bir yapıya sahip olduğu belirtmişlerdir.

Han ve ark., (2018), aljinat/karboksümetil selüloz yenilebilir filmlerde, tarçın uçucu yağı ilavesinin film kalınlığına etkisini araştırmışlardır. 5g/L tarçın uçucu yağı içeren filmlerin kontrole göre film kalınlıklarında farklılık belirlenmemiş, ancak 10g/L ve 15g/L tarçın uçucu yağı içeren film kalınlıkları kontrole göre hafif artış gösterdiğini saptamışlardır. Tarçın uçucu yağının, film matriksi içindeki büyüklüğüne ve dağılımına bağlı olarak filmin serbest hacminin artmasına yol açabileceğini belirtmişlerdir.

Amjad Ali ve ark. (2019), nar kabuğu yağı içeren nişastadan hazırlanan yenilebilir filmler üretmişler ve bu filmlerin *S. aureus* ve *Salmonella* sp.'ye karşı antimikrobiyal özellik gösterdiğini belirtmişlerdir. Filmlerin, *Salmonella* sp. 'ye karşı *S. aureus*'dan daha yüksek antimikrobiyal etkisini saptamışlardır. Elde edilen yenilebilir filmlerde nar kabuğu konsantrasyonunun artışına bağlı olarak, antimikrobiyal etkinin arttığını tespit etmişlerdir.

Wu ve ark. (2019), greyfurt kabuğu unu kullanılarak yenilebilir film üretimi yapmışlar ve yenilebilir filmlerde çay polifenolü kullanmışlardır. Bu filmlerin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Sadece greyfurt kabuğu kullanılarak hazırlanan filmlerin antimikrobiyal etkisini belirlemediklerini, ancak çay polifenolü içeren filmlerde antimikrobiyal etkisinin belirlendiğini açıklamışlardır. Filmlerin *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisi, *Escherichia coli*'den daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Filmlerin antimikrobiyal etkisi, filmlerde kullanılan çay polifenolü konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Lee ve ark. (2019), kekik uçucu yağı içeren hidroksipropil metilselüloz filmlerin, gram (+) (*S. aureus*, *B. cereus* ve *L. monocytogenes*) ve gram (-) (*E. coli*, *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa* ve *Vibrio parahaemolyticus*) bakterilerine karşı antibakteriyel özelliklerini disk difüzyon yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Filmlerin tüm bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesini belirlediklerini ve kekik uçucu yağı konsantrasyon oranının artışına paralel olarak yükseldiğini bildirmişlerdir. %5.0 kekik uçucu yağı içeren hidroksipropil metilselüloz filmlerin, özellikle *S. Typhimurium*'a karşı önemli antibakteriyel aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Kekik uçucu yağının antibakteriyel aktivitesi, carvacrol, timol ve p-sikmen gibi fenoliklerin konsantrasyonuna bağlıdır. Bu bileşikler, bakterilerin hücre zarını tahrip ederek, iyon geçirgenliği ve iyon kaybına neden olmakta, ATP ve diğer sitoplazma içeriklerinin sentezlenmesini bozarak çoğalmasını

engellemektedir. Gram (-) bakterilerin kalın bir hücre çeperinin olmayışı nedeniyle daha duyarlı olduğunu açıklamışlardır.

Samsi ve ark., (2019) karboksimetil selüloz ve jelatin yenilebilir filmlerin hem gram (+), hem de gram (-) patojen bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisini belirlemediklerini bildirmişlerdir. Karboksimetil selüloz ve jelatinin birlikte kullanılarak hazırlanan yenilebilir filmlerin antimikrobiyal özelliklerini tespit etmişlerdir. Özellikle hazırlanan filmlerde karboksimetil selüloz oranı artışına bağlı olarak, *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktiviteninde artış gösterdiğini açıklamışlardır.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırmada, kitosan ve karboksimetil selüloz filmleri üretilmiş ve bu filmlerin antimikrobiyal özelliklerini iyileştirmek amacı ile kekik ve defne uçucu yağları ilave edilmiştir. Üretilen filmlerin fiziksel, mekanik, optik ve antibakteriyal özellikleri incelenmiştir.

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan kitosan %90-95 saflıkta olup ADAGA Gıda ve Danışmanlık Sanayi A.Ş.'den temin edilmiştir. Karboksimetil selüloz, çeşitli satış birimlerinden alınmıştır.

Kekik ve Defne uçucu yağları Hatay ili sınırları içerisinde yetişen defne ve kekik bitkilerinden üretim yapan Medine Bitkisel Ürünler Pazarlama Tic. San.'den temin edilmiştir.

Yenilebilir filmlerin antimikrobiyal etkinliğini araştırmak amacıyla, *Salmonella* Typhimurium ATCC 12023, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* O:157 ATCC 43888, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.

3.1.1. Araştırmada Kullanılan Cihazlar

Araştırmada kullanılan cihazlar aşağıdaki Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Araştırmada kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Marka
İnkübatörler	Mipro Ve Wtc Binder
Otoklav	Biobase Bkq
Mikro Metre	Mitutoyo
Etüv	Apın Samheung
Buzdolabı	Aeg

Çizelge 3. 2 (Devam). Araştırmada kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Marka
UV Spektrofotometre	Shimadzu Uv-1800
Hassas terazi	Bel
Saf su cihazı	Brookfield
Tekstür analiz cihazı	Velp Scientifica
Manyetik karıştırıcı	Velp Scientifica
Taramalı Elektron Mikroskopu	Jeol Jsm-5500lv
Çeker Ocak	Legrand
Derin Dondurucu	Arçelik

3.1.2 Araştırmada Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar

Araştırmada kullanılan besiyerleri ve kimyasallar Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3. 3. Kullanılan besi yerleri ve kimyasallar

Nutrient Agar	Biomark B 550
Nutrient Broth	Merck 1.05443.0500
Mueller-Hinton Agar	Merck 1.05437.0500
Twen 80	Merck
Gliserol	Merck 1.04093.2500
Asetik asit	Merck 1.00063.2511
Sodyum Klorür	Merck 1.06400.5000

3.2. Yöntem

Yenilebilir filmlerin hazırlanmasında kitosan ve karboksimetil selüloz kullanılmıştır. Yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerde antibakteriyal özelliğini sağlamak amacıyla kekik ve defne uçucu yağları hem ayrı olarak ve hem de bire bir oranda karıştırılarak ilave edilmiştir.

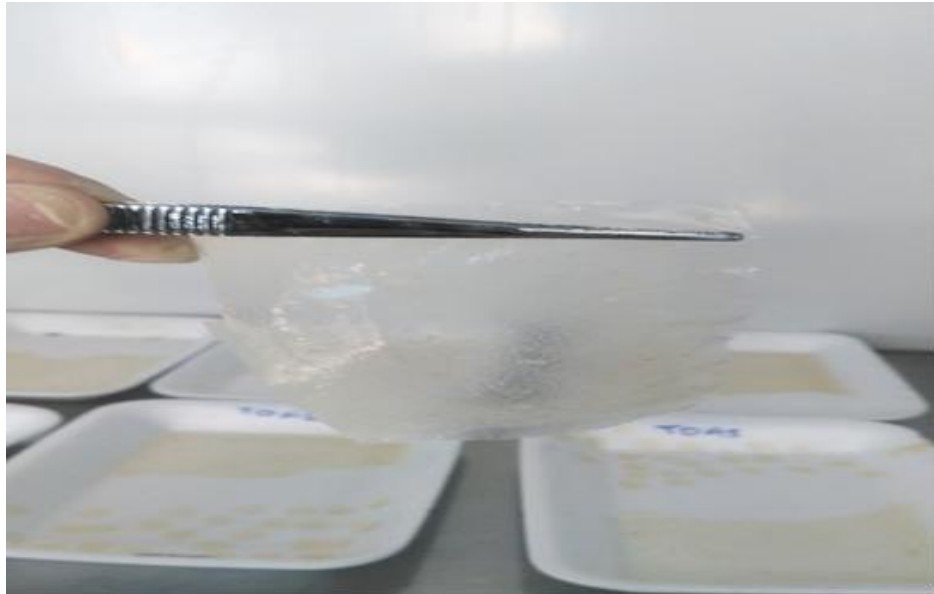
Yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerde uçucu yağlar, %0.012, %0.025 ve %0.037 oranlarında kullanılmıştır. Kekik ve defne uçucu yağlarını içeren yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmler üretimlerinden sonra 3 gün

kurutulmuş ve ardından antibakteriyal, fiziksel ve mekanik özellikleri incelenmiştir. Araştırmada yenilebilir filmler 3 tekerrür olarak üretimleri yapılmıştır.

3.2.1. Yenilebilir Filmlerin Üretimi

3.2.1.1. Yenilebilir Kitosan Filmlerin Üretimi

Yenilebilir kitosan filmler, Garcia ve ark., (1998) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek elde edilmiştir. 200 ml saf su üzerine 1,5 ml asetik asit ilave edilerek hazırlanan çözeltiye, 3 gr kitosan eklenmiş ve 50°C’de ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanılarak çözündürülmüştür. Elde edilen solüsyona 3 ml gliserol (plastikleştirici olarak) eklenmiş ve 5 dakika daha karıştırılmaya devam edilmiştir. Hazırlanan bu örnekler kontrol olarak değerlendirilmiştir. Kekik ve defne uçucu yağı içeren kitosan yenilebilir filmler, kontrol örnekleri ile aynı hazırlanmış ardından 25-50-75 µl oranların da defne, kekik, defne+kekik yağları ve Tween 80 eklenmiştir. Hazırlanan solüsyon 1 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılmaya devam edilerek yağların homojen dağılımları sağlanmıştır. Daha sonra hazırlanan film solüsyonları 10x15 cm strafor tabaklara 40 mL dökülerek 2-3 gün oda koşullarında kurutulmuştur. 3 paralel olarak yapılan üretimde, 10 farklı bileşimde yenilebilir kitosan film elde edilmiştir.



Şekil 3.1. Yenilebilir kitosan filmi üretimi

3.2.1.2. Yenilebilir Karboksimetil Selüloz Filmlerin Üretimi

Yenilebilir karboksimetil selüloz filmlerin hazırlanmasında, Ayana (2007) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilerek elde edilmiştir. Yenilebilir karboksimetil selüloz film solüsyonu hazırlanmak için, 4 g karboksimetil selüloz, 50 mL saf su içerisine eklenmiş ve ardından, 90°C'ye ısıtılmıştır. Daha sonra hazırlanan çözelti içerisine, karboksimetil selüloz miktarının yaklaşık yarısı kadar gliserol (1,6 mL) ilave edilmiştir. Gliserol ilave edilen çözelti 10 dakika karıştırıldıktan sonra sıcaklık 50 °C düşürülüp 10 dakika boyunca ağzı açık bir şekilde karıştırılmıştır. Hazırlanan bu örnekler kontrol olarak değerlendirilmiştir. Kekik ve defne uçucu yağı içeren karboksimetil selüloz yenilebilir filmler, kontrol örnekleri ile aynı hazırlanmış ardından 25-50-75 µl oranların da defne, kekik, defne+kekik yağları ve Tween 80 eklenmiştir. Hazırlanan solüsyon 1 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılmaya devam edilerek yağların homojen dağılımları sağlanmıştır. Hazırlanan film solüsyonları 24 saat UV altında bekletilerek sterilizasyonu gerçekleştirilen 10x15 cm strafor tabaklara 40 mL dökülerek 2-3 gün 25°C'de inkübatörde kurutulmuştur. 3 paralel olarak yapılan üretimde, 10 farklı bileşimde yenilebilir kitosan film elde edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Yenilebilir karboksimetil selüloz film üretimi

3.2.2. Yenilebilir Filmlerin Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi

Kekik ve defne uçucu yağlarını içeren kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin karakteristik özellikleri (film kalınlığı, renk değerleri, taramalı elektron mikroskobu görüntüsü, mekanik özellikleri) ve antibakteriyal aktivitesi araştırılmıştır.

3.2.2.1. Film Kalınlığı

Yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin kalınlıkları, 0–25 mm (± 0.01 mm) micrometer (Mitutoyo, Tokyo, Japan) cihazı kullanılarak ölçümleri yapılmıştır. Her filmin 5 farklı yerinden ölçüm yapılmıştır (Talón ve ark. 2017, Söğüt ve ark. 2018).

3.2.2.2. Renk Ölçümleri

Yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin renk ölçümleri (L^* (açıklık), a^* (kırmızı-yeşil) ve b^* (sarı-mavi)), Minolta (CR-400, Japonya) renk ölçüm cihazında beyaz plakayla kalibrasyonu yapıldıktan sonra örnekler cihazın yüzeyini kaplayacak şekilde yerleştirilmiş ve her bir film için 2’şer defa Colorimeter color (TL84/2°) ve Daylight color (D65/10°) parametrelerinde okuma yapılmıştır (Noshirvani ve ark. 2017).

3.2.2. Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

Yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmler, karbon bant üzerine kesilerek yapıştırılmış ve 90sn boyunca altın paladyum ışık yağmuru uygulanmıştır. Daha sonra filmler Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Araştırma Laboratuvarları Merkezi’nde bulunan JOEL JSM-5500LV model Taramalı Elektron Mikroskobu cihazı ile mikroyapıları görüntülenmiştir. Filmlerin yüzey görüntüsü için x500 yakınlaştırma, kesit görüntüsü için x2000 yakınlaştırma uygulanmıştır (Söğüt, ve ark. 2018).



Şekil 3.3. Taramalı elektron mikroskobu cihazı

3.2.2.4. Mekanik Özellikleri

Yenilebilir kitosan ve karbosimetil selüloz filmlerin, delinmeye karşı direnci ve kırılma noktası analizleri Rüptür Testi yöntemi ile belirlenmiştir. Brookfield tekstür cihazının iki plakası arasına yerleştirilen numune için penetrasyon aksesuarı olarak kırılma için 2 mm silindirik prob takılmıştır, delinmeye karşı direnç için 2 mm sivri uçlu prob takılmıştır. Analiz için test hedef değeri – 4500 g, trigger load -10 g, test hızı - 0,20 mm/sn olarak ayarlanmıştır. Her bir film örneği için ayrı ayrı ölçümler yapılmıştır (Angela ve ark. 2016).



Şekil 3.4. Tekstür analiz cihazı

3.2.3. Yenilebilir Filmlerde Antimikrobiyel Aktivite

Yenilebilir kitosan ve karbosimetil selüloz filmlerin antibakteriyal aktiviteleri agar difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Araştırmada yenilebilir filmlerin, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Rhodococcus equi* *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* O:157, *Listeria innocua*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*'a karşı antibakteriyal aktivitesi araştırılmıştır.

3.2.3.1. Agar Difüzyon Yöntemi

Kekik ve defne uçucu yağlarının farklı oranlarda eklenmesi ile elde edilen kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemede kullanılan yöntem zon çaplarının ölçülmesidir. Bu işlem için bir gün öncesinde Nutrient Broth besiyerinde geliştirilen sıvı kültürlerden 0.1 ml alınarak steril cam petri kutularına aktarılmıştır, petrilerin içerisindeki kültürlerin üzerini kaplayacak şekilde ortalama 10-20 ml Müller Hilton Agar (Merck) dökülerek ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler oda koşullarında katılaşması sağlanmıştır (Pranoto ve ark 2005, Lee ve ark. 2019).

Daha sonra her kültür için 1 gün öncesinde 1 cm çapında kesilen defne, kekik ve defne+kekik uçucu yağlarının %0.012, %0.025 ve %0.037 oranlar da karıştırılarak hazırlanmış filmler, 3 bölgeye ayrılan petrilerde ilgili alana aseptik koşullarda yerleştirilmiştir. Ekimi yapılan ve üzerine 1 cm çapında filmlerin yerleştirildiği petriler 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda film örneklerinin etrafındaki şeffaf bölgelerin (inhibisyon zonları) çapları mm cinsinden ölçülmüştür. Zon çapları 3 paralel şekilde tekrarlanmış ve ortalamaları belirlenmiştir (Pranoto ve ark 2005, Lee ve ark. 2019).

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirmeler

Araştırma sonuçları değerlendirilmesinde IBM SPSS Versiyon 22.0 istatistiksel paket programı kullanılarak varyans analizi yapılmıştır. Farklı grupların belirlenmesi için de Duncan testi uygulanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmler üretilmiştir. Yenilebilir filmlerin bileşimine %0.012, %0.025 ve %0.037 oranlarında kekik ve defne uçucu yağı ilave edilmiştir. Uçucu yağlar kullanılmadan ve uçucu yağ içeren yenilebilir filmlerin karakteristik özelliklerini incelemek için, kalınlık, renk, Taramalı Elektron Mikroskopla mikro yapıları ve tekstür analizleri yapılmıştır. Ayrıca, yenilebilir filmlerin antibakteriyal aktiviteleri incelenmiştir.

