

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DEMLENMIŞ KAHVE POSASINDAN YEŞİL ÇÖZÜCÜLER İLE LİPİT
EKSTRAKSİYONU VE DEĞERLENDİRİLMESİ

Selin TOPRAK

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2024

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DEMLENMİŞ KAHVE POSASINDAN YEŞİL ÇÖZÜCÜLER İLE LİPİT EKSTRAKSİYONU VE DEĞERLENDİRİLMESİ

Selin TOPRAK

Ankara Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. A. Ezgi ÜNLÜ BÜYÜKTOPCU

Çalışmada derin ötektik çözücüler (Deep Eutectic Solvents, DES) kullanılarak ultrasonik dalga ekstraksiyonu ile demlenmiş kahve posasından lipitin geri kazanılması, yağ asidi profilinin belirlenmesi ve elde edilen lipid ile farklı stratejiler kullanılarak yenilebilir film sentezi amaçlanmıştır. DES'lerin türü ve miktarının lipid verimi ve bileşimi, ayrıca sıvı-katı (SK) oranı, ekstraksiyon süresi (t) ve sıcaklık (T) parametrelerinin lipid verimi üzerine etkileri incelenmiştir. Mentol bazlı DES'ler arasında en yüksek verim %100 mentol-asetik asit (MAA) (1:1) ile 16.51 ± 0.57 olarak, kolin klorür bazlı DES'ler arasında ise %50 kolin klorür-üre (CU) (1:1) ile 16.76 ± 0.69 olarak elde edilmiştir ($T=60^\circ\text{C}$, $t=60$ dk, $SK=16$ mL/g). En fazla ekstrakte edilen yağ asidinin MAA (1:1) ile linoleik asit (%39.07), CU (1:1) ile bütirik asit (%39) olduğu belirlenmiştir. Seçilen çözücüler için süre, SK oranı ve sıcaklık bağımsız değişkenler; lipid verimi ise yanıt olarak belirlenerek Box-Behnken tasarımı ile optimizasyon gerçekleştirilmiştir. MAA (1:1) için parametreler ile cevap arasındaki ilişkinin üçüncü dereceden polinom ile ifade edilebildiği ($R^2=0.99$) ve $t=87.57$ dk $SK=30$ mL/g ve $T=50^\circ\text{C}$ koşullarında en yüksek deneysel lipid veriminin 25.30 ± 1.59 olduğu belirlenmiştir. CU (1:1) için ise parametreler ile cevap arasındaki ilişkinin ikinci dereceden polinom ile ifade edilebildiği ($R^2=0.99$) ve $t=90$ dk, $SK=19.58$ mL/g ve $T=80^\circ\text{C}$ koşullarında en yüksek deneysel verimin 25.10 ± 0.69 olduğu belirlenmiştir. Optimizasyonun ardından saflaştırılan lipidlerde en çok bulunan yağ asitleri CU (1:1) için nervonik asit (%32.41), MAA (1:1) için ise undekanoik asit (%86.59) olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda elde edilen ekstre ve lipidler ile elde edilen yenilebilir filmlerin antioksidan aktivitelerinin arttığı, mekanik özelliklerinin geliştiği ve nem içeriği, geçirgenlik ve şeffaflık değerlerinin azaldığı saptanmıştır.

Mayıs 2024, 93 sayfa

Anahtar kelimeler: Demlenmiş kahve posası, ultrasonik dalga ekstraksiyonu, lipid ekstraksiyonu, yeşil çözücüler, yenilebilir film

ABSTRACT

Master Thesis

LIPID EXTRACTION AND VALORIZATION OF SPENT COFFEE GROUND USING GREEN SOLVENTS

Selin TOPRAK

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. A. Ezgi ÜNLÜ BÜYÜKTOPCU

This study aims to recover lipids from spent coffee grounds (SCG) using ultrasound-assisted extraction with green solvents, Deep Eutectic Solvents (DES), to identify fatty acid profile and to synthesize lipid based-edible films using different strategies. For this purpose, the effects of DES type and amount, on lipid yield and fatty acid profile, as well as effect of liquid-to-solid (LS) ratio, extraction time (t) and extraction temperature (T) on lipid yield were investigated. Among menthol based DESs, the highest lipid yield was obtained with %100 MAA (1:1) as 16.51 ± 0.57 while among choline chloride based DESs, it was %50 CU (1:1) as 16.76 ± 0.69 ($T=60^{\circ}\text{C}$, $t=60$ min, $LS=16$ mL/g). Predominant fatty acid for MAA (1:1) was found as linoleic acid (%39.07), while it was butyric acid (%39) for CU (1:1). Experimental design and optimization were conducted for each solvent using Box-Behnken design. LS ratio, time and temperature were chosen as independent variables while lipid yield was the response. Using MAA (1:1), relation between parameters and the answer was found to be expressed with cubic polynomial model ($R^2=0.99$) and lipid yield was obtained as 25.30 ± 1.59 when $t=87.57$ min, $LS=30$ mL/g, $T=50^{\circ}\text{C}$. Using CU (1:1), the relation was found to be expressed with quadratic polynomial model ($R^2=0.99$) and the lipid yield was %25 when $t=90$ min, $LS=19.58$ mL/g, $T=80^{\circ}\text{C}$. After optimization predominant fatty acids were found as nervonic acid (%32.41) for CU (1:1), and undecanoic acid (%86.59) for MAA (1:1). Enhancement in the antioxidant activity, mechanical properties and decrease in moisture content, transmittance and transparency were detected for the lipid-based edible films synthesized with extracts and also purified lipids.

May 2024, 93 pages

Key words: Spent coffee grounds, ultrasonic extraction, lipid extraction, green solvents, edible film

TEŞEKKÜR

Hoşgörüsünü, ilgisini ve güler yüzünü hiçbir zaman eksik etmeyen, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum, azmini ve çalışkanlığını kendime örnek aldığım çok değerli hocam, danışmanım Doç. Dr. Ayşe Ezgi ÜNLÜ BÜYÜKTOPCU'ya (Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü) hem kişisel hem akademik gelişimime katkılarından dolayı sonsuz teşekkür ediyorum.

Değerli görüş ve fikirlerini benden esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Zekiye Serpil TAKAÇ'a (Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü) cana yakınlığı ve ilgisi için çok teşekkür ediyorum.

Antimikrobiyal aktivite analizini gerçekleştiren Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü'ne ve FTIR ve mekanik analizlerini gerçekleştiren Ankara Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşan, ihtiyaç duyduğum her an yardımına koşan ilgileri ve destekleri sayesinde laboratuvara kolayca adapte olmamı sağlayan Melis FIRAT ve Abdulkadir KESKİN'e çok teşekkür ediyorum.

Birlikte ağlayıp birlikte güldüğüm, her anımda yanımda olan, varlığı bana her zaman güç veren canım ikizim Pelin TOPRAK beraber çıktığımız uzun ve zorlu olan bu yolculukta karşılaştığımız tüm sorunların üstesinden yine beraber geldik bu süreçte sağladığın motivasyon ve desteğin için sonsuz teşekkür ediyorum. Birlikte nice serüvenlere...

Beni cesaretlendiren ve her zaman en iyisini yapmam için beni teşvik eden, her konuda akıl danıştığım, mutlu anımda ve zor zamanlarımda yanımda olan hayattaki en büyük şanslarım canım annem Melek TOPRAK'a ve canım babam Mustafa TOPRAK'a sonsuz teşekkür ediyorum.