4.1. Yenilebilir Filmlerin Karakteristik Özellikleri Analiz Sonuçları

4.1.1. Yenilebilir Filmlerin Kalınlık Ölçüm Sonuçları

Uçucu yağ içermeyen (kontrol grubu) ve uçucu yağ içeren yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin kalınlık ölçüm sonuçları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre yenilebilir kitosan film örneklerinde, kalınlık analiz sonuçları 0.09 mm ile 0.11 mm arasında belirlenmiştir. Yenilebilir karboksimetil selüloz film örneklerinde ise kalınlık analiz sonuçları, 0.110 mm ile 0.136 mm aralığında saptanmıştır. Kontrol örneği ile uçucu yağ (hem kekik hem de defne) içeren örneklerin film kalınlık ölçümlerinde önemli düzeyde ($P>0.05$) bir farklılık saptanmamıştır.

Araştırmada ayrıca, karboksimetil selüloz filmlerin, kitosan filmlere göre daha yüksek kalınlık ölçüm sonuçları belirlenmiştir. Yenilebilir film üretiminde kitosan ve karboksimetil selüloz kullanımı film kalınlıkları üzerinde %1 önem düzeyinde etkisi olduğu saptanmıştır.

Genel olarak istatistiksel olarak önemli farklılık belirlenmemiş olsada, uçucu yağ içeren yenilebilir filmlerde kalınlık ölçüm sonuçlarında kontrole göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Kontrol örneğine göre, uçucu yağ içeren örneklerin film kalınlık ölçümlerinin daha düşük belirlenmesinde, uçucu yağlar ile filmlerin polimer zincirleri arasındaki etkileşim nedeniyle oluşmaktadır. Benzer sonuçlar birçok araştırmada belirtilmiştir. Talón ve ark. (2017), kekik uçucu yağı içeren, nişasta ve kitosandan üretilen filmlerin kalınlıklarında önemli farklılıklar tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Saf kitosan filmler en yüksek kalınlık değerlerini gösterdiğini bildirmişlerdir. Söğüt ve ark. (2018)

kekik yağı, üzüm çekirdeği yağı ve nar çekirdeği yağı kullanılan kitosan filmlerin kalınlık değerlerinin önemli ölçüde azaldığını açıklamışlardır. Shen ve ark. (2015), limon çimeni ve sedir ağacı uçucu yağları kullanımının, kitosan filmlerin kalınlığını önemli ölçüde etkilemediğini bildirmişlerdir. Yingying Han (2017), 5.0 g/L, 10.0 g/L ve 15.0 g/L tarçın uçucu yağı ile hazırlanan filmlerin kalınlığı, kontrol filimlerine göre anlamlı bir değişiklik göstermediğini belirtmişlerdir. Araştırma sonucundan farklı olarak, Lee ve ark (2018) karanfil uçucu yağının kitosan filmlerin kalınlığını önemli ölçüde arttırdığını açıklamışlardır.

Araştırmada belirlenen kitosan film kalınlığı (0.10 ± 0.018 mm) ölçüm sonuçlarına benzer olarak, Talón ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada (91 ± 11 µm) ve Lee ve ark (2018)'nin yaptıkları araştırmada (0.123 ile 0.128 mm) olarak açıklanmıştır. Söğüt ve ark. (2018) ve Shen ve ark. (2015) ise, araştırma sonuçlarından daha düşük kalınlık ölçüm değerleri (sırasıyla (50 µm) ve (22-27 µm)) bildirmişlerdir.

Araştırmada belirlenen karboksimetil selüloz film kalınlığı (0.133 ± 0.017 mm) ölçüm sonuçları, Yingying Han (2017) tarafından belirtilen sonuçlardan (0.072 mm) daha yüksek olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.1. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin kalınlıkları (milimetre)

		Kitosan	Karboksimetil Selüloz
Kontrol		0.10 ± 0.02 mm	0.13 ± 0.02 mm
Kekik	%0.012	0.09 ± 0.02 mm	0.13 ± 0.02 mm
Kekik	%0.025	0.10 ± 0.01 mm	0.12 ± 0.02 mm
Kekik	%0.037	0.11 ± 0.02 mm	0.15 ± 0.01 mm
Defne	%0.012	0.09 ± 0.01 mm	0.12 ± 0.02 mm
Defne	%0.025	0.10 ± 0.02 mm	0.14 ± 0.02 mm
Defne	%0.037	0.09 ± 0.09 mm	0.13 ± 0.01 mm
Kekik+Defne	%0.012	0.09 ± 0.01 mm	0.13 ± 0.02 mm
Kekik+Defne	%0.025	0.11 ± 0.02 mm	0.12 ± 0.02 mm
Kekik+Defne	%0.037	0.09 ± 0.01 mm	0.11 ± 0.01 mm

4.1.2. Yenilebilir Filmlerin Renk Ölçüm Sonuçları

4.1.2.1. L*(Parlaklık) Değeri Sonuçları

Çizelge 4.2’de yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin L* değerleri verilmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre yenilebilir kitosan filmlerin kontrol gruplarının L* (parlaklık) değerleri (Calorimeter, Daylight), sırasıyla 21.52 ± 0.64 , 21.41 ± 1 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla en düşük L* her iki parametre (Calorimeter, Daylight) için 25 µl kekik içeren yenilebilir kitosan filmlerde ölçülmüştür. Kekik yağı içeren kitosan filmlerin L* değeri üzerine etkisi defne ve defne+kekik içeren filmlere oranla istatistiksel olarak ($p < 0.05$) daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, film yapısı içerisindeki kekik yağı damlalarının, ışığın film boyunca dağılımını artırarak, kitosan filmlerin ışığa geçirgenliğini azaltmasıyla açıklanabilir (Tongnuanchan ve ark., 2013). Benzer sonuçlar Söğüt ve Seydim (2018) tarafından yürütülen çalışmada da elde edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla en yüksek L* her iki parametre (Calorimeter, Daylight) için 50 µl kekik+defne uçucu yağı içeren yenilebilir kitosan filmlerde ölçülmüştür.

Karboksimetil selüloz filmlerin kontrol grubunun L* değerleri her iki parametre (Calorimeter, Daylight) için sırasıyla 22.03 ± 2.27 , 22.01 ± 2.54 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla en düşük L* değeri her iki parametre (Calorimeter, Daylight) içinde 25 µl kekik içeren karboksimetil selüloz filmlerde ölçülmüştür. En yüksek parlaklık değerini 50 µl defne+kekik içeren karboksimetil selüloz filmler göstermiştir. Uçucu yağ oranlarındaki değişim karboksimetil selüloz filmlerin L* değerlerinde üzerinde ($P \leq 0.05$) önem düzeyinde etkisi saptanmıştır. Karboksimetil selüloz filmlerindeki yağ damlalarının, ışığın film boyunca geçirgenliğini kitosan filmlere göre arttırdığı yönünde yorum yapılabilir. Bu durum kitosan filmlerin hayvansal morfolojik yapısına bağlanabilir.

Çizelge 4.2. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin L* değerleri

		Calorimeter(TL84/2°)		Daylight (D65/10°)	
		Kitosan	Karboksimetil Selüloz	Kitosan	Karboksimetil Selüloz
Kontrol		21.52±0.64 ^d	22.03±2.27 ^d	21.41±1.00 ^d	22.01±2.54 ^d
Kekik	%0.012	20.07±2.26 ^{cd}	25.17±0.34 ^{cd}	19.98±1.51 ^{cd}	25.22±0.54 ^{cd}
Kekik	%0.025	22.02±2.22 ^{bcd}	28.79±2.91 ^{bcd}	22.81±1.59 ^{abcd}	29.10±2.94 ^{abcd}
Kekik	%0.037	21.89±2.83 ^{bcd}	25.25±1.05 ^{bcd}	24.14±6.40 ^{bcd}	25.34±0.83 ^{bcd}
Defne	%0.012	21.66±0.51 ^{bcd}	28,68±2.20 ^{bcd}	21.52±0.36 ^{bcd}	28.43±2.50 ^{bcd}
Defne	%0.025	25.15±4.51 ^{ab}	29.87±2.61 ^{ab}	24.17±4.80 ^{ab}	30.08±2.42 ^{ab}
Defne	%0.037	23.67±4.73 ^{abc}	29.72±1.19 ^{abc}	23.71±4.65 ^{abc}	29.80±1.11 ^{abc}
Kekik+Defne	%0.012	24.41±0.41 ^{abc}	28.28±1.22 ^{abc}	24.37±0.31 ^{ab}	30.98±3.09 ^{ab}
Kekik+Defne	%0.025	26.52±7.94 ^a	33.31±11.75 ^a	26.60±7.69 ^a	33.42±11.18 ^a
Kekik+Defne	%0.037	23.61±1.59 ^{ab}	30.99±0.91 ^{ab}	23.69±1.42 ^{ab}	30.76±1.08 ^{ab}

^{a,b,c} : Aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir (Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P≤0.05 düzeyinde önemlidir).

Araştırmada ayrıca, karboksimetil selüloz filmlerin, kitosan filmlere göre daha yüksek L* değerleri belirlenmiştir. Yenilebilir film üretiminde kitosan ve karboksimetil selüloz kullanımı filmlerin L* değerleri üzerinde her iki analiz parametresi için de %1 önem düzeyinde etkisi olduğu saptanmıştır.

4.1.2.2. a*(Kırmızılık) Değeri Sonuçları

Farklı oranlarda kekik ve defne uçucu yağı içeren kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin a* değerleri Çizelge 4.3 de verilmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre a*(kırmızılık) değerinin kitosan filmlerin her iki analiz parametresi içinde eksi çıktığı (yeşillik) gözlenmiştir. Kontrol grubunun her iki analiz parametresi (Calorimeter, Daylight) için değerleri sırasıyla -2,62±0.29, -1.88±0.19 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna bakarak en düşük a* değerini her iki parametre (Calorimeter, Daylight) için de L*' de olduğu gibi 25 µl kekik içeren kitosan filmlerde gözlenmiştir. Ancak uçucu yağ içeren yenilebilir filmlerin kontrol gruplarına kıyasla

(Calorimeter, Daylight) analiz sonuçlarında ($P>0.05$) önemli düzeyde bir farklılık saptanmamıştır. Benzer sonuçlar; Söğüt ve ark. (2018) tarafından üretilen kitosan filmlerin a^* değerini -0.27 ± 0.05 , kekik yağı içeren film -0.27 ± 0.01 , üzüm çekirdeği yağı içeren film -0.31 ± 0.01 ve nar çekirdeği yağı içeren film -0.37 ± 0.01 olarak ölçmüşlerdir ve önemli düzeyde bir farklılık saptanmamışlardır. Bonilla ve ark. (2016) kitosan filmlerin kırmızılık değerine karşılık gelen a^* parametresini -1.18 olarak belirlemişlerdir. Kitosan oranı filmlerde yükseldiğinde bu değerin arttığını bildirmişlerdir. Talón ve ark. (2017) kekik yağı eklenen kitosan filmlerin kontrol örneklerine kıyasla daha kırmızımsı filmler oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4.3. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin a^* değerleri

		Calorimeter(TL84/2°)		Daylight (D65/10°)	
		Kitosan	Karboksimetil selüloz	Kitosan	Karboksimetil selüloz
Kontrol		-2.62 ± 0.29	-1.70 ± 0.93	-1.88 ± 0.19	-0.90 ± 0.19
Kekik	%0.012	-2.31 ± 0.64	-2.25 ± 0.18	-2.23 ± 0.43	-1.36 ± 0.16
Kekik	%0.025	-1.64 ± 0.83	-2.30 ± 0.31	-1.90 ± 0.59	-1.36 ± 0.10
Kekik	%0.037	-1.86 ± 0.44	-2.24 ± 0.21	-1.66 ± 0.16	-1.39 ± 0.11
Defne	%0.012	-2.12 ± 0.51	-2.50 ± 0.27	-1.74 ± 0.30	-1.46 ± 0.15
Defne	%0.025	-2.25 ± 0.73	-2.15 ± 0.38	-1.25 ± 1.42	-1.54 ± 0.22
Defne	%0.037	-2.34 ± 0.36	-2.08 ± 0.15	-1.81 ± 0.20	-1.58 ± 0.06
Kekik+Defne	%0.012	-0.10 ± 0.52	-2.01 ± 0.32	-0.75 ± 0.49	-1.31 ± 0.22
Kekik+Defne	%0.025	-2.19 ± 0.30	-1.20 ± 1.03	-1.90 ± 0.27	-0.8 ± 0.68
Kekik+Defne	%0.037	-2.23 ± 0.32	-2.13 ± 0.28	-1.80 ± 0.20	-1.28 ± 0.30

Çalışma sonuçlarına göre a^* (kırmızılık) değerinin karboksimetil selüloz filmlerin her iki analiz parametresi (Calorimeter, Daylight) içinde eksi çıktığı(yeşillik) gözlemlenmiştir. Kontrol grubunun her iki analiz parametresi için değerleri sırasıyla -1.7 ± 0.93 , -0.9 ± 0.19 olarak tespit edilmiştir. Calorimetre analiz sonucu için en düşük değer 25 µl kekik yağı içeren filmlerde, Daylight analiz sonucu için en düşük sonuç 75 µl defne yağı içeren filmlerde ölçülmüştür. Kitosan yenilebilir filmlerle benzer olarak uçucu yağ katkılı filmlerin kontrol gruplarına kıyasla Calorimeter, Daylight analiz sonuçlarında ($P>0.05$) önemli düzeyde bir farklılık saptanmamıştır.

Yenilebilir film üretiminde kitosan ve karboksimetil selüloz kullanımı filmlerin a* değerleri üzerinde %5 önem düzeyinde etkisi olduğu saptanmıştır.

4.1.2.3. b*(Sarılık) Değeri Sonuçları

Farklı oranlarda kekik ve defne uçucu yağı içeren kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin b* değerleri Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre kitosan filmlerin kontrol gruplarının b*(sarılık) değerleri sırasıyla (Calorimeter, Daylight) her iki parametre için; -0.54 ± 1.05 , -0.4 ± 0.19 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre karboksimetil selüloz filmlerin kontrol gruplarının b* değeri her iki parametre (Calorimeter, Daylight) için sırasıyla 2.1 ± 0.041 , 2.12 ± 0.048 olarak tespit edilmiştir. Kitosan filmlerin kontrol grubunun eksi (mavi), karboksimetil selüloz filmlerin ise pozitif (sarı) çıktığı gözlenmiştir. L* ve a* değerlerinde olduğu gibi en düşük değerleri 25 µl kekik uçucu yağı içeren filmlerin verdiği gözlenmiştir. Uçucu yağ oranlarındaki değişim hem kitosan ve hem de karboksimetil selüloz filmlerin b* değerlerinde calorimeter parametresi için ($p \leq 0.05$) önem düzeyinde etkisi saptanmıştır. Ancak uçucu yağ oranlarındaki değişim kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin b* değerlerinde Daylight parametresi için ($p \geq 0.05$) önem düzeyinde farklılık saptanmamıştır. Benzer sonuçlar; Söğüt ve ark. (2018) tarafından üretilen kitosan filmlerin b* değerini 4.20 ± 0.13 , kekik yağı içeren film 3.71 ± 0.21 , üzüm çekirdeği yağı içeren film 4.16 ± 0.09 ve nar çekirdeği yağı içeren film 4.54 ± 0.11 olarak ölçmüşlerdir. Kitosan filmlere keki ve nar çekirdeği yağı ilavesi filmlerin b* değerlerini önemli ölçüde değiştirdiğini belirtmişlerdir. Bonilla ve ark. (2016) kitosan filmlerinde kitosanın kullanım miktarına bağlı olarak b* değerinin arttığını bildirmişlerdir.

Yenilebilir film üretiminde kitosan ve karboksimetil selüloz kullanımı filmlerin b* değerleri üzerinde calorimeter parametresi için %1 önem düzeyinde etkisi olduğu saptanmış, ancak b* değerlerinin daylight parametresi için önemli düzeyde ($P \geq 0.05$) etkisi saptanmamıştır.

Çizelge 4.4. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin b* değerleri

		Calorimeter (TL84/2°)		Daylight (D65/10°)	
		Kitosan	Karboksimetil selüloz	Kitosan	Karboksimetil selüloz
Kontrol		-0.54±1.05 ^d	2.10±0.04 ^d	-0.40±0.19	2.12±0.05
Kekik	%0.012	-1.10±1.69 ^{cd}	0.74±0.69 ^{cd}	-0.67±1.71	0.51±0.41
Kekik	%0.025	0.12±2.41 ^{abcd}	1.16±0.59 ^{abcd}	0.62±1.87	1.20±0.49
Kekik	%0.037	1.70±0.76 ^{bcd}	0.85±0.19 ^{bcd}	1.85±0.52	0.62±0.19
Defne	%0.012	0.11±0.17 ^{bcd}	0.77±0.36 ^{bcd}	0.63±0.24	0.77±0.22
Defne	%0.025	1.35±2.0 ^{ab}	1.25±1.08 ^{ab}	1.46±1.58	1.34±0.66
Defne	%0.037	0.8±0.57 ^{abc}	1.14±0.43 ^{abc}	1.14±0.57	1.25±0.25
Kekik+Defne	%0.012	0.12±0.14 ^{ab}	1.14±0.85 ^{ab}	-0.11±0.21	1.10±0.78
Kekik+Defne	%0.025	1.61±2.24 ^a	1.55±0.67 ^a	1.80±2.37	1.31±0.74
Kekik+Defne	%0.037	1.53±1.24 ^{ab}	1.53±0.50 ^{ab}	1.95±0.90	1.38±0.57

^{a,b,c} : Aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir (Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir).

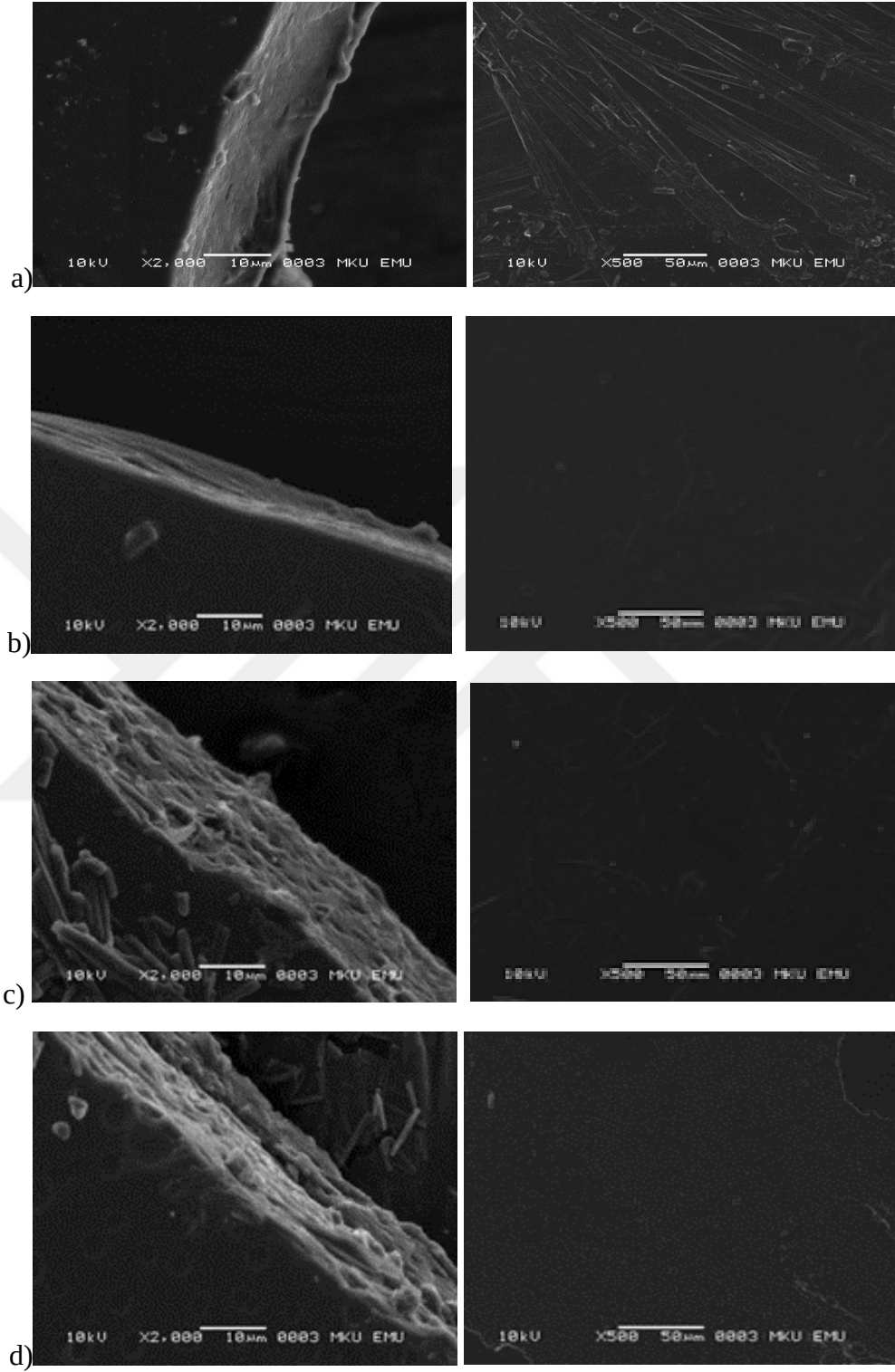
4.2. Yenilebilir Filmlerin Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi Sonuçları

Kontrol (kitosan) ve farklı oranlarda uçucu yağ içeren yenilebilir kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 verilmiştir.

Üretimi gerçekleştirilen kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntülerinde dikkate çekici farklılıklar gözlemlenmiştir. Karboksimetil selüloz filmler daha düzenli ve kristalli bölgelerin varlığından dolayı heterojen şekilde kırılmış bir yüzey sunmuştur. Kitosan filmler ise daha yumuşak bir görünüm sergilese de, filmlerin üstünde ve kesit alanlarında kristal bölgelerin varlığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar Talón ve ark. (2017) tarafından gerçekleştirilen kekik yağı içeren nişasta ve kitosan filmlerin sonucu ile çelişmektedir. Talón ve ark. (2017) çalışmalarında daha homojen yapıyı kitosan filmlerinde gözlemediklerini açıklamışlardır.

Kesit

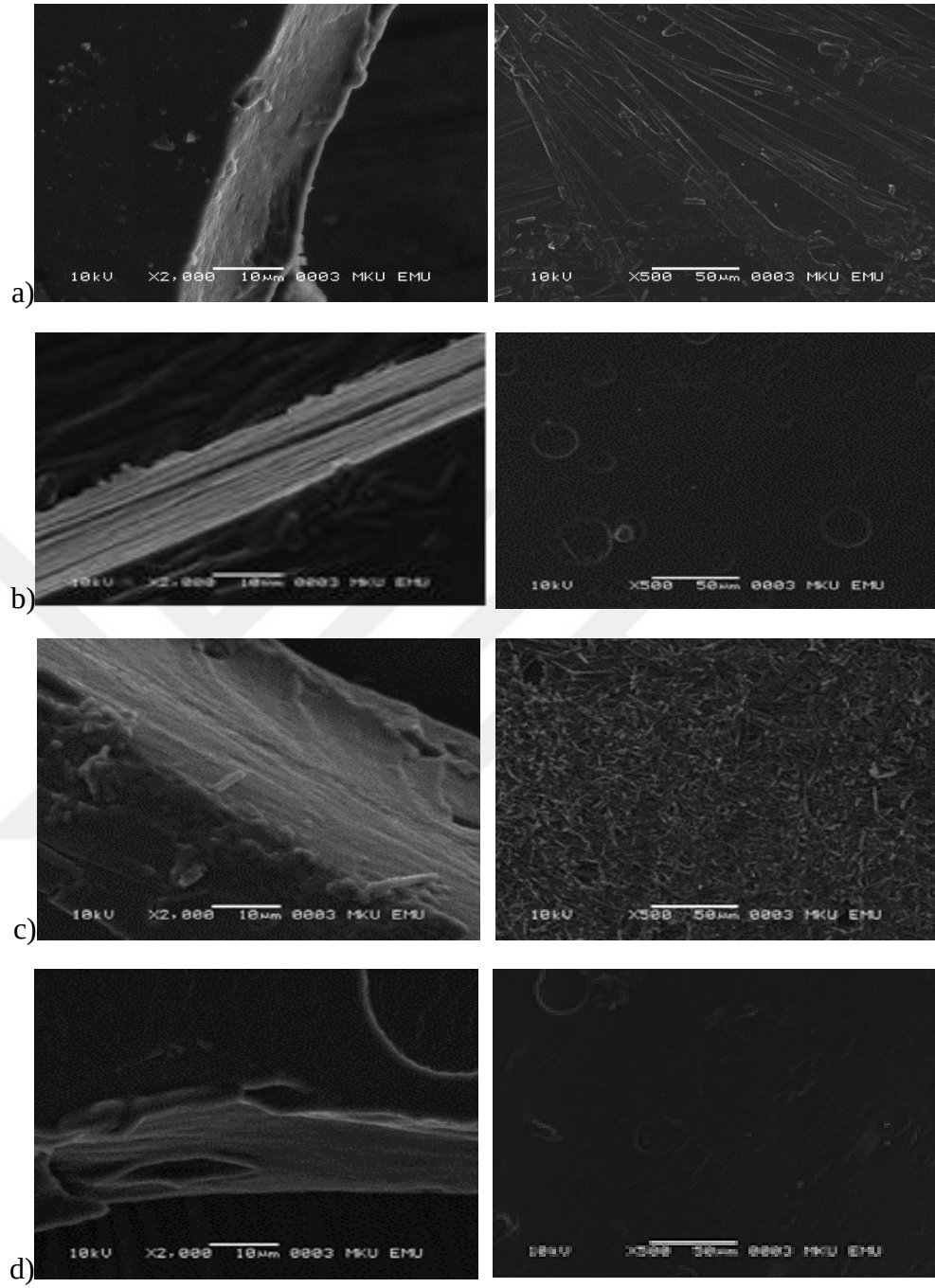
Yüzey



Şekil 4.1. Kekik uçucu yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri [500-2000X büyütme (yüzey- kesit)], a)kontrol, b)% 0.012 kekik uçucu yağı, c) %0.025 kekik uçucu yağı ve d) %0.037 kekik uçucu yağı

Kesit

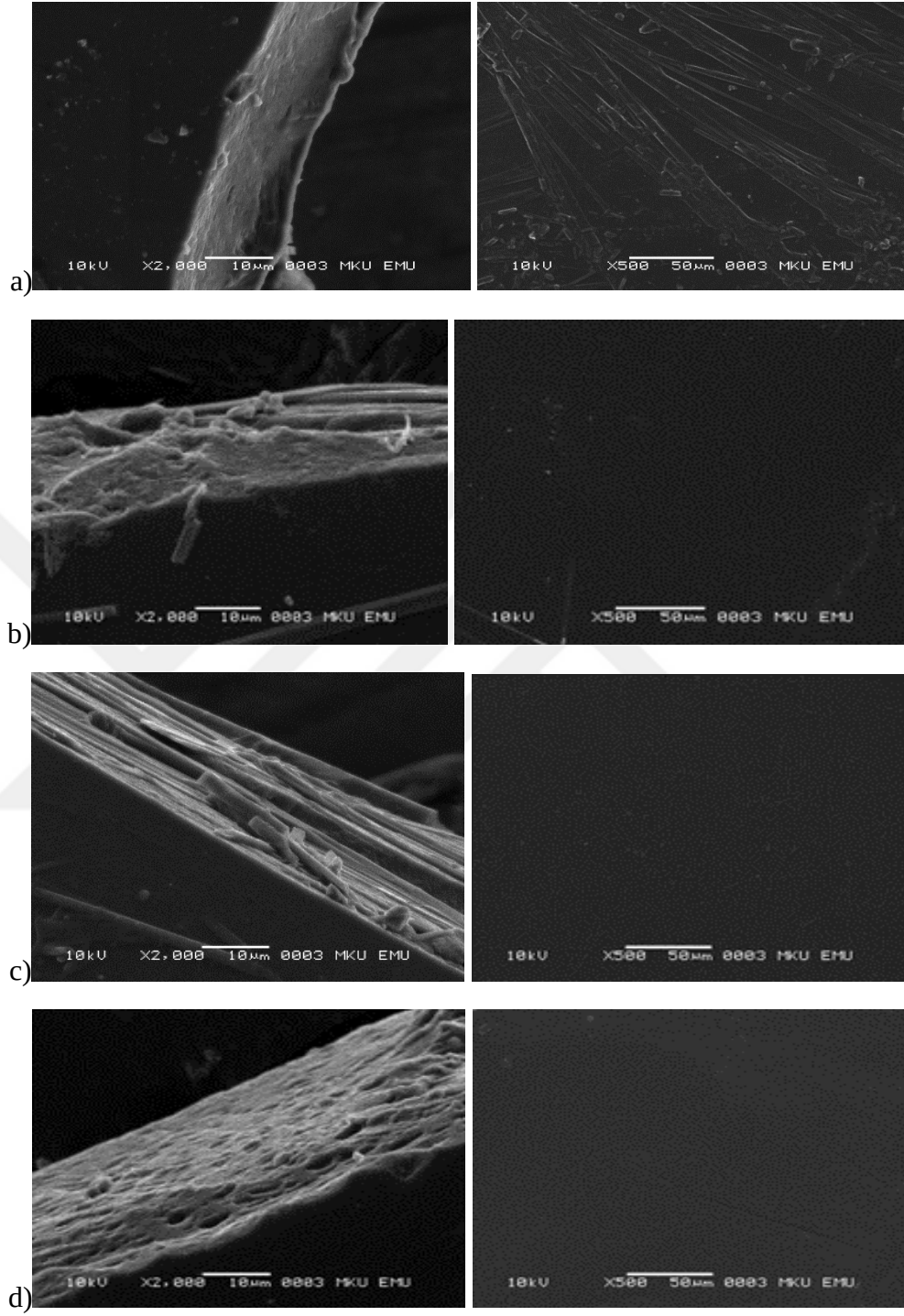
Yüzey



Şekil 4.2. Defne yağı içeren kitosan filmlerin filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri [500-2000X büyütme (yüzey- kesit)], a)kontrol, b) % 0.012 defne uçucu yağı, c) % 0.025 defne uçucu yağı ve d) %0.037 defne uçucu yağı

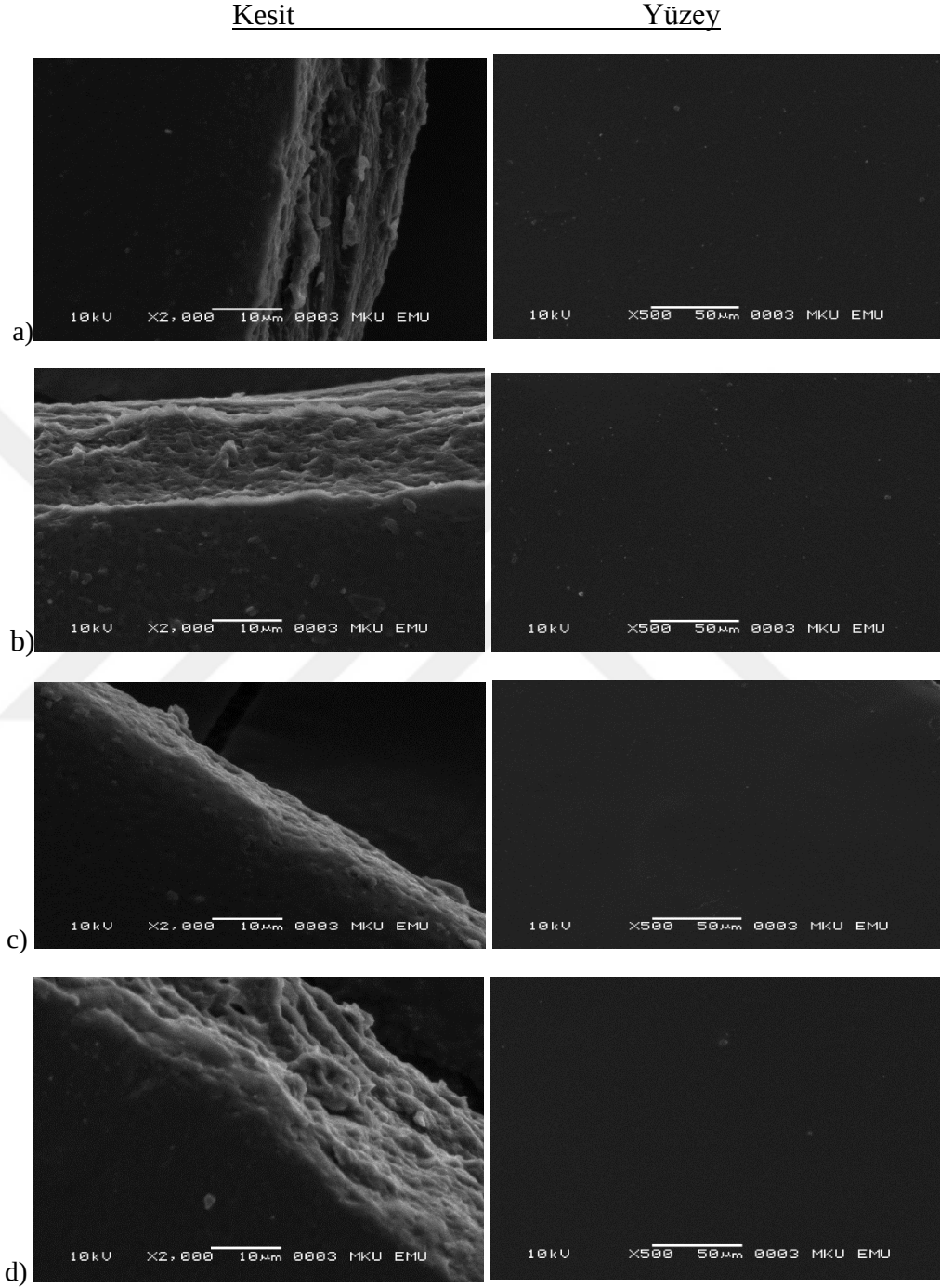
Kesit

Yüzey



Şekil 4.3. Kekik+defne yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri [500-2000X büyütme (yüzey- kesit)], a)kontrol, b) % 0.012 kekik+defne uçucu yağı, c) % 0.025 kekik+defne uçucu yağı ve d) %0.037 kekik+defne uçucu yağı