Selin TOPRAK
Ankara, Mayıs 2024

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Kahve.....	4
2.2 Demlenmiş Kahve Posası.....	5
2.3 Ultrasonik Dalga Ekstraksiyonu.....	7
2.4 Derin Ötektik Çözücüler	8
2.4.1 Hidrofobik derin ötektik çözücüler	9
2.5 Yenilebilir Film ve Kaplamalar	10
2.5.1 Avantajları	11
2.5.2 Sentez yöntemleri	12
2.5.3 Türleri	14
2.6 Kaynak Özetleri	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1 Materyal.....	22
3.2 Demlenmiş Kahve Posasının Hazırlanması	22
3.3 Yeşil Çözücülerin Hazırlanması	22
3.4 Lipit ve Çözücülerin Karışabilirliğinin İncelenmesi.....	23
3.5 Ultrasonik Dalga Ekstraksiyonu.....	24
3.6 GC Analizi.....	24
3.7 Lipit Veriminin Hesaplanması	25
3.8 Deneysel Tasarım ve Optimizasyon	25
3.9 Lipitin Saflaştırılması	27
3.10 Antioksidan Aktivite Tayini.....	28
3.11 Yenilebilir Film Sentezi	29
3.12 Yenilebilir Film Analizleri.....	31

3.12.1 Kalınlık ölçümü	31
3.12.2 Geçirgenlik ve şeffaflık ölçümü	31
3.12.3 Nem içeriği tayini	31
3.12.4 Antioksidan aktivite tayini	32
3.12.5 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analizleri.....	32
3.12.6 Taramalı elektron mikroskobu analizleri	32
3.12.7 Mekanik özelliklerin analizi	32
3.12.8 Antimikrobiyal aktivitelerin belirlenmesi.....	33
3.13 İstatiksel Analiz	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	35
4.1 Demlenmiş Kahve Posasından Lipit Ekstraksiyonu.....	35
4.1.1 Yeşil çözücü türünün etkisi.....	35
4.1.2 Yeşil çözücü miktarının etkisi.....	39
4.1.3 Sıvı-katı oranının etkisi	40
4.1.4 Ekstraksiyon süresinin etkisi	41
4.1.5 Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi	42
4.2 Deneysel Tasarım ve Optimizasyonu.....	42
4.2.1 Kolin klorür bazlı DES ile lipit veriminin optimizasyonu.....	43
4.2.2 Mentol bazlı DES ile lipit veriminin optimizasyonu	47
4.2.3 Optimum koşullarda elde edilen ekstre ve lipitlerin antioksidan aktivite değerleri.....	51
4.2.4 Optimum koşullarda elde edilen lipitlerin yağ asidi profilleri.....	51
4.3 Yenilebilir Filmlerin Özellikleri	53
4.3.1 Kalınlık ve nem içerikleri	53
4.3.2 Geçirgenlik ve şeffaflık özellikleri	55
4.3.3 Antioksidan aktivite değerleri.....	57
4.3.4 Mekanik özellikleri.....	58
4.3.5 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi sonuçları	59
4.3.6 Taramalı elektron mikroskobu analizi sonuçları	61
4.3.7 Antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	62
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	65
KAYNAKLAR.....	75
EKLER.....	85
EK 1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar	86

EK 2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	87
EK 3 %75 Hidrofobik DES İle Gerçekleştirilen Ekstraksiyon Sonrası Elde Edilen Ekstrelerin Lipit Kompozisyonu	88
EK 4 %50 Hidrofobik DES İle Gerçekleştirilen Ekstraksiyon Sonrası Elde Edilen Ekstrelerin Lipit Kompozisyonu	89
EK 5 %75 Hidrofilik DES İle Gerçekleştirilen Ekstraksiyon Sonrası Elde Edilen Ekstrelerin Lipit Kompozisyonu	90
EK 6 %50 Hidrofilik DES İle Gerçekleştirilen Ekstraksiyon Sonrası Elde Edilen Ekstrelerin Lipit Kompozisyonu	91
EK 7 Saflaştırılmış Lipitlerin GC Kromatogramları	92
ÖZGEÇMİŞ.....	93



SİMGELER DİZİNİ

kHz	Kilohertz
MHz	Megahertz
MPa	Megapascal
T	Sıcaklık
t	Süre, dk, st
rpm	Dakikadaki devir sayısı
κ	Kappa
ι	Iota
λ	Lambda

Kısaltmalar

ANOVA	Varyans analizi (Analysis of Variance)
AA	Antioksidan aktivite
BBT	Box-Behnken tasarımı
C	Kolin klorür
DES	Deep eutectic solvents (Derin ötektik çözücüler)
FAME	Fatty acid methyl ester (Yağ asidi metil esteri)
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi
GC	Gas chromatography (Gaz kromatografisi)
GD	Gerilme direnci
HBA	Hidrojen bağ alıcısı
HBD	Hidrojen bağ donörü
HDES	Hydrophobic deep eutectic solvents (Hidrofobik derin ötektik çözücüler)
KU	Kopma uzaması
LA	Laktik asit
Lau	Laurik asit
M	DL-mentol
NADES	Natural deep eutectic solvents (Doğal derin ötektik çözücüler)
SCG	Spent Coffee Grounds (Demlenmiş kahve posası)
SK	Sıvı-katı oranı
SEM	Scanning electron microscopy (Taramalı elektron mikroskobu)
U	Üre
UV-VIS	Ultraviolet-Visible (Ultraviyole ve görünür)
YM	Young modülü
YYY	Yanıt yüzey yöntemi
σ	Mühendislik gerilmesi
ε	Mühendislik gerinmesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kahve meyvesi.....	4
Şekil 2.2 Demlenmiş kahve posası.....	6
Şekil 2.3 Filmlerin hazırlanma yöntemleri a) ıslak ve b) kuru	13
Şekil 2.4 Yenilebilir kaplama yöntemleri.....	14
Şekil 3.1 MAA (1:1) ile ekstrakte edilen lipitin saflaştırılması (a) Mentol ve lipit karışımından mentolün uzaklaştırılması için kurulan düzenek, (b) Geri soğutucu içinde donmuş olan mentol, (c) Geri kazanılan mentol.....	27
Şekil 3.2 CU (1:1) ile ekstrakte edilen lipitin saflaştırılması (a) Ekstre üzerine eklenen aşırı su ve ekstrenin -20°C’de dondurulmuş görüntüsü (b) Ayrılan lipit fazı.....	28
Şekil 4.1 Farklı çözücü türlerinin lipit verimine etkisi	36
Şekil 4.2 Örnek GC kromatogramı (pembe: %50 MLA (1:1) siyah: ekstre).....	36
Şekil 4.3 Yeşil çözücü miktarının lipit verimine etkisi	39
Şekil 4.4 Farklı çözücüler için SK oranının lipit verimine etkisi.....	41
Şekil 4.5 Farklı çözücüler için ekstraksiyon süresinin lipit verimine etkisi	42
Şekil 4.6 Ekstraksiyon sıcaklığının lipit verimine etkisi.....	42
Şekil 4.7 CU (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri ve eşyükselti eğrileri (a) ve (b) t-SK oranı etkisi (T=70°C) (c) ve (d) T- SK oranı etkisi (t=83.92 dk) (e) ve (f) t-T (SK=20 mL/g)	46
Şekil 4.8 MAA (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri ve eşyükselti eğrileri (a) ve (b) t-SK oranı (T=47.3°C) (c) ve (d) t-T (SK=18.5 mL/g) (e) ve (f) T-SK oranı (t =69.7 dk).....	50
Şekil 4.9 Yenilebilir filmlerin şeffaflık görüntüleri.....	57
Şekil 4.10 Saflaştırılmış lipit içeren filmlerin AA değerleri (%)	57
Şekil 4.11 Ekstre içeren filmlerin AA değerleri (%)	58
Şekil 4.12 Saflaştırılmış lipit içeren filmlerin ve kontrolün FTIR spektrumu	60
Şekil 4.13 Ekstre içeren filmin ve kontrolünün FTIR spektrumu.....	61
Şekil 4.14 SEM görüntüleri A: K, B: CU5, C: MAA5, D: K20, E: E20	62
Şekil 4.15 Saflaştırılmış lipitler olan MAA (1:1) (01) ve CU (1:1) (02)’in <i>S. infantis</i> (A), <i>E. coli</i> (B), <i>S.typhimurium</i> (C), <i>L.monocytogenes</i> ATCC 13932 (D), <i>L.monocytogenes</i> ATCC 7644 (E)’ e karşı antimikrobiyal aktiveleri	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 DES türleri ve bileşimleri.....	23
Çizelge 3.2 GC analiz koşulları	25
Çizelge 3.3 Deneyisel tasarımın bağımsız değişkenleri ve seviyeleri	26
Çizelge 3.4 Box-Behnken tasarımı ile elde edilen deney setleri.....	26
Çizelge 3.5 Yenilebilir filmler, bileşimleri ve kısaltmaları	30
Çizelge 4.1 Mentol bazlı hidrofobik DES'ler ile elde edilen ekstraktların yağ asidi profilleri (%).....	37
Çizelge 4.2 Kolin klorür bazlı hidrofilik DES'ler ile elde edilen ekstraktların yağ asidi profilleri (%).....	38
Çizelge 4.3 Hekzan ile elde edilen lipitin yağ asidi profili	38
Çizelge 4.4 Kolin klorür bazlı hidrofilik DES'lerin tür ve miktarına göre elde edilen yağ asidi profilleri (%)	40
Çizelge 4.5 CU (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için Box-Behnken tasarımına göre oluşturulan deney setleri ve yanıtları	43
Çizelge 4.6 CU (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için Box-Behnken tasarımda elde edilen ikinci derece polinom modele ait ANOVA sonuçları.....	44
Çizelge 4.7 CU (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için elde edilen modelin korelasyon katsayısı değerleri	45
Çizelge 4.8 MAA (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için Box-Behnken tasarımına göre oluşturulan deney setleri ve yanıtları	47
Çizelge 4.9 MAA (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için Box-Behnken tasarımda elde edilen üçüncü derece polinom modele ait ANOVA sonuçları	48
Çizelge 4.10 MAA (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için elde edilen modelin korelasyon katsayısı değerleri	48
Çizelge 4.11 Optimum ekstre ve lipitlerin antioksidan aktivite değerleri.....	51
Çizelge 4.12 Saflaştırılmış lipitlerin yağ asidi profili	52
Çizelge 4.13 Saflaştırılmış lipit içeren filmlerin kalınlık ve nem içeriği değerleri.....	54
Çizelge 4.14 Ekstre içeren filmlerin kalınlık ve nem içeriği değerleri	55
Çizelge 4.15 Saflaştırılmış lipit içeren filmlerin geçirgenlik ve şeffaflık değerleri.....	56
Çizelge 4.16 Ekstre ilaveli filmlerin geçirgenlik ve şeffaflık değerleri	56
Çizelge 4.17 Lipit ve ekstre içeren filmlerin Young modülü, kopma uzaması ve gerilme direnci değeri.....	59
Çizelge 4.18 Lipit, ekstre ve filmlerin farklı patojen bakterilere karşı ölçülen inhibisyon zon çapları	64