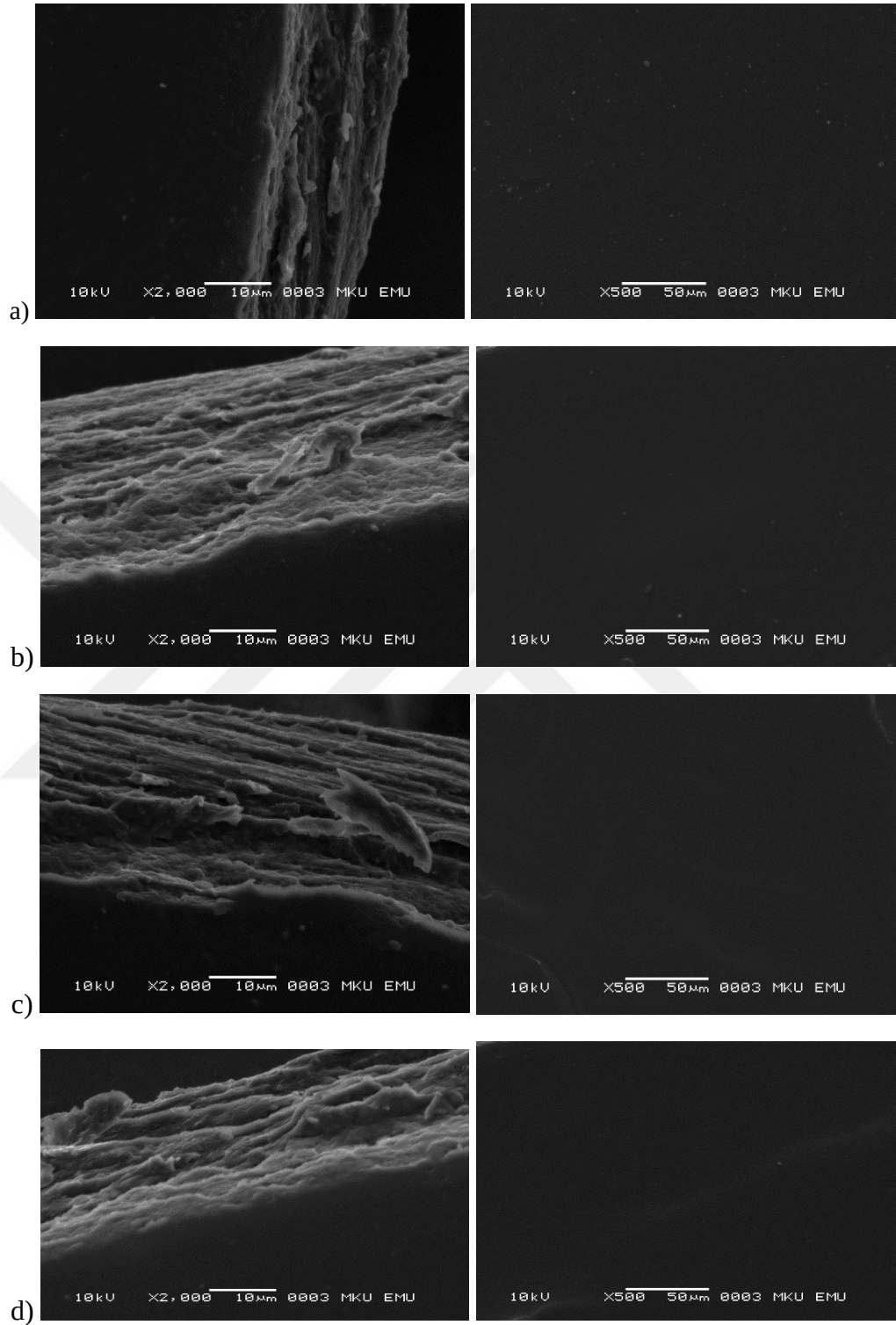
Kontrol (karboksimetil selüloz) ve farklı oranlarda uçucu yağ içeren yenilebilir karboksimetil selüloz filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6’de verilmiştir.



Şekil 4.4. Kekik yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri [500-2000X büyütme (yüzey- kesit)], a)kontrol, b) % 0.012 defne uçucu yağı, c) % 0.025 defne uçucu yağı ve d) %0.037 defne uçucu yağı

Kesit

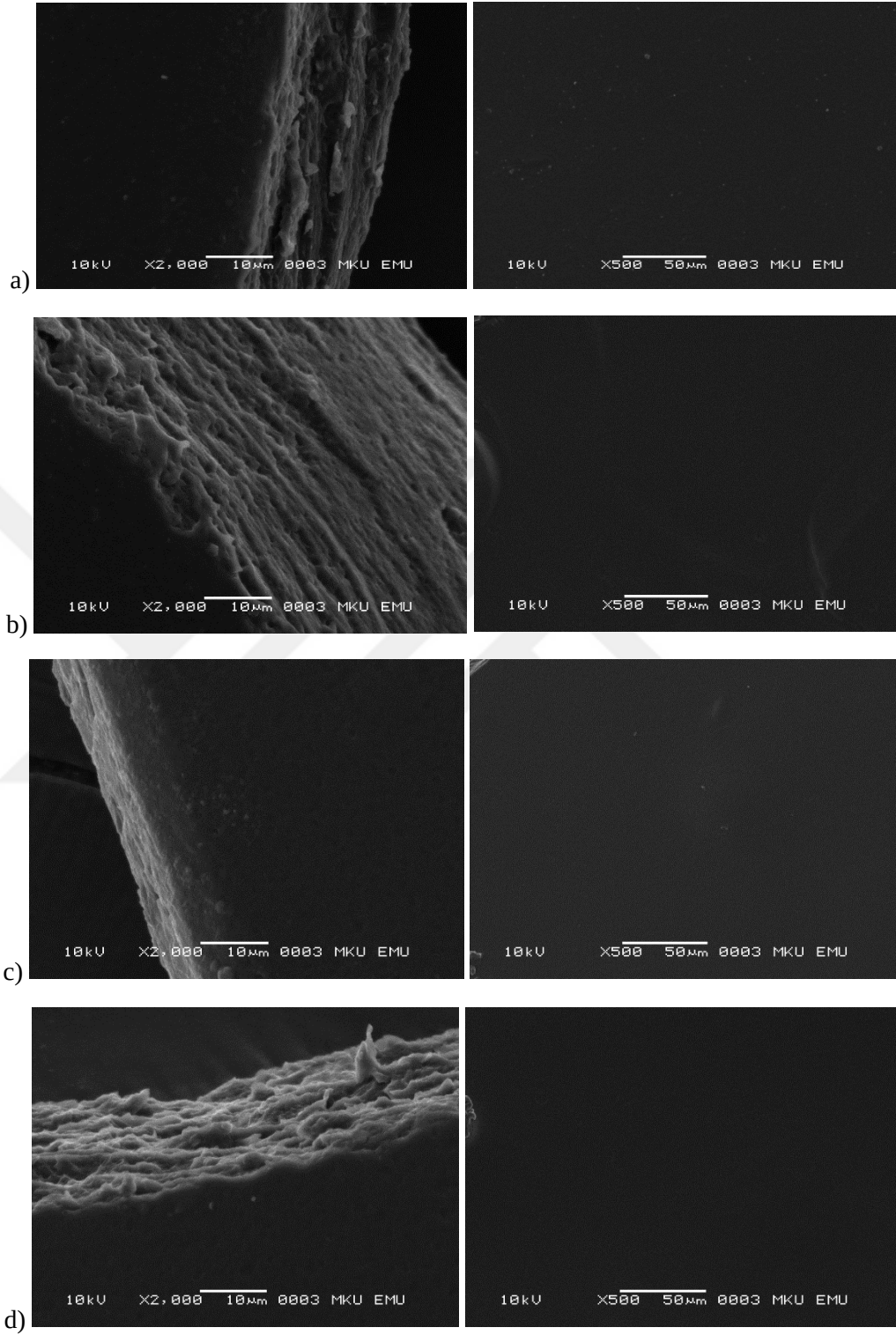
Yüzey



Şekil 4.5. Defne yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri [500-2000X büyütme (yüzey- kesit)], a)kontrol, b) % 0.012 defne uçucu yağı, c) % 0.025 defne uçucu yağı ve d) %0.037 defne uçucu yağı

Kesit

Yüzey



Şekil 4.6. Kekik+ Defne yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri [500-2000X büyütme (yüzey- kesit)], a)kontrol, b) % 0.012 defne uçucu yağı, c) % 0.025 defne uçucu yağı ve d) %0.037 defne uçucu yağı

Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerindeki, kekik yağı damlacıklarının defne yağına kıyasla daha düzenli bir dağılım gösterdiği gözlemlenmiştir. Araştırma sonucuna benzer olarak Söğüt ve ark. (2018), kekik uçucu yağı, üzüm çekirdeği yağı ve nar çekirdeği yağı içeren kitosan filmlerin taramalı elektron mikroskobu görüntülerini incelemiş ve kekik yağı içeren filmlerin üzüm çekirdeği yağı ve nar çekirdeği yağı içeren filmlerden daha yumuşak ve düzenli bir yapı oluşturduklarını bildirmişlerdir.

Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin de kullanılan tüm yağ miktarlarının kontrol grubuna kıyasla filmlerde daha homojen ve pürüzsüz yapılar elde edildiği tespit edilmiştir.

4.3. Yenilebilir Filmlerin Mekanik Özellikleri Analiz Sonuçları

Yenilebilir filmlerin mekanik özellikleri Çizelge 4.5 de verilmiştir. Kitosan filmlere eklenen kekik ve defne uçucu yağlarının kontrol grubuna göre filmlerin tekstür özelliklerini iyileştirdiği gözlemlenmiştir. En yüksek tekstür özelliğini 18.5 ± 1.08 değerini veren %0.037 kekik uçucu yağı içeren filmler göstermiştir. Kontrol örneğine kıyasla kekik, defne uçucu yağlarını (kekik+defne daha düşük oranda) içeren örneklerin filmlerin tekstürü üzerine ($P < 0.05$) önemli düzeyde bir farklılık saptanmıştır. Uçucu yağların eklenmesi ile elde edilen filmlerin kontrol grubuna kıyasla kırılabilirlik özelliği üzerine önemli düzeyde ($P > 0.05$) bir farklılığı saptanmamıştır. Benzer sonuçlar, Angela ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada, kekik ve fesleğen yağı içeren kitosan filmlerin kontrol grubuna kıyasla ($P < 0.05$) tekstür özelliklerini iyileştirdiğini belirtmişlerdir.

Kitosan filmlerde olduğu gibi, karboksimetil selüloz filmlere de ilave edilen kekik ve defne uçucu yağlarının kontrol grubuna göre filmlerin tekstür özelliklerini iyileştirdiği saptanmıştır. Karboksimetil selüloz filmlerde en yüksek tekstür özelliğini 37 ± 1.4 değerini veren %0.012 kekik yağı içeren filmler olmuştur. Kontrol grubuna kıyasla, kekik, defne, kekik+defne uçucu yağlarının filmlerin tekstür özellikleri üzerinde ($p < 0.05$) önemli düzeyde bir farklılık saptanmıştır. Ancak kitosan filmlerde görüldüğü üzere uçucu yağların kullanıldığı filmlerin kontrol grubuna kıyasla kırılabilirlik özelliği üzerine önemli düzeyde ($P > 0.05$) bir farklılığı saptanmamıştır. Araştırma sonuçlarına benzer olarak, Caio ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada kekik ve karanfil uçucu yağı eklenen

karboksümetil selüloz filmlerin kontrol grubuna kıyasla ($p<0.05$) tesktür özelliklerini iyileştirdiğini belirtmişlerdir.

Araştırmada ayrıca, karboksümetil selüloz filmlerin, kitosan filmlere göre daha yüksek tekstür ölçüm sonuçları belirlenmiştir. Karboksümetil selüloz filmlerin, kitosan filmlere göre daha sağlam yapı oluşturduğu tespit edilmiştir. Yenilebilir film üretiminde kitosan ve karboksümetil selüloz kullanımı filmlerin tekstürü üzerinde %1 önem düzeyinde etkisi olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.5. Yenilebilir filmlerin tekstür özellikleri analiz sonuçları

		Tekstür		Kırılganlık	
		Kitosan	Karboksümetil selüloz	Kitosan	Karboksümetil selüloz
Kont.		16.83±1.02 ^c	26.83±0.80 ^c	10.16±0.24	10.83±0.20
Kekik	%0.012	18.00±0.00 ^a	37.00±1.40 ^a	10.66±0.47	11.00±0.71
Kekik	%0.025	17.83±0.23 ^{ab}	34.66±2.50 ^{ab}	10.66±0.24	10.50±0.71
Kekik	%0.037	18.50±1.08 ^a	35.83±2.09 ^a	10.83±0.24	12.16±1.31
Defne	%0.012	17.16±1.02 ^{bc}	30.00±3.62 ^{bc}	10.50±0.82	10.50±0.41
Defne	%0.025	18.16±0.62 ^{ab}	33.33±2.89 ^{ab}	10.83±0.85	10.50±0.82
Defne	%0.037	18.00±0.70 ^{ab}	34.00±3.08 ^{ab}	10.83±0.62	11.33±0.85
Kekik+Defne	%0.012	16.83±0.62 ^{abc}	32.00±2.82 ^{abc}	10.66±0.24	10.66±0.24
Kekik+Defne	%0.025	16.83±0.85 ^{ab}	34.00±1.63 ^{ab}	10.00±0.41	11.16±0.85
Kekik+Defne	%0.037	16.66±1.02 ^{ab}	35.66±2.32 ^{ab}	10.33±0.24	11.66±0.85

^{a,b,c} : Aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir (Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak $P\leq 0.05$ düzeyinde önemlidir).

4.4. Yenilebilir Filmlerin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

4.4.1. Agar Difüzyon Yöntemi Analiz Sonuçları

Kitosan filmlerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla zon çapı ölçüm sonuçları Çizelge 4.6 ve Şekil 4.7’ de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre hem kontrol örneğinde hem de kekik ve defne uçucu yağ katkısı kullanılan yenilebilir kitosan filmlerinde, araştırmada kullanılan bakteriler üzerinde düşük düzeyde antimikrobiyal etki saptanmıştır. Yenilebilir kitosan filmlerinde kekik ve defne uçucu yağ katkısı kullanımında, filmlerin antimikrobiyal etki düzeyini çok fazla yükseltmediği saptanmıştır. Kekik ve defne uçucu yağların birlikte kullanımında (%0.037) diğer örneklerle göre daha yüksek antimikrobiyal etki belirlenmiştir. En yüksek antimikrobiyal etki 1.26 ± 0.12 zon çapı ile *R. equi*'de saptanmıştır. Kekik (%0.012) içeren yenilebilir filmler *L. innocua* ve *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal etki düzeyi, kekik (%0.025) içeren yenilebilir filmler, *S. Typhimurium*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes* üzerindeki antimikrobiyal etki düzeyi, defne (%0.012) içeren yenilebilir filmler *S. Typhimurium*, *L.monocytogenes*, *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal etki düzeyi, defne (%0.037) içeren yenilebilir filmler *L. innocua* üzerindeki antimikrobiyal etki düzeyi, kekik+defne (%0.025) içeren yenilebilir filmler *S. Typhimurium* üzerindeki antimikrobiyal etki düzeyi, Kekik+defne (%0.037) içeren yenilebilir filmler *S. Typhimurium* ve *L.monocytogenes* üzerindeki antimikrobiyal etki düzeyi kontrol örneği ile aynı etkiyi gösterdiği saptanmıştır.