1. GİRİŞ

Kahve en çok tüketilen ve küresel çapta en popüler içeceklerden biridir. 2022 yılında kahve üretiminin dünya çapında 10 milyon ton seviyesine ulaştığı bildirilmiştir (Global Coffee Production 2021/22 | Statista). Kahvenin hasatı, işlenmesi, kavrulması ve demlenmesi sırasında oluşan atıklar arasında posa, müsilaj, kahve çekirdeği zarı ve demlenmiş kahve posası (Spent Coffee Grounds, SCG) bulunmaktadır (Santos vd. 2021). SCG kafelerde, restoranlarda ve evlerdeki tüketim sonucu ve ayrıca çözünür kahvenin endüstriyel üretimi sonucunda oluşmaktadır (Mussatto vd. 2011). SCG geleneksel olarak gübre, hayvan yemi veya kompost malzemesi olarak kullanılmaktadır. Ancak bu durum toprak ve yeraltı sularının kirlenmesi gibi ciddi çevresel sorunlara yol açmaktadır (Mussatto vd. 2011, Atabani vd. 2019). Bu nedenle, büyük miktarlarda ortaya çıkan SCG'nin yeniden kullanımının araştırılması hem sürdürülebilir seçeneklerin ortaya konulmasına hem de olumsuz çevresel etkilerin azaltılmasına yardımcı olmak açısından önemlidir. SCG içerdiği hemiselüloz (%30-40), selüloz (%8.6-13.3), lignin (%25-33), lipit (10-20), protein (%6.7-13.6), polifenolik maddeler ve çeşitli mineraller içermektedir (Obruca vd. 2015). Dolayısıyla sağlık, eczacılık, gıda, enerji ve tarım alanlarına katkı sağlayabilme potansiyeli nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmektedir.

SCG'de bulunan lipit linoleik, oleik, linolenik ve doymuş yağ asitleri gibi çeşitli yağ asitleri içermektedir. Günümüzde gıda, kozmetik, ilaç ve biyoenerji endüstrisinde biyo ürünlerin üretimi için potansiyel hammadde olarak değerlendirilmektedir (Campos-Vega vd. 2015).

Literatürde SCG'den lipit ekstraksiyonu maserasyon ve soxhlet ekstraksiyonu (Loyao vd 2018, Kondamudi vd. 2008, Al-Hamamre vd. 2012, Le vd. 2017, Efthymiopoulos vd. 2018, Mkhonto ve Chetty 2021) gibi geleneksel yöntemler ile ultrasonik dalga (Abdullah ve Koç 2013, Rocha vd. 2014, Miladi vd. 2021), mikrodalga (Ahangari ve Sargolzaei 2012) ve süperkritik CO₂ ekstraksiyonu (Muangrat ve Pongsirikul 2019, Coelho vd. 2020) gibi yeni nesil yöntemler ile gerçekleştirilmektedir. Geleneksel yöntemler kolay uygulanabilir olmalarına rağmen; yüksek miktarda hammadde ve çözücü tüketimi,

ekstraksiyon süresinin uzun olması, enerji tüketiminin yüksek olması gibi dezavantajları bulunmaktadır.

Ekstraksiyon proseslerinde en önemli ve etkili parametrelerden biri kullanılan çözücülerdir. Literatürde SCG'den lipit ekstraksiyonu için genellikle toluen, kloroform, hekzan gibi polar olmayan ve izopropanol, bütanol, etanol ve aseton gibi polar çözücüler kullanılmaktadır (Al-Hamamre vd. 2012, Atabani vd. 2019). Bu çözücülerin çözme yetenekleri iyi olsa da yüksek yanıcılık ve toksisiteye sahip olmaları çevre ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etki yaratmaktadır (Cunha ve Fernandes 2018). Ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin, yüksek verimliliklerinin yanı sıra çevre dostu olmaları ve düşük maliyetli olmaları istenmektedir (Warrag ve Kroon 2019). Bu noktada organik çözücülere alternatif olarak toksik olmayan, biyolojik olarak parçalanabilen, maliyeti düşük, yenilenebilir kaynaklardan elde edilen yeşil çözücüler öne çıkmaktadır. Bu sınıfta yer alan ve keşfinin ardından birçok farklı araştırma alanında organik çözücülere alternatif olarak araştırılan çözücüler Derin Ötektik Çözücüler (Deep Eutectic Solvents, DES)'dir. DES'ler bileşenlerinden birinin hidrojen bağ alıcısı, diğerinin hidrojen bağ vericisi olduğu ve her bir bileşenin erime noktasından daha düşük erime noktasına sahip olan ötektik karışımlardır (Abbott vd. 2004, Zhang vd. 2012). Temel olarak alkoller, asitler, organik tuzlar ve şekerler gibi yenilenebilir kaynaklardan sentezlenmektedir. Elektrokimya, farmasötik ve ayırma işlemleri dahil olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır (Ma vd. 2019).

DES'lerin hidrofilik yapıda olmaları nedeniyle, hidrofobik bileşenler ile ilgili uygulamalarda yetersiz kalmışlardır. van Osch vd 2015 yılında DES'lere benzer ötektik yapıdaki çözücülerini hidrofobik bileşenler kullanarak hazırlamayı başarmışlar ve Hidrofobik Derin Ötektik Çözücüler olarak (Hydrophobic Deep Eutectic Solvents, HDES) isimlendirmişlerdir (van Osch vd. 2015). Günümüzde HDES'ler suyun arıtılmasında, metal iyonlarının yanı sıra organik mikro kirleticilerin sudan uzaklaştırılması için manyetik jeller, karbon nanotüplere dayalı nanopartiküller ve grafen gibi yeni malzemelerin hazırlanmasında, CO₂ yakalamada, güneş pilleri için elektrolit ortam oluşturmada ve biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda başarıyla uygulanmaktadır (Makoś vd. 2020).

Gıda ambalaj sektörü sürdürülebilir üretime geçmeyi amaçlayan bir diğer endüstriyel sektördür. Gıda ambalajlarının büyük bir kısmı biyolojik olarak parçalanamayan petrol bazlı kimyasal bileşiklerden oluşan tek kullanımlık malzemelerdir (Kumar vd. 2022). Bu malzemelerin çevre üzerindeki olumsuz etkilerinin azaltılması amacıyla geri dönüştürülebilir ve biyobozunur malzemelerin kullanılması araştırılmaktadır. Bu alandaki önemli gelişmelerden biri yenilebilir ambalajlar olan film ve kaplamalardır. Bu malzemeler karbonhidrat, protein, lipit gibi biyopolimerler kullanılarak sentezlenmektedir. Yenilebilir ambalajlar gıda ürünlerinin kalitesini ve güvenliğini arttırırken aynı zamanda koruma sağlamaktadırlar. Sentezleri sırasında antimikrobiyal ve antioksidan maddeler ve ayrıca aroma ve renk verici gıda katkı maddeleri eklenebilmektedir (Tavassoli-Kafrani vd. 2016).

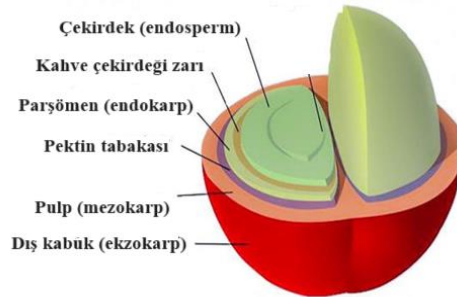
Bu tez çalışmasında, gıda sektörünün önemli bir atığı olan SCG'den farklı türdeki hidrofilik ve hidrofobik DES ve HDES'ler ile yeni nesil yöntemlerden biri olan ultrasonik dalga ekstraksiyonu ile lipitin geri kazanılması ve elde edilen lipit ve lipit-DES karışımı olan ekstrenin, farklı stratejiler kullanılarak, yenilebilir film sentezinde kullanımı araştırılmıştır. Bu kapsamda SCG'den lipit ekstraksiyonu deneylerinde öncelikle DES ve HDES türü ve yüzdesinin lipit verimi ve bileşimi üzerindeki etkisi incelenerek en iyi çözücüler ve miktarları belirlenmiş, seçilen çözücüler ile sıcaklık, süre, sıvı-katı (SK) oranı gibi parametrelerin, elde edilen lipit verimi ve bileşimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Lipit ekstraksiyonu üzerinde etkili olan parametrelerin etkilerinin birlikte incelenmesi amacıyla seçilen DES ve HDES için ayrı ayrı deneysel tasarım gerçekleştirilerek optimizasyon yapılmıştır. Bu amaçla Box-Behnken tasarımı (BBT) kullanılarak deneyler gerçekleştirilmiş ve yanıt yüzey yöntemi (YYY) ile cevap yüzeyleri elde edilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen saflaştırılmış lipitler ve ayrıca DES ile elde edilen ekstre katkı maddesi veya plastikleştirici olarak yenilebilir film sentezinde kullanılmış ve filmlerin mekanik, kimyasal özelliklerine etkileri incelenmiştir. Bu şekilde atıktan geri kazanılan katma değeri yüksek bileşenlerin bir ürünün özelliklerinin geliştirilmesinde kullanımı ile sürdürülebilirliğe katkı sağlanması amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Kahve

Kahve yaklaşık 1000 yıl önce Etiyopya'da keşfedilmiş, 1615 yılında Avrupa'ya ulaşmış ve 17. yüzyılın ortalarında tüm Avrupa şehirlerinde tüketimi yaygın hale gelmiştir. Günümüzde kahve tüketimi dünya çapında kayda değer bir ekonomik, sosyal ve kültürel etkiye sahip olmaya devam etmektedir. Kahvenin dengeli tüketiminin kalp ve kemik sağlığına olumlu etkileri bulunmakta, fiziksel ve zihinsel performansı artırmaktadır. Terpen ve terpenoidler gibi uçucu organik bileşenleri içermesi nedeniyle antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Çalışmalarda tip-2 diyabet riskini azalttığı belirlenmiş ve iltihap giderici etkisi olduğu kanıtlanmıştır (Di Pasqua vd. 2007).

Kahve bitkisinin yetmişten fazla türü olmasına rağmen ekonomik değeri en yüksek olan, dünyadaki üretimin büyük bölümünü oluşturan Arabica ve Robusta olarak bilinen *Coffea arabica* L. ve *Coffea canephora* Pierre'dir (Herrera ve Lambot 2017). Kahve meyvesinin en dışında sert bir kabuk (perikarp) bulunmakta ve onu pulp (mezokarp), müsilaj ve parşömen (endokarp) tabakası izlemektedir. En iç kısmında iki çekirdek ve bu çekirdekleri saran çekirdek zarı bulunmaktadır (**Şekil 2.1**) (Muñoz vd. 2019). Kahve çekirdekleri kimyasal bileşimi açısından zengin bir bileşime sahip olup karbonhidrat (%50-60), protein (%15-16), nem (%12), kül (%4), kafein (%1) ve lipit (%14) içermektedir (Çağlarırnak ve Ünal 1992). İçerdiği fenolik asitler, kafein ve kavurma işlemi sırasında oluşan bazı bileşikler ile doğal bir antioksidan kaynağıdır.



Şekil 2.1 Kahve meyvesi

Kahve meyvesi, kuru ve yaş olarak iki farklı yöntemle işlenmekte ve bunun sonucunda farklı yan ürünler oluşmaktadır. Meyvelerin kuru işlenmesi sonucunda oluşan kabuk (endokarptan ekzokarp) ana yan üründür ve meyvenin %45'ini oluşturmaktadır. Kabuk protein (%8-11), karbonhidrat (%58-85), selüloz (%43), hemiselüloz (%7), lignin (%9), lipit (%0.5-3), mineral (%3-7), lif (%24-30.8) açısından zengindir. Ayrıca kafein (%1) ve klorojenik asit (%2.5) gibi biyoaktif bileşenlerin yanı sıra tanenler (%5-9) ve siyanidinler (%20) gibi fitokimyasal bileşenler içermektedir.

Meyvelerin ıslak işlenmesi sonucu ise kahve pulpu, müsilaj ve parşömen gibi yan ürünler oluşmaktadır. Bu yan ürünler karbonhidrat (%21-32), pektik maddeler (%6.5), protein (%5-15), mineral (%9), lipit (%2-7), tanen (%3), klorojenik asit (%2.4), kafeik asit (%1.6) ve kafein (%1.5) içermektedir (Blinová vd. 2017).

Kahvenin kavrulması sırasında oluşan kahve çekirdeği zarı, kahve çekirdeğiyle temas halinde olan ince bir tabakadır ve yüksek kavurma sıcaklıklarına maruz kaldığında çekirdekten ayrılmaktadır. Bu zar protein, mineral ve antioksidan açısından zengindir.

Bu tez çalışmasında kullanılan kahve atığı türü olan SCG ise kahvenin demlenmesinden sonra veya hazır kahvenin üretimi sırasında elde edilmekte ve meyve biyokütlesinin yaklaşık %50'sine karşılık gelmektedir.

2.2 Demlenmiş Kahve Posası

Kahve endüstrisinin ana atığını oluşturan SCG'nin kimyasal bileşimi menşei, iklim koşulları, ekstraksiyon koşulları ve işlenmesi gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Efthymiopoulos vd. 2019). Temel olarak karbonhidratlar, lipitler ve proteinler dahil olmak üzere yüksek miktarda organik bileşiklerin yanı sıra kafein, klorojenik, kafeik asitler, kafestol ve kahveol gibi biyoaktif ve fenolik bileşenler içermektedir (Peshew vd. 2018, Mata vd. 2018). Diğer lignoselülozik malzemeler (lignin, selüloz ve hemiselüloz) ile karşılaştırıldığında, yüksek oranda hemiselüloz, (%30-40)

lignin (%25-30) selüloz (yaklaşık %8.6-13.3) içerdiği ve eser miktarda kül, potasyum, magnezyum, fosfor minerallerinden oluştuğu bildirilmiştir (Obruca vd. 2015).