İstatistik analiz sonucunda uçucu yağ kullanımının kitosan yenilebilir filmlerin antimikrobiyal etkinliği üzerinde %5 yanılma düzeyinde ($p \leq 0.05$) önemli olarak saptanmıştır.

Pranoto ve ark (2005) agar difüzyon metodunda kitosan filmlerinin *L. monocytogenes* ve *B. cereus*'un gelişimine yalnızca filmlerin agar ile temas ettiği bölgede engel olduğunu ve kitosanın agara difüze olamaması nedeniyle kitosan filmlerinin inhibisyon zonu oluşturmadığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Coma ve ark (2002) kitosan filmlerinin *Listeria* türleri ile inokule edilmiş agarlı besiyerlerinde inhibisyon zonu oluşturmadığını bildirmişlerdir. Bu literatürde belirtilen bulgular araştırma sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

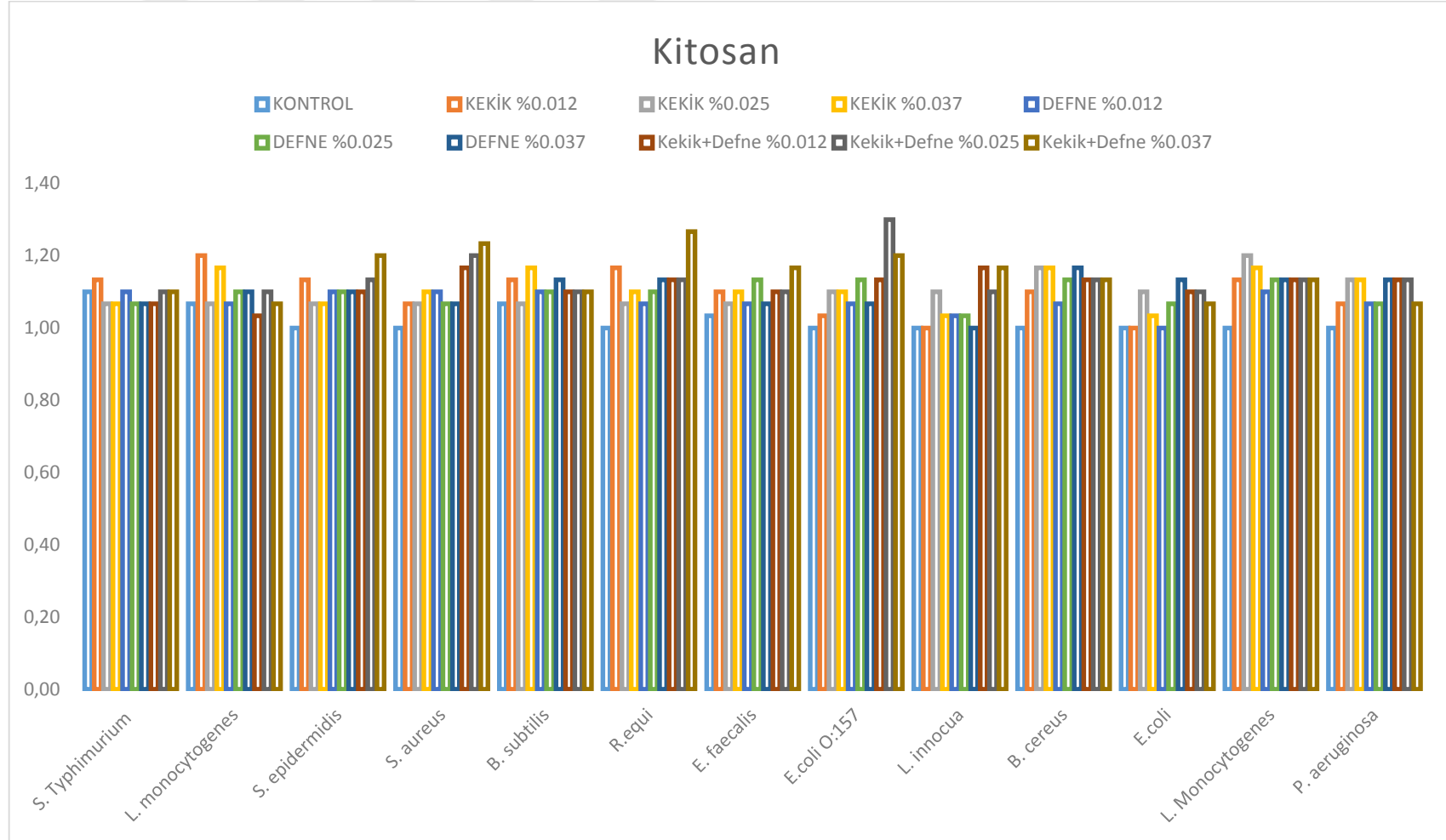
Zivanovic ve ark., tarafından yürütülen çalışmada anason, fesleğen, kişniş, kekik gibi uçucu yağların antibakteriyal aktivitesi araştırılmış ve kekik ile zenginleştirilmiş kitosan filmlerin *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktiviteleri belirlenmiştir. Uçucu yağların, tek başlarına ve film içerisinde kullanıldıklarında aynı antimikrobiyel aktiviteyi gösterdiklerini belirtmişlerdir..

Çizelge 4.6. Kitosan Filmlerin Zon Çapı Ölçüm Sonuçları

	Kontrol	Kekik %0.012	Kekik %0.025	Kekik %0.037	Defne %0.012	Defne %0.025	Defne %0.037	Kekik+Defne %0.012	Kekik+Defne %0.025	Kekik+Defne %0.037
<i>S. Typhimurium</i>	1.1±0.1 ^{cCD}	1.13±0.1 ^{abCD}	1.06±0.1 ^{abcCD}	1.06±0.1 ^{abcCD}	1.1±0.1 ^{abcCD}	1.06±0.1 ^{CD}	1.06±0.1 ^{CD}	1.06±0.1 ^{abc}	1.1±0.1 ^{cbCD}	1.1±0.1 ^{aCD}
<i>L.monocytogenes</i>	1.06±0.1 ^{cAB}	1.2±0.1 ^{abAB}	1.06±0.1 ^{abcAB}	1.16±0.2 ^{abcAB}	1.06±0.1 ^{abcAB}	1.1±0.1 ^{abAB}	1.1±0.1 ^{abAB}	1.03±0.1 ^{abcAB}	1.1±0.1 ^{cbAB}	1.06±0.1 ^{aAB}
<i>S. epidermidis</i>	1.0±0.0 ^{cAB}	1.13±0.1 ^{abAB}	1.06±0.1 ^{abcAB}	1.06±0.1 ^{abcAB}	1.1±0.1 ^{abcAB}	1.1±0.1 ^{abAB}	1.1±0.1 ^{abAB}	1.1±0.1 ^{abcAB}	1.13±0.1 ^{cbAB}	1.2±0.2 ^{aAB}
<i>S. aureus</i>	1.0±0.0 ^{cAB}	1.06±0.1 ^{abAB}	1.06±0.1 ^{abcAB}	1.1±0.0 ^{abcAB}	1.1±0.1 ^{abcAB}	1.06±0.1 ^{abAB}	1.06±0.1 ^{abAB}	1.16±0.1 ^{abcAB}	1.2±0.1 ^{cbAB}	1.23±0.1 ^{aAB}
<i>B. subtilis</i>	1.06±0.1 ^{cAB}	1.13±0.1 ^{abAB}	1.06±0.1 ^{abcAB}	1.16±0.1 ^{abcAB}	1.1±0.0 ^{abcAB}	1.1±0.0 ^{abAB}	1.13±0.1 ^{abAB}	1.1±0.0 ^{abcAB}	1.1±0.0 ^{cbAB}	1.1±0.0 ^{aAB}
<i>R. equi</i>	1.0±0.0 ^{cBCD}	1.16±0.1 ^{abBCD}	1.06±0.1 ^{abcBCD}	1.1±0.0 ^{abcBCD}	1.06±0.1 ^{abcBCD}	1.1±0.0 ^{abBCD}	1.13±0.1 ^{abBCD}	1.13±0.1 ^{abcBCD}	1.13±0.1 ^{cbBCD}	1.26±0.1 ^{aBCD}
<i>E. faecalis</i>	1.03±0.0 ^{cA}	1.1±0.1 ^{abA}	1.06±0.1 ^{abcA}	1.1±0.1 ^{abcA}	1.06±0.1 ^{abcA}	1.13±0.1 ^{abA}	1.06±0.1 ^{abA}	1.1±0.1 ^{abcA}	1.1±0.1 ^{cbA}	1.16±0.1 ^{aA}
<i>E. coli O:157</i>	1.0±0.0 ^{cABC}	1.03±0.4 ^{abABC}	1.1±0.1 ^{abcABC}	1.1±0.1 ^{abcABC}	1.06±0.1 ^{abcABC}	1.13±0.1 ^{abABC}	1.06±0.1 ^{abABC}	1.13±0.1 ^{abcABC}	1.3±0.2 ^{cbABC}	1.2±0.1 ^{aABC}
<i>L. innocua</i>	1.0±0.0 ^{cABC}	1±0.0 ^{abABC}	1.1±0.1 ^{abcABC}	1.03±0.1 ^{abcABC}	1.03±0.1 ^{abcABC}	1.03±0.1 ^{abABC}	1±0.0 ^{abABC}	1.16±0.1 ^{abcABC}	1.1±0.1 ^{cbABC}	1.16±0.1 ^{aABC}
<i>B. cereus</i>	1.0±0.0 ^{cCD}	1.1±0.0 ^{abCD}	1.16±0.1 ^{abcCD}	1.16±0.1 ^{abcCD}	1.06±0.1 ^{abcCD}	1.13±0.1 ^{abCD}	1.16±0.1 ^{abCD}	1.13±0.1 ^{abcCD}	1.13±0.1 ^{cbCD}	1.13±0.1 ^{aCD}
<i>E. coli</i>	1.0±0.0 ^{cCD}	1±0.0 ^{abCD}	1.1±0.1 ^{abcCD}	1.03±0.1 ^{abcCD}	1±0.0 ^{abcCD}	1.06±0.1 ^{CD}	1.13±0.1 ^{CD}	1.1±0.1 ^{abcCD}	1.1±0.1 ^{cbCD}	1.06±0.1 ^{aCD}
<i>P. aeruginosa</i>	1.0±0.0 ^{cD}	1.06±0.1 ^{abD}	1.13±0.1 ^{abcD}	1.13±0.1 ^{abcD}	1.06±0.1 ^{abcD}	1.06±0.1 ^D	1.13±0.1 ^D	1.13±0.1 ^{abcD}	1.13±0.1 ^{cbD}	1.06±0.1 ^{aD}

^{a,b,c} : Aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir (Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir).

^{A,B,C}: Aynı satırdaki örnekler arası farklılığı göstermektedir (Aynı satırda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak $P \leq 0.01$ düzeyinde önemlidir).



Şekil 4.7. Kitosan Film Zon Çapı Grafiği

Farklı oranlarda uçucu yağ içeren karboksimetil selüloz filmlerin antimikrobiyal zon çapı ölçüm sonuçları Çizelge 4.7 ve Şekil 4.8’ de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre karboksimetil selüloz fimlerin kontrol grupları da dahil olmak üzere tüm bakteriler üzerinde inhibe edici özelliğinin olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubu en düşük zon çapını 1.46 ± 0.04 cm ile *E. coli* bakterisine, en yüksek zon çapını ise 2.2 ± 0.21 cm ile *S. epidermidis* bakterisinde göstermiştir. En yüksek zon çapı 2.36 ± 0.33 cm ile *S. aureus* bakterisine karşı %0.037 oranında kekik+defne yağı içeren film olmuştur. En düşük zon çapı ise 1.33 ± 0.12 cm ile *P. aeruginosa* bakterisine karşı %0.025 kekik+defne yağı içeren filmler göstermiştir. *B. cereus* bakterisin kekik (%0.025 - %0.037) ve defne (%0.025) filmlerin antimikrobiyal etki düzeyi kontrol örneği ile aynıdır. *S. epidermidis* bakterisine karşı en yüksek antimikrobiyal etkiyi kontrol grubunun gösterdiği belirlenmiştir. *L.monocytogenes* ve *P. aeruginosa* bakterine karşı kekik+defne yağlarının birlikte kullanımı antimikrobiyal etkiyi düşürdüğü belirlenmiştir.

Lee ve ark. (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada hidroksipropil metilselüloz/kekik uçucu yağ kompozit filmlerin antibakteriyel özelliklerinin *S. aureus*, *B. cereus* ve *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. Typhimurium*, *P. aeruginosa* ve *V. parahaemolyticus*’a karşı disk difüzyon yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Yağ içeğirinin artması ile tüm suşlara karşı antimikrobiyal özelliğın artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Kekik yağı içeren filmler özellikle *S. Typhimurium*’a karşı önemli antibakteriyel aktivite göstermiş ve 20.0 ila 45.7mm arasında çaplar saptadıklarını belirtmişlerdir.

Yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz film örneklerinin, araştırmada kullanılan bakteriler üzerinde farklı düzeyde antimikrobiyal etkisi tespit edilmiştir. Karboksimetil selüloz filmler, kitosan filmlere göre daha yüksek antibakteriyel etkisi tespit edilmiştir. Yenilebilir filmlerin bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkinliği %1 yanılma düzeyinde ($p \leq 0.01$) önemli olarak saptanmıştır.