1 ton kahve meyvesinden yaklaşık 650 kg SCG, 1 kg hazır çözümlü kahve üretimi sırasında ise yaklaşık 2 kg ıslak SCG oluşmaktadır (Murthy ve Naidu 2012, Karmee 2018). SCG'lerin yaklaşık %50'si hazır kahve üretimine yönelik endüstriler ve kahve dükkanı zincirleri tarafından üretilmekte, geri kalanı ise ev içi tüketime karşılık gelmektedir (Cruz vd. 2012). Dünya çapında yılda 15 milyon ton SCG atığı ortaya çıktığı tahmin edilmektedir (Cervera-Mata vd. 2021). (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Demlenmiş kahve posası

SCG'ler çoğunlukla bertaraf edilmemekte ve doğrudan çöp sahalarına atılmaktadır. Bu durumda atık içerisinde bulunan tanin, polifenol, klorojenik asit ve kafein gibi bileşikler fitotoksik etki göstererek tohumların büyümesini engellemektedir (Murthy ve Naidu 2012). Aynı zamanda karbondioksit ve metan gibi gazların salınmasına neden olarak sera gazını artırmaktadır (Atabani vd. 2020). SCG yakıldığında ise yüksek karbon emisyonuna neden olmaktadır (Mussato vd. 2011). İnsan ve çevre sağlığı için risk oluşturan bu durumlar nedeniyle SCG atık yönetiminin yapılması, sürdürülebilir ekonomik seçeneklerin sunulması ve çevresel zararların azaltılması önem taşımaktadır (Fernandes vd. 2017).

SCG'den elde edilen ekstraktların tarım, gıda, sağlık, kozmetik ve farmakoloji gibi farklı alanlardaki uygulamalar için potansiyelleri araştırılmaktadır (Lauberts vd. 2022).

SCG'nin değerlendirilmesine yönelik yaklaşımlardan biri mikroorganizmalar tarafından substrat olarak kullanılarak kafeinaz, ksilanaz, alfa-amilaz, pektinaz ve tanaz gibi enzimlerin üretilmesidir. Bir diğer uygulama alanı ise biyoteknolojik prosesler ile PHA'lar ve karotenoidler gibi katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesidir (Petrik vd. 2014). Bunun yanı sıra, farmasötik ürünler için etkili, düşük maliyetli ve evre dostu bir antioksidan, polifenol ve biyomateryal kaynağı olabileceği bildirilmiştir (Vu vd. 2021). Ayrıca tirozinaz aktivitesini ve melanin sentezini inhibe etmesi nedeniyle cilt beyazlatıcı ürünlerin geliştirilmesinde de kullanımı araştırılmıştır (Sung vd. 2015, Ribeiro vd. 2018). Polisakkarit açısından zengin olması sebebiyle biyolojik olarak parçalanabilen filmler veya kaplamalarda ham madde olarak kullanımına yönelik çalışmalar da bulunmaktadır (Batista vd. 2020).

Bunların yanı sıra SCG'de %7-28 kadar lipit bulunmaktadır (Bomfim vd. 2023). nemli miktarda bulunan ve değerli bileşikler içeren bu lipitin geri kazanıldığında ilaç ve kozmetik sektörlerinde kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Bu lipit monogliserit, digliserit, trigliserit ve linoleik, palmitik, oleik, stearik asit gibi yumuşatıcı ve nemlendirici özelliklere sahip olan ve cilt sağlığını iyileştiren yağ asitlerini içermektedir (Ribeiro vd. 2013, Marto vd. 2016). Ayrıca bu yağ asitleri cilt kuruluğu egzama ve sedef hastalığı gibi ciddi dermatolojik rahatsızlıkları tedavi etmektedir. Bunun yanı sıra terpenler, terpenoidler ve serbest yağ asitleri gibi uçucu organik bileşiklerin varlığı antimikrobiyal etki sağlarken diterpenler, kafestol ve 16-O-metilkafestoln varlığı anti-karsinojenik aktivite göstermesine sebep olmaktadır (Ballesteros vd. 2014). Ayrıca antioksidan, antienflamatuar ve immünomodülatör madde özellikleri nedeniyle ultraviyole (UV) radyasyonun cilt üzerindeki zararlı etkilerini nleme potansiyeline sahiptir. Bunların yanı sıra literatürde SCG lipitinden biyoetanol, biyogaz ve biyodizel gibi biyoyakıtların üretimi de araştırılmaktadır (Campos-Vega vd. 2015, Williamson ve Hatzakis 2018).

2.3 Ultrasonik Dalga Ekstraksiyonu

Ultrasonik dalga ekstraksiyonu, katı bir matriste bulunan bileşiklerin etkili bir şekilde ekstraksiyonunu sağlamak için yüksek frekanslı seslerin ve sınırlı miktarda çözücünün

kullanımına dayanmaktadır. Gıda endüstrisindeki uygulaması düşük yoğunluklu yüksek frekanslı ($f > 100$ kHz) ve yüksek yoğunluklu düşük frekanslı ($20 \text{ kHz} \leq f \leq 100 \text{ kHz}$) olmak üzere iki farklı kategoriye ayrılmaktadır. Düşük yoğunluklu ultrasonik dalga materyalin fiziksel veya kimyasal özelliklerini değiştirmemektedir. Buna karşılık, yüksek yoğunluklu ultrasonik dalga, kabarcık kavitasyonunun neden olduğu yoğun basınç ve sıcaklık farkı oluşturarak matris içinde bozulma etkisi yaratmaktadır (Herrero vd. 2012).

Ultrasonik enerji kütle transfer hızının artmasına ve çözücünün bitki hücre duvarlarına nüfuz etmesini hızlandırarak ekstrakte edilebilir bileşiklerin salınmasını kolaylaştırmakta ve çözücünün numune içine hareketine yardımcı olarak hedef bileşiklerin matristen çözücüye salınmasını arttırmaktadır (Sousa vd. 2023). Ultrasonik dalga enerjisi madde ile etkileşime girerek hedef bileşenlerin daha hızlı bir şekilde geri kazanılmasını sağlamaktadır. Ayrıca kısa sürede daha yüksek verimlilik sağlayarak üretim süreçlerini iyileştirmekte ve maliyeti azaltmaktadır.

2.4 Derin Ötektik Çözücüler

Derin Ötektik Çözücüler (DES), iyonik sıvılarla benzer karakteristik ve fiziksel özellikler göstermeleri sebebiyle iyonik sıvıların yeni bir sınıfı olarak kabul edilmektedir. İyonik sıvılar, organik katyon ve anyonun birleşiminden oluşan genellikle oda sıcaklığında sıvı formda olan, düşük erime noktasına ($<100^{\circ}\text{C}$) sahip tuzlar olarak tanımlanmıştır (Abbott vd. 2004, Zhang vd. 2012). İyonik sıvılar geleneksel çözücülere göre avantajlı olmasına rağmen yüksek maliyetlerinden ve toksisitelerindeki belirsizliklerden dolayı endüstriyel uygulamalarda kullanımları sınırlı kalmış ve son yıllarda DES'lerin daha fazla ilgi görmesine neden olmuştur (Shamsuri ve Abdullah 2010). 2003 yılında Abbott vd. tarafından keşfedilen DES'ler, yeşil çözücüler sınıfında yer alan hidrojen bağ verici (HBD) ve hidrojen bağ alıcısından (HBA) oluşan iki veya daha fazla bileşenin homojen şekilde karıştırılmasıyla kendini oluşturan bileşenlerden daha düşük erime noktasına sahip karışımlardır (Abbott vd. 2003). DES'lerin sentezinin düşük maliyetli olması, kolay hazırlanması, uçuculuğu düşük, biyolojik olarak parçalanabilir ve toksik olmaması gibi üstün özellikleri onları iyonik sıvılardan ayırmaktadır (Smith vd. 2014).

Keşfinin ilk yıllarında DES'ler genellikle kolin klorür ile gliserol, üre, etilen glikol gibi bileşenler kullanılarak sentezlenmekteyken, yıllar içinde çok farklı ve çok çeşitli bileşenlerden DES oluşturulabildiği görülmüştür ve günümüzde yüzlerce farklı bileşenden oluşan ve farklı mol oranlarında DES'ler sentezlenmektedir. Ayrıca karışımların HBA ve HBD bileşenleri değiştirilerek DES'lerin fizikokimyasal özellikleri ayarlanabilmekte bu sayede birçok alanda kullanımı mümkün olabilmektedir (Cao ve Su 2021). DES'ler, sentez, ekstraksiyon, elektrokimya ve metal işleme gibi çok çeşitli teknolojik araştırma alanlarında kullanılabilmektedirler (Smith vd. 2014). Ayrıca çeşitli reaksiyonlarda DES'ler katalizör olarak da kullanılabilmektedir. (Musale ve Shukla 2016, Keshavarzipour ve Tavakol 2015).

2.4.1 Hidrofobik derin ötektik çözücüler

Çözücüler yüksek bazik-düşük polarite, düşük bazik-düşük polarite, yüksek bazik-yüksek polarite ve düşük bazik-yüksek polarite olmak üzere dört grupta sınıflandırılabilir. Bu kategorilerde yeşil çözücülerin kullanımı sürdürülebilir döngü için önemli olmaktadır (Jessop 2011). Günümüze kadar sentezlenen DES'lerin çoğunluğu, hidrofilik özelliktedir ve dolayısıyla yüksek baziklik ve düşük su içeriği gerektiren uygulamalarda yetersiz kalmaktadır (Dwamwna 2019). Su ile karışabilirliği çok düşük olan HBD ve HBA'dan oluşan hidrofobik özellikte olan ilk DES van Osch tarafından 2015 yılında kuaterner amonyum tuzları ile yüksek hidrofobik özellik gösteren yağ asidinin (dekanolik asit) birleştirilmesiyle ortaya çıkmıştır (van Osch vd. 2015). Sentezlenen bu yeni türdeki DES'ler hidrofobik DES (HDES) olarak sınıflandırılmış ve HDES'ler ile sulu ortamdan uçucu organik bileşiklerin ve kafein vanilin gibi biyomoleküllerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir (van Osch vd. 2015). Bu çalışmanın ardından Ribeiro tarafından kısa zincirli yağ asitleri (pirüvik, laktik ve asetik asit) ile DL-mentol kullanılarak ilk doğal HDES oluşturulmuştur (Ribeiro vd. 2015). Literatürde ayrıca hem HBA hem de HBD özelliği gösteren lidokain: dekanolik asit, laurik asit: dekanolik asit, laurik asit: nonanolik asit ve laurik asit: oktanolik asit gibi yağ asitleri kombinasyonlarında HDES'ler sentezlenmiştir (Schaeffer vd. 2018, van Osch vd. 2016, Florindo vd. 2018). HDES'ler keşfinden günümüze kadar pestisitlerin, biyomoleküllerin, metal iyonlarının ve tıbbi atıkların sulu ortamdan giderilmesinde, CO₂ yakalayıcı ajan olarak, biyoaktif bileşenlerin

ekstraksiyonunda, hidrometalürji ve ayırma proseslerinde kullanılmıştır (Cao ve Su 2021). Ayrıca gıda kimyasında gıdalarda bulunan katkı maddelerinin ve ağır metallerin tespitinde, gıda ambalajında sıklıkla kullanılan plastiklere eklenen plastikleştirici, UV emici ve bisfenol bileşenlerinin belirlenmesinde, farmasötik endüstride hidrofobik ilaç bileşenlerin çözünürlüklerinin iyileştirilmesinde kullanımları da mevcuttur (Cao ve Su 2021, Boateng 2022).

2.5 Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Gıda ambalajı, gıda ürünlerini fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkilerden koruyarak, raf ömrünün uzatılmasına, gıda ürünlerinin taşınmasına ve dağıtımına olanak sağlamaktadır (Tharanathan 2003). Gıda ambalajlamada maliyetinin düşük ve kolay erişilebilir olması, daha iyi mekanik özellik sunması nedeniyle yaygın olarak polietilen, polipropilen ve polistiren gibi petrol bazlı plastikler kullanılmaktadır (Sundqvist-Andberg ve Åkerman 2021). Ancak bu sentetik malzemeler sınırlı kaynakları tükettiği, biyolojik olarak parçalanmadığı, yeniden kullanılamadığı veya geri dönüştürülemediği için ciddi çevresel sorunlara yol açmaktadır (Atar ve Chiralt 2015, Zhen vd. 2022). Çevresel kaygıların artmasıyla beraber araştırmacılar, petrol türevi plastiklere alternatif olabilecek yenilenebilir doğal kaynaklardan yapılmış, biyolojik olarak parçalanabilen çevre dostu ambalaj malzemeleri geliştirme arayışına girmiştir. Bu arayış sonucunda yenilebilir film ve kaplamalar ortaya konulmuştur. Yenilebilir film ve kaplamalar bitkilerden, hayvanlardan veya gıdanın işlenmesi sırasında oluşan yan ürünlerden elde edilen lipitler, proteinler ve polisakkaritler gibi gıda sınıfı biyopolimerlerin kullanılmasıyla sentezlenmektedir (Mohamed vd. 2020). Gıdaları mekanik, kimyasal ve biyolojik hasara karşı korumasının yanı sıra, UV radyasyonuna karşı koruma, gazların emilimi ve biyoaktif bileşenlerin salınımını kontrol edebilme gibi özellikleriyle lipit oksidasyonunu azaltma, gıdanın besin değerini koruma ve raf ömrünü uzatma gibi birçok olumlu fayda sağlamaktadır (Gennadios vd. 1997, Suhag vd. 2020).

Yenilebilir kaplamalar sıvı formda olan çözelti içerisine daldırılarak ürüne uygulanırken yenilebilir film, çözelti hazırlandıktan sonra gıdaların üzerine veya arasına katı tabakalar halinde uygulanmaktadır (Debeaufort vd. 1998). Bu yapılar gıda yüzeyine ince bir tabaka

halinde uygulanmakta ve gıda ile birlikte tüketilebilmektedir. Yenilebilir film ve kaplamaların gıda ürünlerini korumak ve estetik amacıyla parlaklık sağlamak için yüzyıllardır kullanıldığı bilinmektedir. 12. ve 13. yüzyıllarda, limon ve portakalları mikrobiyal bozulmadan korumak için balmumu, 16. yüzyıllarda etlerin küçülmesini önlemek için yağ, 19. yüzyılda depolama sırasında badem ve fındığın oksidasyonunu engellemek için sakkaroz yenilebilir kaplama olarak kullanılmıştır (Pavlath ve Orts 2009).

Günümüzde yenilebilir film ve kaplamaların taşınması gereken özellikler aşağıdaki gibi sıralanabilir (Wu vd. 2023).

- Mekanik hasarlara ve UV radyasyonuna karşı koruma
- İyi bariyer özelliği sağlama
 - a) Nem bariyeri: dehidrasyonu önlemek için su buharı iletimini en aza indirme
 - b) Gaz bariyeri: oksijen ve karbondioksit gibi gazlara karşı bariyer özelliği sergileme
 - c) Uçucu organik bileşik bariyeri: katkı maddeleri ve pigmentlere karşı koruma sağlama
- Raf ömrünü uzatma
- Doku, lezzet veya renk üzerinde minimum etki göstererek gıda kalitesini koruma
- Ekonomik, temini kolay, tüketim açısından güvenli materyallerden elde edilme

2.5.1 Avantajları

Yenilebilir film ve kaplamalar gıda ürünlerinin depolanması sırasında yüzey dehidrasyonunu, nem emilimini, bileşenlerin oksidasyonunu, aroma kaybını, olgunlaşmayı ve gıda ürünlerinin mikrobiyal bozulmasını geciktirerek kalitenin korunmasını sağlamaktadır. Oksijen, karbondioksit gibi gazlara ve aroma bileşiklerine karşı bariyer oluşturmakta, gıdalarda etilen üretimi ve solunum hızını azaltmakta, gıda ürününün parlaklığını ve görsel çekiciliğini artırmaktadır. Bileşimine aroma, renk ve tatlandırıcıların eklenmesiyle uygulandıkları gıdaların duyu özellikleri iyileştirilmektedir. Antioksidanlar, antimikrobiyaller gibi aktif maddeler için taşıyıcı