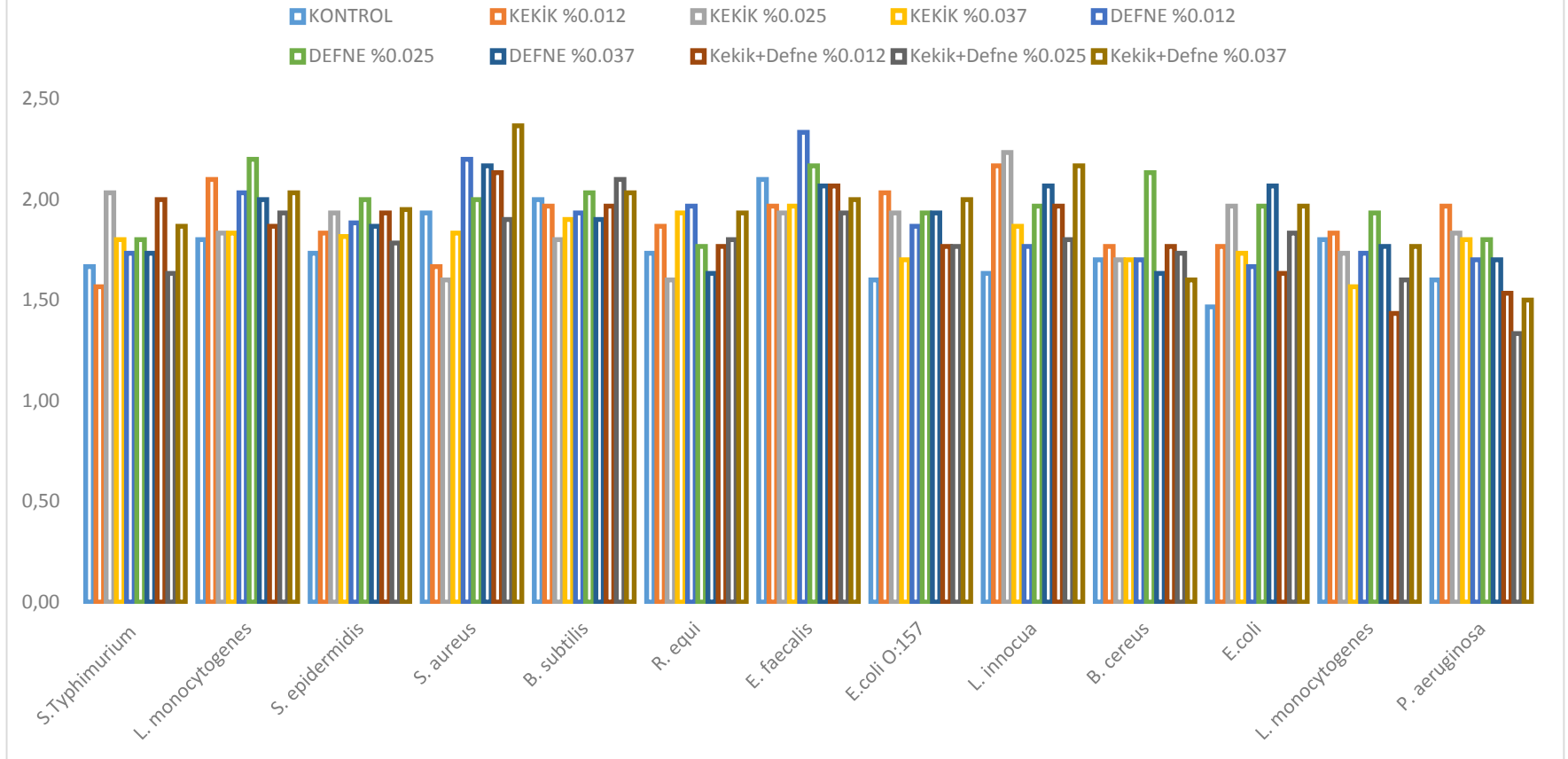
Çizelge 4.7. Karboksimetil Selüloz Filmlerin Zon Çapı Ölçüm Sonuçları

	Kontrol	Kekik %0.012	Kekik %0.025	Kekik %0.037	Defne %0.012	Defne %0.025	Defne %0.037	Kekik+Defn e %0.012	Kekik+Def ne %0.025	Kekik+Def ne %0.037
<i>S. Typhimurium</i>	1.66±0.1 ^{cC} _D	1.56±0.1 ^{abC} _D	2.03±0.3 ^{abcC} _D	1.8±0.2 ^{abcCD}	1.73±0.2 ^{abcC} _D	1.8±0.2 ^{abCD}	1.73±0.1 ^{abC} _D	2±0.3 ^{abcCD}	1.63±0.1 ^{cbC} _D	1.86±0.2 ^{aCD}
<i>L.monocytogenes</i>	1.8±0.0 ^{cAB}	2.1±0.3 ^{abAB}	1.83±0.7 ^{abcA} _B	1.83±0.2 ^{abcA} _B	2.03±0.1 ^{abA} _B	2.2±0.6 ^{abAB}	2±0.5 ^{abAB}	1.86±0.2 ^{abcA} _B	1.93±0.2 ^{cbA} _B	2.03±0.4 ^{aAB}
<i>S. epidermidis</i>	2.2±0.2 ^{cAB}	1.96±0.2 ^{abA} _B	1.96±0.4 ^{abcA} _B	2.13±0.1 ^{abcA} _B	1.93±0.2 ^{abcA} _B	2.03±0.3 ^{abA} _B	1.86±0.2 ^{abA} _B	1.8±0.2 ^{abcAB}	1.7±0.3 ^{bcAB}	2.03±0.3 ^{Aab}
<i>S. aureus</i>	1.93±0.3 ^{cA} _B	1.6±0.3 ^{abAB}	1.6±0.3 ^{abcAB}	1.83±0.2 ^{abcA} _B	2.2±0.1 ^{abcAB}	2±0.2 ^{abAB}	2.16±0.2 ^{abA} _B	2.13±0.1 ^{abcA} _B	1.9±0.1 ^{cbAB}	2.36±0.3 ^{aAB}
<i>B. subtilis</i>	2±0.3 ^{cAB}	1.96±0.2 ^{abA} _B	1.8±0.4 ^{abcAB}	1.9±0.3 ^{abcAB}	1.93±0.1 ^{abA} _B	2.03±0.2 ^{abA} _B	1.9±0.3 ^{abAB}	1.96±0.4 ^{abcA} _B	2.1±0.3 ^{cbAB}	2.03±0.2 ^{aAB}
<i>R. equi</i>	1.73±0.2 ^{cB} _{CD}	1.86±0.2 ^{abB} _{CD}	1.6±0.1 ^{abcBC} _D	1.93±0.3 ^{abcB} _{CD}	1.96±0.3 ^{abcB} _{CD}	1.76±0.3 ^{abB} _{CD}	1.63±0.2 ^{abB} _{CD}	1.76±0.3 ^{abcB} _{CD}	1.8±0.2 ^{cbBC} _D	1.93±0.2 ^{aBC} _D
<i>E. faecalis</i>	2.1±0.2 ^{cA}	1.96±0.1 ^{abA}	1.93±0.1 ^{abcA}	1.96±0.3 ^{abcA}	2.33±0.2 ^{abcA}	2.16±0.4 ^{abA}	2.06±0.2 ^{abA}	2.06±0.2 ^{abcA}	1.93±0.1 ^{cbA}	2±0.2 ^{aA}
<i>E.coli O:157</i>	1.6±0.0 ^{cAB} _C	2.03±0.1 ^{abA} _{BC}	1.93±0.2 ^{abcA} _{BC}	1.7±0.1 ^{abcAB} _C	1.86±0.3 ^{abcA} _{BC}	1.93±0.2 ^{abA} _{BC}	1.93±0.3 ^{abA} _{BC}	1.76±0.2 ^{abcA} _{BC}	1.76±0.2 ^{cbA} _{BC}	2±0.3 ^{aABC}
<i>L. innocua</i>	1.63±0.1 ^{cA} _{BC}	2.16±0.2 ^{abA} _{BC}	2.23±0.6 ^{abcA} _{BC}	1.86±0.4 ^{abcA} _{BC}	1.76±0.2 ^{abcA} _{BC}	1.96±0.4 ^{abA} _{BC}	2.06±0.3 ^{abA} _{BC}	1.96±0.3 ^{abcA} _{BC}	1.8±0.3 ^{cbAB} _C	2.16±0.3 ^{aAB} _C
<i>B. cereus</i>	1.7±0.1 ^{cCD}	1.76±0.1 ^{abC} _D	1.7±0.2 ^{abcCD}	1.7±0.2 ^{abcCD}	1.7±0.1 ^{abcCD}	2.13±0.3 ^{abC} _D	1.63±0.2 ^{abC} _D	1.76±0.2 ^{abcC} _D	1.73±0.2 ^{cbC} _D	1.6±0.1 ^{aCD}
<i>E.coli</i>	1.46±0.1 ^{cC} _D	1.76±0.2 ^{abC} _D	1.96±0.2 ^{abcC} _D	1.73±0.2 ^{abcC} _D	1.66±0.2 ^{abcC} _D	1.96±0.2 ^{abC} _D	2.06±0.3 ^{abC} _D	1.63±0.2 ^{abcC} _D	1.83±0.1 ^{cbC} _D	1.96±0.4 ^{aCD}
<i>P. aeruginosa</i>	1.6±0.2 ^{cD}	1.96±0.2 ^{abD}	1.83±0.2 ^{abcD}	1.8±0.2 ^{abcD}	1.7±0.2 ^{abcD}	1.8±0.2 ^{abD}	1.7±0.2 ^{abD}	1.53±0.2 ^{abcD}	1.33±0.1 ^{cbD}	1.5±0.1 ^{aD}

a,b,c : Aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir (Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir).

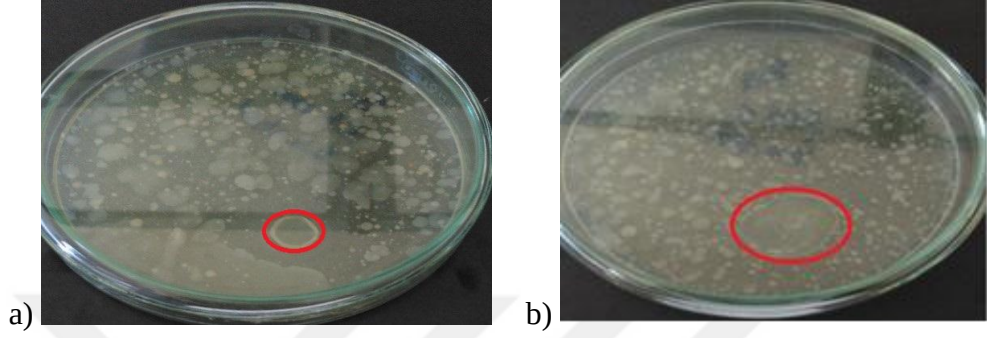
A,B,C: Aynı satırdaki örnekler arası farklılığı göstermektedir (Aynı satırda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak $P \leq 0.01$ düzeyinde önemlidir).

Karboksimetil selüloz

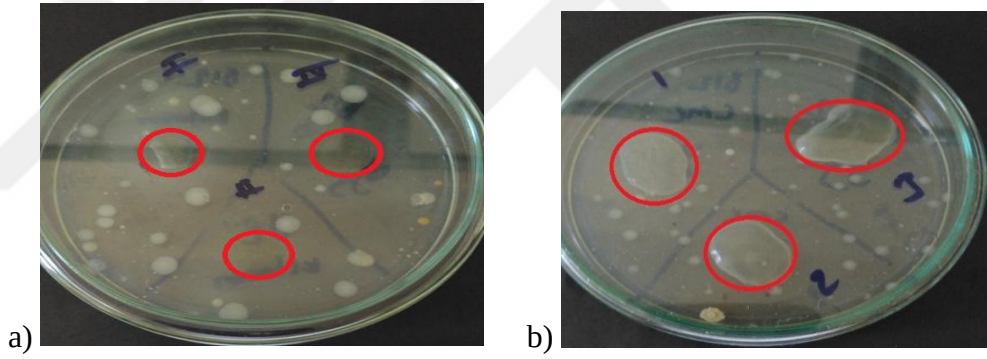


Şekil 4.8. Karboksimetil selüloz Film Zon Çapı Grafiği

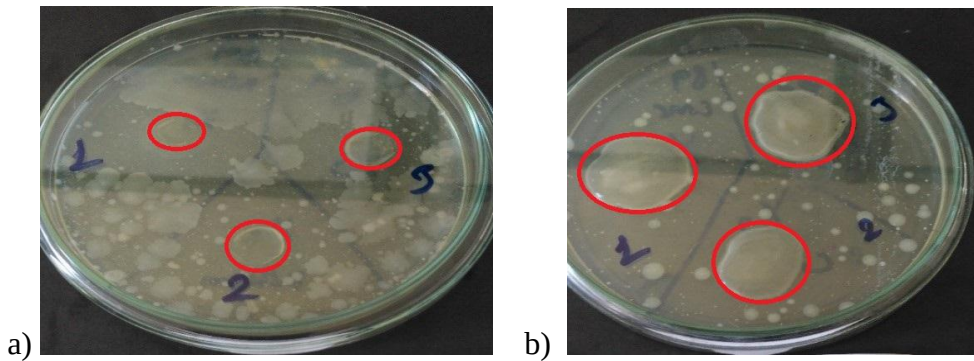
Şekil 4.9’da yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin agar difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal aktivitesi verilmiştir. Farklı uçucu yağ içeren yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin agar difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal aktivitesi Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12’de görülmektedir.



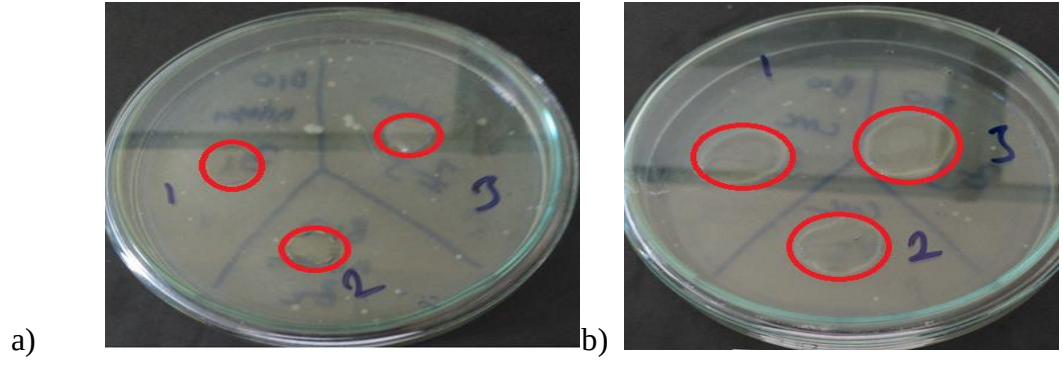
Şekil 4.9. Yenilebilir Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin (kontrol) antimikrobiyal aktivitesi a)kitosan, b)karboksimetil selüloz



Şekil 4.10. Kekik yağı içeren yenilebilir kitosan ve karboksimetil filmlerde antibakteriyal aktivitesi a)kitosan, b)karboksimetil selüloz



Şekil 4.11. Defne yağı içeren yenilebilir kitosan ve karboksimetil filmlerde antibakteriyal aktivitesi a) kitosan, b) karboksimetil selüloz



Şekil 4.12. Kekik+Defne yağı içeren yenilebilir kitosan ve karboksimetil filmlerde antibakteriyal aktivite a)kitosan, b)karboksimetil selüloz

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada kitosan ve karboksimetil selülozdan yenilebilir film üretilmiştir. Yenilebilir filmlerin antibakteriyel aktivitelerini iyileştirmek amacıyla kekik ve defne uçucu yağları bileşimde kullanılmıştır. Uçucu yağlar yenilebilir filmlerde, %0.012, %0.025 ve %0.037 oranlarında ilave edilmiştir. Elde edilen filmlerin karakteristik özelliklerini belirlemek amacıyla, film kalınlığı, rengi, mikro yapısal özelliği ve tekstür yapısı incelenmiştir. Elde edilen yenilebilir filmlerin, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Rhodococcus equi* *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* O:157, *Listeria innocua*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*'a karşı antibakteriyal aktivitesi araştırılmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre yenilebilir kitosan film örneklerinde, kalınlık analiz sonuçları 0.09 ± 0.009 mm ile 0.11 ± 0.017 mm arasında belirlenmiştir. Yenilebilir karboksimetil selüloz film örneklerinde ise kalınlık analiz sonuçları, 0.110 ± 0.009 mm ile 0.136 ± 0.023 mm aralığında saptanmıştır. Genel olarak uçucu yağ katkılı yenilebilir filmlerde kalınlık ölçüm sonuçları kontrole göre daha düşük olarak belirlenmiştir. Araştırmada ayrıca, karboksimetil selüloz filmlerin, kitosan filmlere göre daha yüksek kalınlık ölçüm sonuçları belirlenmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin kontrol gruplarının L^* (parlaklık) değerleri sırasıyla $21,52 \pm 21,41$, $22,03 \pm 22,01$ olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla en düşük L^* değeri her iki parametre içinde 25 µl kekik içeren kitosan filmlerde ölçülmüştür. En yüksek parlaklık değerini 50 µl defne*kekik içeren filmler göstermiştir. Uçucu yağ oranlarındaki değişim kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin L^* değerlerinde istatistiksel olarak minimal bir farklılık göstermiştir. Karboksimetil selüloz filmlerin L^* (parlaklık) değerleri kitosan filmlere oranla daha yüksek olarak belirlenmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre a^* (kırmızılık) değerinin kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin her iki analiz parametresi içinde eksi (yeşillik) olarak gözlemlenmiş ve her iki yenilebilir film arasında minimal düzeyde saptanmıştır. Defne ve kekik uçucu yağ ilavesi yenilebilir kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin a^* (kırmızılık) değerleri üzerinde etkili düzeyde değişikliğe neden olmamıştır.

Çalışma sonuçlarına göre kitosan filmlerin kontrol gruplarının b*(sarılık) değerleri sırasıyla her iki parametre için ; $-0,53 \pm 0,39$ olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre Cmc filmlerin kontrol gruplarının b* değeri $2,1 \pm 2,12$ olarak tespit edilmiştir. *(sarılık) değerleri ise kitosan filmlerin kontrol grubunun eksi (mavi), karboksimetil selüloz filmlerin ise pozitif (sarı) çıktığı gözlemlenmiştir. Uçucu yağ oranlarındaki değişim hem kitosan ve hem de karboksimetil selüloz filmlerin b* değerlerinde kalorimeter parametresi için ($p \leq 0.05$) önem düzeyinde etkisi saptanmıştır. Ancak uçucu yağ oranlarındaki değişim kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin b* değerlerinde Daylight parametresi için ($p \geq 0.05$) önem düzeyinde farklılık saptanmamıştır.