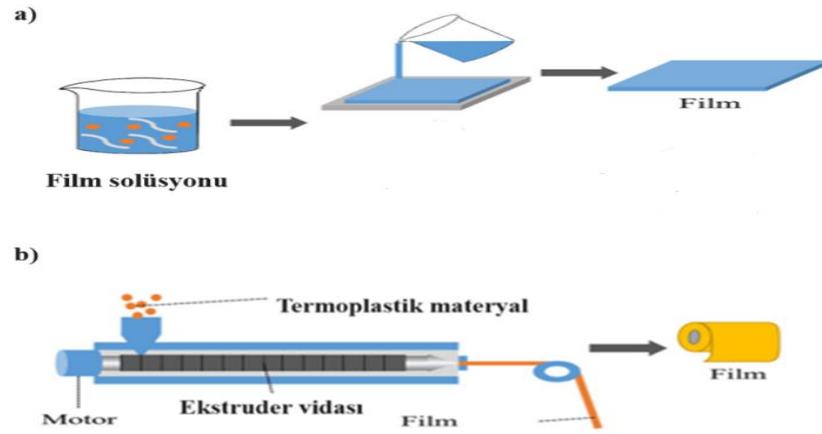
görevi görmektedir. Böylece gıdanın raf ömrünü uzatmakta ve kalitenin korunmasını sağlamaktadırlar. Biyolojik olarak parçalanabilen bu biyomateryaller sentetik ambalajların yerine kullanıldığında çevre kirliliğinin azaltılmasına katkıda bulunabilmektedir (Dhall 2013, Han 2013).

2.5.2 Sentez yöntemleri

Yenilebilir filmlerin sentezi: Yenilebilir filmler ıslak ve kuru işlem olmak üzere iki farklı şekilde üretilmektedir (Wang vd. 2022) (**Şekil 2.3**). Islak yöntem, polimerlerin film oluşumundan önce çözücü ortamında dağıtılmasını veya çözündürülmesini içerirken, kuru yöntem, toz haline getirilmiş polimerlerin sıcak presle kalıplanmasını veya eriyik ekstrüzyon işlemlerini içermektedir (Ciannone vd. 2016).

Döküm olarak da bilinen ıslak yöntem uygulama kolaylığı nedeniyle laboratuvar ve pilot ölçeklerde film oluşturmak için en yaygın kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde ilk adımda biyopolimerin uygun bir çözücü içinde çözündürülmesi sağlanır ardından ısıtma işlemi uygulanır ve en son çözelti kalıba dökülüp kurutulmaktadır (Suhag vd. 2020). Islak yöntem ile üretilen filmlerde uygulanan kurutma sıcaklığı, kurutma hızı ve nem içeriği, filmlerin yapısı ve performansı üzerinde büyük etkiye sahiptir (Chen vd. 2022). Islak yöntemin uygulanması basit olmasına rağmen, filmlerin kuruma süresinin uzun olması enerji tüketimini ve üretim maliyetini artırabilmektedir. Bu durum ıslak yöntemin büyük ölçekte uygulanmasını kısıtlamaktadır.

Kuru yöntem prosesinin temeli mekanik ve termal enerjiye dayanmaktadır. Kuru yöntem için ilk önce toz biyopolimer besleme hunisine eklenir ve döner bir vida kullanılarak sıkıştırılır. Bu aşamada, sıkıştırma sürecini hızlandırmak ve filmin esnekliğini, dayanıklılığını arttırmak için plastikleştirici eklenmektedir (Hernandez-Izquierdo ve Krochta 2008). Kuru işlemin daha kısa kuruma süresi gerektirmesi, enerji tüketimini azaltması, su ve çözücünün minimum düzeyde kullanılması büyük ölçekli endüstriyel üretimde ıslak proses yöntemine göre daha kullanışlı olmasını sağlamıştır (Suhag vd. 2020).



Şekil 2.3 Filmlerin hazırlanma yöntemleri a) ıslak ve b) kuru

Yenilebilir kaplamaların sentezi: Gıda kaplama yönteminin seçimi, kaplanacak olan gıdanın yapısına, yüzey özelliklerine ve viskozite, yüzey gerilimi gibi kaplama malzemelerinin fiziksel özelliklerine bağlıdır. Kaplama yöntemleri arasında daldırma, akışkan yataklı işleme, spreyleme, tavalama yer almaktadır (Wu vd. 2023) (Şekil 2.4).

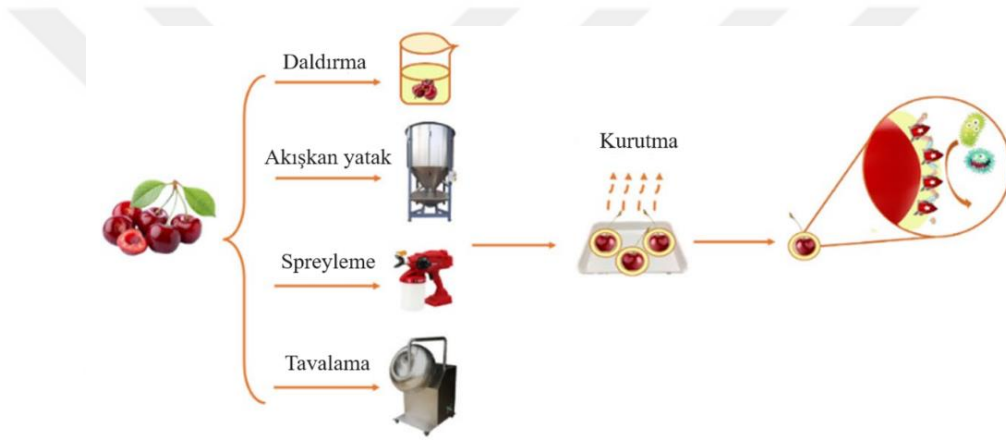
Daldırma yönteminde gıda, hazırlanan kaplama çözeltisine daldırılarak gıda yüzeyinde film oluşturulması sağlanmakta ardından kurutma işlemi uygulanmaktadır. Bu yöntem sebze ve meyvelerde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Akışkan yataklı kaplama, buğday veya fındık gibi çok küçük boyutlu gıda ürünlerini kaplamak için kullanılmaktadır. Kaplama solüsyonu nozullar yardımıyla püskürtülmektedir. Akışkan yataklı kaplama, diğer kaplama yöntemleriyle karşılaştırıldığında büyük miktarda kaplama çözeltisi gerektirmektedir bu nedenle maliyeti yüksektir (Chawla vd. 2021 ,Kumar vd. 2022).

Spreyleme yöntemi, kaplama çözeltisinin gıda ürünün yüzeyine eşit kalınlıkta bir film oluşturacak şekilde püskürtülmesidir. Bu teknikte, kaplama solüsyonu nozul yardımıyla gıda numunesi üzerine uygulanmaktadır (Andrade vd. 2015). Solüsyon daha yüksek basınçta püskürtüldüğünde, gıda numunesi üzerinde mikrometreden nanometreye kadar değişen boyutlarda ince damlacıklar oluşturulmaktadır. Sprey kaplamanın verimliliği,

akışkanın yüzey sıcaklığı, viskozite ve sıcaklık gibi reolojik özelliklerine bağlıdır (Priya vd. 2023).

Tavalama yönteminde dönen bir kap içine yerleştirilen gıdalara nozul aracılığıyla kaplama solüsyonu püskürtülerek gıdanın yüzeyi kaplanmakta ardından hava sirkülasyonu ile kurutulmaktadır. Tavalama yöntemi, şeker ve kuruyemişlerin kaplanması için en uygun yöntemdir. Çok sayıda gıda maddesinin aynı anda kaplanmasına olanak sağlamaktadır (Kumar vd. 2022).