Kitosan filmlere eklenen kekik ve defne yağlarının kontrol grubuna göre filmlerin tekstür özelliklerini iyileştirdiği gözlemlenmiştir. Ancak defne+kekik uçucu yağı eklenen filmlerin kontrol grubuna kıyasla tekstür üzerine dikkate alınacak bir değişiklik sağlamadığı gözlemlenmiştir. Uçucu yağların eklenmesi kırılmalık özelliğini üzerine etkisi yok denilecek kadar az olduğu gözlemlenmiştir.

Üretimi gerçekleştirilen kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin SEM görüntülerinde dikkate çekici farklılıklar gözlemlenmiştir. Karboksimetil selüloz filmler daha düzenli ve kristalli bölgelerin varlığından dolayı heterojen şekilde kırılmış bir yüzey sunmuştur. Kitosan filmler ise daha yumuşak bir görünüm sergilese de, filmlerin üstünde ve kesit alanlarında kristal bölgelerin varlığı gözlemlenmiştir. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin de kekik yağı damlacıklarının defne yağına kıyasla daha düzenli bir dağılım gösterdiği gözlemlenmiştir. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlerin de kullanılan tüm yağ miktarlarının kontrol grubuna kıyasla filmlerde daha homojen ve pürüzsüz yapılar elde edildiği gözlemlenmiştir.

Araştırmada yenilebilir filmlerin tekstür özelliklerinin incelenmesi sonucunda, karboksimetil selüloz filmlerin daha yüksek tekstür ölçüm sonuçları elde edilmesi ile daha sağlam yağı oluşturduğu belirlenmiştir. Kitosan ve karboksimetil selüloz filmlere eklenen kekik ve defne uçucu yağlarının kontrol grubuna göre filmlerin tekstür özelliklerini iyileştirdiği saptanmıştır. Ancak her iki yenilebilir filmlerin kırılmalık özelliğinde minümün düzeyde farklılık saptanmış ayrıca uçucu yağ ilavesi kırılmalık özelliğini iyileştirmemiştir.

Araştırma sonuçlarına göre hem kontrol örneğinde hem de kekik ve defne uçucu yağ katkısı kullanılan yenilebilir kitosan filmlerinde, araştırmada kullanılan bakteriler üzerinde düşük düzeyde antimikrobiyal etki saptanmıştır. Kekik ve defne uçucu yağların birlikte kullanımında (%0.037) diğer örneklerle göre daha yüksek antimikrobiyal etki belirlenmiştir. En yüksek antimikrobiyal etki 1.26 ± 0.12 zon çapı ile *R. equi*'de saptanmıştır.

Kontrol grubu olarak uçucu yağ içermeyen ve farklı oranlarda uçucu yağlar içeren karboksimetil selüloz filmlerin bakteriler üzerindeki antimikrobiyal zon çapları verilmiştir. Kontrol grubunun en düşük zon çapını 1.46 cm ile *E.coli* bakterisine göstermiştir. En yüksek zon çapını ise 2.2 cm ile *S. epidermidis* bakterisinde göstermiştir. En geniş zon çapı *S. aureus* bakterisine karşı %0.037 oranında kekik+defne yağı içeren film olmuştur. En düşük zon çaplarının görüldüğü örnek ise *P. aeruginosa* bakterisine karşı kekik+defne yağı içeren filmler göstermiştir.

Karboksimetil selüloz filmler, kitosan filmlere göre daha yüksek antibakteriyel etkisi tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., and Agustini, T.W. (2012). Physio-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids** 28, 1, 189-199.
- Akbaba, G., (2006). Yenilebilir ambalajlar, **Bilim ve Teknik Dergisi**, 30-32.
- Akgül, A., (1993) Baharat Bilimi ve Teknolojisi. **Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları**. Yayın no: 15 Ankara. 451s.
- Ali, A., Chen, Y., Liu, H., Yu, U., Baloch, Z., Khalid, S., Chen, J.Z.L., 2019. **International Journal of Biological Macromolecules Volume** 129, 15 May 2019, Pages 1120-1126
- Artiga-Artigas, M., Acevedo-Fani, A., Martín-Belloso, O., “Improving the shelf life of low-fat cut cheese using nanoemulsion based edible coatings containing oregano essential oil and mandarin fiber”, **Food Control**, 2017, 76:1-12.
- Ayana, B. ve Turhan, K.N. 2009 Gıda Ambalajlamasında Antimikrobiyel Madde İçeren Yenilebilir Filmler/ Kaplamalar Ve Uygulamaları GIDA (2010) 35 (2): 151-158
- Ayana, B. ve Turhan, K.N., 2009. Use of Antimicrobial Methylcellulose Films to Control *S. aureus* During Storage Of Kasar Cheese. **Packag Technol Sci**, (inpress)
- Ayana, B., 2007. Antimikrobiyel Yenilebilir Filmlerin Üretimi ve Özelliklerinin Belirlenmesi Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**, Yüksek Lisans Tezi, 60s. Mersin.
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., Karadoğan, T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. **Food Control**. 2004;15:169-72.
- Beverly, R.L., Janes, M.E., Prinyawiwatkula, W., No, H.K., 2008. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. **Food Microbiology** 25(3): 534- 537.
- Bonilla, J. and Paulo, J.A. Sobral Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts. **Food Bioscience** Volume 16, 1 December 2016, Pages 17-25
- Brody, A.L., 2005. Active packaging becomes more active. **Food Technol**. 59: 82-84.
- Caio, G., Otoni Silvanio, F., Pontes, E.O., Medeiros Nilda, A. A. , F. F., 2014. Soares Edible Films from Methylcellulose and Nanoemulsions of Clove Bud (*Syzygium aromaticum*) and Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oils as Shelf Life Extenders for Sliced Bread **J. Agric. Food Chem.** 2014 62 225214-5219 May 12, 2014 American Chemical Society
- Can, Ö.P. ve Patır, B., 2012. Kitosan kaplamanın gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W1792) filetolarının raf ömrü üzerine etkisi. **Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi** 42(4):148-154.
- Candan, T. ve Bağdatlı, A. El-Cezeri **Journal of Science and Engineering** Vol: 5, No: 2, 2018 (645-655)
- Caner, C. ve Küçük M., 2004. Yenilebilir Film ve Kaplamalar: Gıdalara Uygulanabilirliği. **Gıda Mühendisliği ve Gıda Sanayi Dergisi**, 2 (8): 30-35.
- Cha, D.S. and Chinnan, M.S., 2004. Biopolymer based anti-microbial packaging: A review. **Food Sci Nutr**. 44: 223-237.

- Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., Deschamps, A., 2002. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. **J Food Sci**, 67: 1162-1169.
- Costa, M.J., Maciel, L.C., Teixeira, J.A., Vicente, A.A., Cerqueira, M.A., "Use of edible films and coatings in cheese preservation: Opportunities and challenges", **Food Research International**, 2018, 107:84-92.
- Çağrı, A., Üstünol, Z., Ryser, E.T., 2002. Inhibition of three pathogens on Bologna and summer sausage using antimicrobial edible films. **J Food Sci**, 67 (6): 2317-2324.
- Çon, A.H., Ayar, A. ve Gökalp, H.Y. (1998) Bazı Baharat Uçucu Yağların Çeşitli Bakterilere Karşı Antimikrobiyal Etkisi. **Gıda**. 23(3), 171-175.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., Voilley, A., 1998. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review, **Critical Reviews in Food Science**, 38(4): 299-313. doi: 10.1080/10408699891274219.
- Delikanlı, B. ve Özcan, T. U. Ü. **Ziraat Fakültesi Dergisi**, 2014, Cilt 28, Sayı 2, 59-70
- Demir.A., Seventekin, N., (2009). Kitin, Kitosan ve Genel Kullanım Alanları. **Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi** C i l t : 3, No: 2, 2009 (92-103).
- Devlieghere F., Vermeiren L. and J. Debevere. 2004. New preservation Technologies: possibilities and limitations. **Int. Dairy Journal**. 14: 273-285.
- Dhanapal, A., Sasikala, P., Rajamani, L., Kavitha, V., Yazhini, G., & Banu, M. S. (2012).Edible films from polysaccharides. **Food Science and Quality Management**, 3,9–18.
- Dias, J., Coelho, P., Alvarenga, N.B., Duarted, R.V., Saraiva, J.A., "Evaluation of the impact of high pressure on the storage of filled traditional chocolates", **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2018, 45:36-41.
- Dursun, O.S., 2012. Dumanlanmış Balıkların Kalite ve Raf Ömrü Üzerine Yenilebilir Protein Film Kaplamanın Etkisi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, **Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı**, İstanbul.
- Dursun, S., Erkan, N., 2009. Yenilebilir protein filmler ve su ürünlerinde kullanımı. **Journal of Fisheries Science** 3(4): 352-373.
- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, 114, 1173e1182.
- Erol E., Turhan N., 2012. Yenilebilir film ve kaplamalar. Türkiye 11. Gıda Kongresi, 59 s, 10-12 Ekim, Hatay.
- Fernández-Pan, I., Carrión-Granda, X., Maté, J.I., "Antimicrobial efficiency of edible coatings on the preservation of chicken breast fillets", **Food Control**, 2014, 36:69-75.
- Feyzioğlu, G.C., 2016. Satureja Hortensis L. Uçucu Yağı Yüklenmiş Kitosan Nanopartiküllerinin Ve Kitosan Filmlerin Üretimi Ve Karakterizasyonu Yüksek Lisans Tezi.
- Garcia, M.A., Martino, M.N. ve Zaritzky, N.E. (1998) Plasticizer effect on starchbased coating applied to strawberries (Fragaria ananassa), **J Agric Food aChem**, 46: 3758- 3767.
- Gennadios A, McHugh TH, Weller CL, Krochta JM. 1994. Edible coatings and films based on proteins. In: Edible Coatings and Films to Improve Food Quality.

- Gennadios, A., Milford, A.H., Lyndon, B.K., 1997. Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review. **LWT - Food Science and Technology** 30(4): 337-350.
- Gennadios, A., Weller, C.L. 1990. Edible Films and Coatings From Wheat and Corn Proteins. **Food Technology**., 44 (10), 63-69.
- Han, Y., Yu, M., Wang, L., 2017. Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil. **Food Packaging and Shelf Life** Volume 15, March 2018, Pages 35-42
- Hung, T.H., Avena-Bustillos, R.J., 2012 “Applications of edible films and coatings to processed foods”, *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, CRC Press, New York, (2012).
- Ilcım, A. Ravid, U. Dıgrak, M. Karaman, S. (2001) Antibacterial and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. **Journal of Ethnopharmacology**. 76: 183-186.
- Işık, H., Dağhan, Ş., Gökmen, S., “Gıda Endüstrisinde Kullanılan Yenilebilir Kaplamalar Üzerine Bir Araştırma”, **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, 2013, 8 (1):26-35.
- Kamper, S .L., Fennema O. 1985. Use of edible film to maintain water vapor gradients in foods. **Journal of Food Science**, 50: 382-384.
- Kerch, G., “Chitosan films and coatings prevent losses of fresh fruit nutritional quality: A review”, **Trends in Food Science & Technology**, 2015, 46:159-166.
- Kester, J.J. Fennema, O.R., 1986. Edible Films and Coatings: A Review, **Food Techlonogy**, 40, 12,47-58.
- Kılınççeker, O. ve Hepsağ, F., 2010. Kaplama Malzemesi Olarak Mısır Unlarının Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, 5 (2): 20-27.
- Körüklüoğlu, M., Gürbüz, O., Sahan, Y., Kaçar, O., Rouseff R. Chemical characterization and antifungal activity of *Origanum onites* L. essential oils and extracts. **J Food Safety**. 2009;29:144-61.
- Krishna, M., Nindo, C. I., Min, S. C., 2012. Development of fish gelatin edible films using extrusion and compression molding. **Journal of Food Engineering**, 108: 337-344.
- Kristo, E., Koutsoumanis, K.P., Biliaderis CG. 2008. Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. **Food Hydrocolloid**, 22: 373–386.
- L.Sinem Cerit 2008. Bazı Baharat Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri. **Pamukkale Üniversitesi Açık Erişim Arşivi**
- Lee, J.Y., Coralia, V., Garcia, Shin ,G.H., Kim, H.T., 2019. Antibacterial and antioxidant properties of hydroxypropyl methylcellulose-based active composite films incorporating oregano essential oil nanoemulsions. **LWT** Volume 106, June 2019, Pages 164-171.
- Lee, M.H., K, S.Y., Park, H.J., 2018. Effect of halloysite nanoclay on the physical, mechanical, and antioxidant properties of chitosan films incorporated with clove essential oil. **Food Hydrocolloids** Volume 84, November 2018,Pages 58-67

- Lourdin, D., Della, V.G., Colonna, P., (1995) Influence of amylose content on starch films and foams. **Carbohydr Polym** 27: 261–270
- Ma, Q., Zhang, Y., Critzer, F., Davidson, P.M., Zivanovic, S., Zhong, Q., 2016. Physical, mechanical, and antimicrobial properties of chitosan films with microemulsions of cinnamon bark oil and soybean oil. **Food Hydrocolloids** Volume 52, January 2016, Pages 533-542
- Masoud, M.A., Farzi, R.G., 2012. Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging **International Journal of Food Science and Technology** © 2012 Institute of Food Science and Technology
- Mh Hosseini, Sh Razavi, Ma Mousavi 2009. Antimicrobial, Physical And Mechanical Properties Of Chitosan- Based Films Incorporated With Thyme, Clove And Cinnamon Essential Oils. **Journal Of Food Processing And Preservation Volume33**, Issue6 December 2009 Pages 727-743
- Min, Oh., 2009 Antimicrobial activity of catfish gelatin coating containing origanum (*Thymus capitatus*) oil against Gram-negative pathogenic bacteria. **Journal of Food Science**, 74 (2009), pp. 143-148
- Min, S., Haris, L.J., Krochta, J.M., 2005. Antimicrobial effects of lactoferrin, lysozyme, and the lactoperoxidase system and edible whey protein films incorporating the lactoperoxidase system against *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7. **J Food Sci**, 70 (7): 332-338.
- Moradi, M., Tajik, H., No, H. K., Razavi Rohani, S. M., Oromiehie, A. R., & Ghasemi, S. (2010). Potential inherent properties of chitosan and its applications in preserving muscle food. **Journal of Chitin and Chitosan**, 15, 35e45
- Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Gardrat, C., Rezaei, M.R., Hashemi, M., Coz, C.L., Coma, V., 2017. Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. **Food Hydrocolloids** Volume 70, September 2017, Pages 36-45
- Oun, A. A., & Rhim, J. W. (2015). Preparation and characterization of sodium carboxymethyl cellulose/cotton linter cellulose nanofibril composite films. **Carbohydrate Polymers**, 127, 101–109.
- Özdemir, M. and Floros, J.D., 2004. Active food packaging technologies. **Food Sci Nutr**. 44: 185-193.
- Papineau, AM., Hoover, DG., Knorr, D., Farkas, DF., Antimicrobial effect of watersoluble chitosans with high hydrostatic pressure. **Food Biotechnol**. 1991;5:45-57.
- Pavlat, A.E., Orts, W., 2009. Edible Films and Coatings: Why, What, and How? In *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Edited by Milda E. Embuscado, Kerry C. Huber, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 403p.
- Polat, H., 2007. İşlenmiş et ürünlerinde yenilebilir filmler ve kaplamaların uygulamaları. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 64 s, Afyon 35 (6): 509-524.
- Pranoto, Y., Rakshit, SK., Salokhe, VM., 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. **LWT Food Sci Technol**, 38: 859–865.

- Quezada-Gallo, J.A., “Delivery of Food Additives and Antimicrobials Using Edible Films and Coatings”, *Edible Films and Coatings for Food Applications*, **Springer Science+Business Media**, New York, (2009).
- Raybaudi-Massilia RM, Mosqueda-Melgar J, Martín- Belloso O. 2008. Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon. **Int J Food Microbio**, 121: 313-327.
- Realini, C.E., Marcos, B., 2014. Active and intelligent packaging systems for a modern.
- Robertson, G.L., 2013. Food Packaging: Principle and Practice. Third Edition, CRC Press, Boca Raton, 703p.
- Sagoo, S, Board, R, Roller, S. 2002. Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products. **Food Microbiol** 19: 175– 82.
- Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M. Özçelik S. (2002) Effects of Turkish Spice Extracts at Various Concentrations on the Growth E. coli O157:H7. **Food Microbiology**. 19:473-480.
- Salmieri, S., İslami, F., Ruhul A. Khan, Farah M. Hossain, Haytham M.M., Ibrahim, Chuanwei Miao, Wadood Y. Hamad, Monique Lacroix 2014. Antimicrobial nanocomposite films made of poly(lactic acid)–cellulose nanocrystals (PLA–CNC) in food applications—part B: effect of oregano essential oil release on the inactivation of *Listeria monocytogenes* in mixed vegetables. **Cellulose** December 2014, Volume 21, .Issue 6, pp 4271–4285
- Samsi, M.S., Kamari, A., Din, S.M., Lazar, G., 2019. Synthesis, characterization and application of gelatin–carboxymethyl cellulose blend films for preservation of cherry tomatoes and grapes. **Journal of Food Science and Technology** pp 1–10.
- Santiago-Silva P, Soares NFF, Nóbrega JE, Júnior MAW, Barbosa KBF, Volp ACP, Zerdas ERMA, Würlitzer NJ. 2009. Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA 2351) on preservation of sliced ham. **Food Control**, 20: 85-89.
- Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeon, Y. J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. **Trends in Food Science & Technology**, 10, 37–51.
- Shobita R., Muppalla Tatlım R., Kanatt S.P., Chawla Arun Sharma 2014. Carboxymethyl cellulose–polyvinyl alcohol films with clove oil for active packaging of ground chicken meat. **Food Packaging and Shelf Life** Volume 2, Issue 2, December 2014, Pages 51-58
- Sivarooban T, Hettiarachchy NS, Johnson MG. 2008. Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. **Food Res Int**, 41: 781–785.
- Söğüt, E., Seydim, A.C. (2018). Uçucu yağ içeren kitosan bazlı filmlerin karakterizasyonu. *GIDA* (2018) 43 (4): 624-634 doi: 10.15237/gida.GD18040
- Şahin, A. “Kekik Yağı İçeren Kitozan Kaplamaların Modifiye Atmosferde Ambalajlanan Sucukların Kalitesi Üzerine Etkisi”, (Yüksek Lisans Tezi), **Ankara Üniversitesi ve Fen Bilimleri Enstitüsü**, (2013).
- Talón, E., Kata T.Trifkovic, Vargas, M., Chiralt, A., Martínez, C.G., 2017a. Release of polyphenols from starch-chitosan based films containing thyme extract. **Carbohydrate Polymers** Volume 175, 1 November 2017, Pages 122-130
- Talón, E., Kata T.Trifkovic, Vargas, M., Chiralt, A., Martínez, C.G., 2017b. Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme

- extracts. **Carbohydrate Polymers** Volume 157, 10 February 2017, Pages 1153-116110 February 2017, Pages 1153-1161
- Tang, X. G., Kumar, P., Alavi, S., & Sandeep, K. P. (2012). Recent advances in biopolymers and biopolymer-based nanocomposites for food packaging materials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 52, 426–442.
- Tong Q, Xiao Q, Lim LT (2008) Preparation and properties of pullulan–alginate–carboxymethylcellulose blend films. **Food Res Int** 41:1007–1014. doi:10.1016/j.foodres.2008.08.005
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T. (2013). Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelation incorporated with root essential oils. **J Food Eng** 117(3):350-360.
- USFDA. (2013). Gras notice inventory. GRN, No. 397, www.fda.gov.
- Üstünol, Z., 2009. Edible Films and Coatings for Meat and Poultry. In Edible Films and Coatings for Food Applications, Edited by Milda E. Embuscado, Kerry C. Huber, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 403p.
- Vartiainen J, Ratto M, Tapper U, Paulussen S, Hurme E. Surface modification of atmospheric plasma activated BOPP by immobilizing chitosan. **Polym Bull**. 2005;54:343-52.
- Wu, H., Lei, Y., Zhu, R., Zhao, M., Lu, J., Xiao, D., Jiao, C., Zhang, Z., Shen, G., Li S., 2019. Preparation and characterization of bioactive edible packaging films based on pomelo peel flours incorporating tea polyphenol. **Food Hydrocolloids** Volume 90, May 2019, Pages 41-49
- Y. Li, C.F. Shoemaker, J. Ma, X. Shen, F. Zhong, **Food Chem**. 109 (2008) 616–623.
- Yadav, M., Rhee, K. Y., Jung, I. H., & Park, S. J. (2013). Eco-friendly synthesis, characterization and properties of a sodium carboxymethyl cellulose/graphene oxide nanocomposite film. **Cellulose**, 20, 687–698.
- Yalçın, A. (2000) Baharat Dünyası. Geçit Kitapevi. Sirkeci. İstanbul. s.89-91,100- 103, 141-146.
- Zivanovic Z, Chi S, Draughon AF. 2005. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **J Food Sci**, 70 (1): 45-51.

ÖZGEÇMİŞ

Yazar 1993 yılında Elbistan’da doğdu. İlköğretime 2000 yılında Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulu’nda başladı. Lise eğitimine 2007 yılında Elbistan Lisesi’nde başladı ve bu liseden 2011 yılında mezun oldu. 2012 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nü kazandı ve bu üniversiteden 2016 yılında mezun oldu. Aynı üniversitede 2016 yılı eylül ayında Fen Bilimleri Enstitüsü’nde Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı.



6. EKLER

EK 1

Zon Çapı

Between-Subjects Factors

		N
film	1,00	360
	2,00	360
bakteri	1,00	60
	2,00	60
	3,00	60
	4,00	60
	5,00	60
	6,00	60
	7,00	60
	8,00	60
	9,00	60
	10,00	60
	11,00	60
	12,00	60
ucucuyag	1,00	72
	2,00	72
	3,00	72
	4,00	72
	5,00	72
	6,00	72
	7,00	72
	8,00	72
	9,00	72
	10,00	72

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: zoncap

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	113,594 ^a	21	5,409	104,189	,000
Intercept	1593,708	1	1593,708	30696,993	,000
film	110,293	1	110,293	2124,402	,000
bakteri	2,241	11	,204	3,924	,000
ucucuyag	1,060	9	,118	2,268	,017
Error	36,238	698	,052		
Total	1743,540	720			
Corrected Total	149,832	719			

a. R Squared = ,758 (Adjusted R Squared = ,751)

Post Hoc Tests

bakteri

Homogeneous Subsets

zoncap

Duncan^{a,b}

bakteri	N	Subset			
		1	2	3	4
12,00	60	1,3850			
10,00	60	1,4317	1,4317		
11,00	60	1,4333	1,4333		
1,00	60	1,4350	1,4350		
6,00	60	1,4583	1,4583	1,4583	
8,00	60		1,4833	1,4833	1,4833
9,00	60		1,5133	1,5133	1,5133
2,00	60			1,5300	1,5300
3,00	60			1,5317	1,5317
5,00	60			1,5350	1,5350
4,00	60			1,5433	1,5433
7,00	60				1,5733
Sig.		,119	,087	,079	,062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,052.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 60,000.

b. Alpha = 0,05.

ucucuyag
Homogeneous Subsets
zoncapi
Duncan^{a,b}

ucucuyag	N	Subset		
		1	2	3
1,00	72	1,4042		
9,00	72	1,4625	1,4625	
4,00	72	1,4764	1,4764	1,4764
3,00	72	1,4792	1,4792	1,4792
8,00	72	1,4847	1,4847	1,4847
5,00	72	1,4861	1,4861	1,4861
7,00	72		1,4972	1,4972
2,00	72		1,4972	1,4972
6,00	72		1,5375	1,5375
10,00	72			1,5528
Sig.		,058	,094	,088

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,052.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 72,000.

b. Alpha = 0,05.

Ek 2

Tekstür

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: tekstur

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3926,208 ^a	10	392,621	62,863	,000
Intercept	38735,004	1	38735,004	6201,904	,000
film	3768,338	1	3768,338	603,353	,000
ucucuyag	157,871	9	17,541	2,809	,010
Error	306,037	49	6,246		
Total	42967,250	60			
Corrected Total	4232,246	59			

a. R Squared = ,928 (Adjusted R Squared = ,913)

Post Hoc Tests
ucucuyag
Homogeneous Subsets
Tekstur
Duncan^{a,b}

ucucuyag	N	Subset		
		1	2	3
1,00	6	21,8333		
5,00	6	23,5833	23,5833	
8,00	6	24,4167	24,4167	24,4167
9,00	6		25,4167	25,4167
6,00	6		25,7500	25,7500
7,00	6		26,0000	26,0000
10,00	6		26,1667	26,1667
3,00	6		26,2500	26,2500
4,00	6			27,1667
2,00	6			27,5000
Sig.		,096	,116	,072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6,246.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = 0,05.

Ek 3

Film kalınlığı

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: filmkalınlığı

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,012 ^a	10	,001	3,934	,001
Intercept	,789	1	,789	2516,694	,000
Yenilebilirfilm	,011	1	,011	35,750	,000
ucucuyaglar	,001	9	,000	,399	,929
Error	,015	49	,000		
Total	,817	60			
Corrected Total	,028	59			

a. R Squared = ,445 (Adjusted R Squared = ,332)

Post Hoc Tests
ucucuyaglar
Homogeneous Subsets
Filmkalınlığı
Duncan^{a,b}

ucucuyaglar	N	Subset
		1
2,00	6	,1100
7,00	6	,1100
5,00	6	,1117
8,00	6	,1117
10,00	6	,1117
3,00	6	,1150
4,00	6	,1150
1,00	6	,1183
6,00	6	,1200
9,00	6	,1233
Sig.		,280

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error)
= ,000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size =
6,000.

b. Alpha = 0,05.

Ek 4

Kırılğanlık

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: kırılğanlık

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9,612 ^a	10	,961	1,567	,146
Intercept	6867,075	1	6867,075	11193,550	,000
film	3,878	1	3,878	6,321	,015
ucucuyag	5,900	9	,656	1,069	,403
Error	29,447	48	,613		
Total	6916,500	59			
Corrected Total	39,059	58			

a. R Squared = ,246 (Adjusted R Squared = ,089)

Post Hoc Tests

ucucuyag

Homogeneous Subsets

kırılğanlık

Duncan^{a,b,c}

		Subset
ucucuyag	N	1
1,00	6	10,5000
5,00	6	10,5000
3,00	6	10,5833
9,00	6	10,5833
6,00	6	10,6667
8,00	6	10,6667
2,00	6	10,8333
7,00	6	11,0833
10,00	5	11,1000
4,00	6	11,5000
Sig.		,070

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,613.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,882.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = 0,05.

Ek 5

Calorimeter L

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: renkLdegeri

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	732,676 ^a	10	73,268	7,019	,000
Intercept	39326,464	1	39326,464	3767,587	,000
film	410,424	1	410,424	39,320	,000
ucucuyag	322,252	9	35,806	3,430	,002
Error	511,467	49	10,438		
Total	40570,607	60			
Corrected Total	1244,143	59			

a. R Squared = ,589 (Adjusted R Squared = ,505)

Post Hoc Tests

ucucuyag

Homogeneous Subsets

renkLdegeri

Duncan^{a,b}

ucucuyag	N	Subset			
		1	2	3	4
1,00	6	21,7750			
2,00	6	22,6192	22,6192		
4,00	6	23,5717	23,5717	23,5717	
5,00	6	25,2067	25,2067	25,2067	
3,00	6	25,4050	25,4050	25,4050	
8,00	6		26,3467	26,3467	26,3467
7,00	6		26,6958	26,6958	26,6958
10,00	6			26,9700	26,9700
6,00	6			27,5150	27,5150
9,00	6				29,9108
Sig.		,088	,059	,072	,094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 10,438.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = 0,05.

Ek 6

Calorimeter a

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: renkaDegerikalorimetre

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3,417 ^a	10	,342	1,000	,456
Intercept	249,207	1	249,207	729,568	,000
film	,021	1	,021	,062	,804
ucucuyag	3,396	9	,377	1,105	,377
Error	16,737	49	,342		
Total	269,361	60			
Corrected Total	20,155	59			

a. R Squared = ,170 (Adjusted R Squared = ,000)

ucucuyag

Homogeneous Subsets

renkaDegerikalorimetre

Duncan^{a,b}

		Subset
ucucuyag	N	1
2,00	6	-2,2800
7,00	6	-2,2133
6,00	6	-2,2017
10,00	6	-2,1817
1,00	6	-2,1500
5,00	6	-2,1350
4,00	6	-2,0542
3,00	6	-1,9633
9,00	6	-1,6967
8,00	6	-1,5042
Sig.		,057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,342.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = 0,05.

Ek 7

Calorimeter b

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: renkLDegeridaylight

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	745,017 ^a	10	74,502	6,302	,000
Intercept	40179,994	1	40179,994	3398,811	,000
Film	417,094	1	417,094	35,282	,000
ucucuyag	327,923	9	36,436	3,082	,005
Error	579,267	49	11,822		
Total	41504,279	60			
Corrected Total	1324,284	59			

a. R Squared = ,563 (Adjusted R Squared = ,473)

Post Hoc Tests

Ucucuyag

Homogeneous Subsets

renkLDegeridaylight

Duncan^{a,b}

ucucuyag	N	Subset			
		1	2	3	4
1,00	6	21,7117			
2,00	6	22,6017	22,6017		
4,00	6	24,7425	24,7425	24,7425	
5,00	6	24,9750	24,9750	24,9750	
3,00	6	25,9550	25,9550	25,9550	25,9550
7,00	6		26,7567	26,7567	26,7567
6,00	6			27,1233	27,1233
10,00	6			27,2267	27,2267
8,00	6			27,6767	27,6767
9,00	6				30,0100
Sig.		,061	,066	,210	,078

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 11,822.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = 0,05.

Ek 8

Daylight L

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: renkLDegeridaylight

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	745,017 ^a	10	74,502	6,302	,000
Intercept	40179,994	1	40179,994	3398,811	,000
Film	417,094	1	417,094	35,282	,000
ucucuyag	327,923	9	36,436	3,082	,005
Error	579,267	49	11,822		
Total	41504,279	60			
Corrected Total	1324,284	59			

a. R Squared = ,563 (Adjusted R Squared = ,473)

Post Hoc Tests

ucucuyag

Homogeneous Subsets

renkLDegeridaylight

Duncan^{a,b}

ucucuyag	N	Subset			
		1	2	3	4
1,00	6	21,7117			
2,00	6	22,6017	22,6017		
4,00	6	24,7425	24,7425	24,7425	
5,00	6	24,9750	24,9750	24,9750	
3,00	6	25,9550	25,9550	25,9550	25,9550
7,00	6		26,7567	26,7567	26,7567
6,00	6			27,1233	27,1233
10,00	6			27,2267	27,2267
8,00	6			27,6767	27,6767
9,00	6				30,0100
Sig.		,061	,066	,210	,078

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 11,822.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Ek 9

Daylight a

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: renkaDegeridaylight

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4,901 ^a	10	,490	2,369	,022
Intercept	135,090	1	135,090	653,026	,000
film	2,344	1	2,344	11,332	,001
ucucuyag	2,557	9	,284	1,373	,226
Error	10,137	49	,207		
Total	150,128	60			
Corrected Total	15,038	59			

a. R Squared = ,326 (Adjusted R Squared = ,188)

Post Hoc Tests

ucucuyag

Homogeneous Subsets

renkaDegeridaylight

Duncan^{a,b}

ucucuyag	N	Subset	
		1	2
2,00	6	-1,7917	
7,00	6	-1,6967	
3,00	6	-1,6700	
5,00	6	-1,6000	-1,6000
10,00	6	-1,5367	-1,5367
4,00	6	-1,5217	-1,5217
1,00	6	-1,4217	-1,4217
6,00	6	-1,3908	-1,3908
9,00	6	-1,3442	-1,3442
8,00	6		-1,0317
Sig.		,155	,065

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,207.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = 0,05.

Ek 9

Daylight b

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: renkbDegeridayligt

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	26,850 ^a	10	2,685	1,939	,062
Intercept	52,650	1	52,650	38,013	,000
film	2,858	1	2,858	2,063	,157
ucucuyag	23,992	9	2,666	1,925	,070
Error	67,867	49	1,385		
Total	147,367	60			
Corrected Total	94,717	59			

a. R Squared = ,283 (Adjusted R Squared = ,137)

Post Hoc Tests

ucucuyag

Homogeneous Subsets

renkbDegeridayligt

Duncan^{a,b}

ucucuyag	N	Subset	
		1	2
2,00	6	,6300	
8,00	6	,4875	,4875
5,00	6	,6967	,6967
1,00	6		,8650
3,00	6		,9033
7,00	6		1,1950
4,00	6		1,2325
6,00	6		1,4000
9,00	6		1,5525
10,00	6		1,6650
Sig.		,070	,149

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1,385.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

b. Alpha = 0,05.