Şekil 2.4 Yenilebilir kaplama yöntemleri

2.5.3 Türleri

Polisakkarit bazlı filmler: Polisakkarit, monosakkaritin glikozidik bağlarla birbirine bağlanması ile oluşan uzun zincirli karbonhidrattır. Yenilebilir ambalajlarda kolayca erişilebilir olmalarından dolayı en yaygın kullanılan biyopolimerlerdir. Polisakkaritler, bitkiler (selüloz, nişasta, pektin), mantarlar (glukan), algler (aljinat, agar, karregenat) bakteriler (dekstran, ksantan, gellan), hayvanlar (örneğin kitin, kitosan ve hyaluronik asit) gibi birçok farklı kaynaktan elde edilebilmektedirler. Polisakkarit bazlı film ve kaplamalar, moleküller arası yapıları nedeniyle düşük ve orta bağıl nemde oksijen ve karbondioksit karşı iyi bariyer özelliği göstermektedir (Zhang vd. 2014, Kumar vd. 2022). Dehidrasyonu ve oksidatif acılaşmayı azaltarak sebze, meyve, kabuklu deniz

hayvanları ve et ürünlerinin raf ömrünü uzatmaktadır. Ancak hidrofilik doğaları nedeniyle nem transferine karşı zayıf bariyer özelliği göstermektedir (Hassan vd. 2018).

Karragenan, Rhodophyceae familyasının çeşitli kırmızı deniz yosunlarından elde edilen polisakkaritlerdir. İlaç ve gıda endüstrilerinde emülgatör, kıvam artırıcı ve stabilize edici bileşenler olarak kullanılmaktadırlar. Bu biyopolimerlerin sülfat içeriğine ve konumuna bağlı olarak kappa (κ), iota (ι), lambda (λ) türleri bulunmaktadır. Filmlerde genellikle kappa ve iota karragenanlar kullanılmaktadır. κ -karragenan tarafından oluşturulan jel sağlam, güçlü ve kırılğan yapıda iken ι -karragenan jelleri yumuşak, esnek ve zayıf olmaktadır (James vd. 2019).

Protein bazlı filmler: Proteinler amino asitlerin zincir halinde birbirlerine bağlanması ile oluşan heteropolimerlerdir. Amino asitlerin yapısında karboksil grubu (-COOH), amino grubu (-NH₂) ve alkil grubu (-R) bulunmaktadır. Proteinler fibröz veya globüler proteinler formunda bulunabilen bileşiklerdir. Yenilebilir film ve kaplama sentezinde jelatin, kazein, peynir altı suyu proteini, kolajen, buğday gluteni, soya proteini, fasulye proteini ve yer fıstığı proteini, hayvan ve bitki kaynaklarından elde edilen proteinler kullanılmaktadır. Genel olarak protein bazlı filmler, hidrofilik doğaları nedeniyle zayıf su buharı bariyeri sergilemelerine rağmen oksijen, karbondioksit gibi gazlara ve lipitlere karşı mükemmel bariyer özelliği göstermektedir. Proteinlerin, spesifik yapıları nedeniyle polisakkaritlerden daha iyi mekanik ve bariyer özellikleri sağladıkları gözlemlenmiştir (Zhen vd. 2022).

Lipit bazlı filmler: Doğal mumlar (bitkisel ve hayvansal mumlar), doğal reçineler (şellak reçineleri, propolis), yağ asidi (palmiye yağı, hindistan cevizi yağı) dahil olmak üzere lipit bazlı malzemeler film oluşturmada kullanıldığında su buharı ve diğer gazlara karşı bariyer oluşturmakta ve parlaklık sağlayarak film özelliklerini geliştirmektedirler (Debeaufort ve Voilley 2009). Lipitlerin film özelliklerini geliştirebilme durumu lipitin yapısına, hidrofofluğuna, fiziksel durumuna ve film yapısında bulunan diğer bileşenler ile etkileşimine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Rhim ve Shellhammer 2005). Mekanik özelliklerinin zayıf olması nedeniyle lipit filmlerinde diğer polimerlerin

kullanılması ile filmlerin özellikleri geliştirilebilmekte bu filmlere kompozit film adı verilmektedir.

Kompozit Filmler: Polisakkarit ve protein bazlı filmler iyi mekanik özelliklere sahip olmasına rağmen nem geçirgenliği yüksektir. Buna karşılık lipid bazlı filmlerin nem geçirgenliği düşük, mekanik özellikleri zayıftır (Rhim ve Shellhammer 2005). Filmlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek ve zayıf özelliklerinin üstesinden gelmek amacıyla iki veya daha fazla biyopolimerin bir araya getirilmesiyle kompozit yenilebilir filmler üretilmektedir. Böylece geliştirilmiş mekanik özelliklerden dolayı gıda için daha yüksek koruma sağlamakta bu filmlerle kaplanan gıdaların raf ömrü daha uzun olmaktadır. Kompozit filmler iki katmanlı film üretimi ile veya lipidlerin, hidrokolloidlere (polisakkaritler veya protein) ilave edilmesine dayanan emülsiyon tekniği ile sentezlenebilmektedir. İki katmanlı filmlerin hazırlanması, birden fazla kurutma ve dökme adımı gerektirdiğinden genellikle yalnızca bir adım gerektiren emülsifiye filmler tercih edilmektedir (Pavlath ve Orts 2009).

Katkı maddeleri: Polimerlerden yapılan yenilebilir filmlerin sert, kırılgan, kururken çatlamaya eğilimli olmalarından dolayı polimerin termo-plastikliğini artırmak için düşük molekül ağırlıklı hidrofilik madde olan plastikleştiriciler eklenmektedir (Suhag vd. 2020). Plastikleştiriciler polimer-polimer etkileşimlerini engeller ve moleküller arası mesafeyi artırarak, onları daha esnek, işlenebilir hale getirmekte böylece filmlerin mekanik özelliklerini geliştirmektedir (McHugh vd. 1994). Filmlerde plastikleştirici olarak sıklıkla gliserin, propilen glikol, sorbitol, sukroz, polietilen glikol ve mısır şurubu kullanılmaktadır (Kumar vd. 2019).

Makromoleküler stabilizatör sınıfı olan emulsifiyerler, karışmayan iki fazın arayüzündeki yüzey gerilimini azaltarak faz ayrılmasını önlemektedirler. Emülsifiyer olarak Span 80, Tween 20, Tween 80, lesitin ve monogliserit yağ asidi gliseritleri, gıda işleme endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.6 Kaynak Özetleri

Literatürde Soxhlet, süperkritik akışkan, ultrasonik dalga ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak SCG'den lipit ekstraksiyonunun yapıldığı çalışmalar mevcuttur. SCG'den elde edilen lipit verimi nem içeriği, parçacık boyutu, çözücü miktarı, çözücü türü, ekstraksiyon yöntemi ve ekstraksiyon süresi gibi parametrelere bağlı olarak değişmektedir (Al-Hamamre vd. 2012, Caetano vd. 2012). Aşağıda SCG'den lipit ekstraksiyonuna yönelik çalışmalar özetlenmiştir.

Couto vd. (2009) SCG'den ve çevre dostu yöntem olarak süperkritik CO₂ ekstraksiyon yöntemini araştırmışlardır. Çalışmada farklı sıcaklık ve basınç koşullarının ekstraksiyon hızına ve lipit bileşimine etkisini incelemişlerdir. Basıncın 30 MPa, sıcaklığın 328 K ve ekstraksiyon süresinin 3 st olduğu koşulda 15.4 g lipit/ 100 g kuru kahve ile en yüksek verime ulaşmışlardır. Verimi artırmak amacıyla yardımcı çözücü olarak etanol kullanıldığında ise 20 MPa ve 323 K'de 19.4 g lipit/100g kuru kahve değerine ulaşmışlardır. Ekstrakte edilen lipitte bulunan başlıca yağ asitlerinin linoleik asit (C18:2) ve palmitik asit (C16:0) olduğunu ve toplam yağ asidi içeriğinin yaklaşık %35'ini oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Coelho vd. (2020) süperkritik CO₂ ile SCG'den lipit ekstraksiyonuna yardımcı çözücülerin etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. Çalışmada farklı ekstraksiyon koşulları (313.2 ve 333.2 K sıcaklık 20, 30, 40 ve 50 MPa basınç ve 1.9,1.5,1.8,2.2 x (10⁻³) kg /dk karbondioksit akış hızı) incelenmiş ve yardımcı çözücü olarak farklı derişimlerde (%5-%10) etanol, izoproponal ve etil laktat kullanmışlardır. Yardımcı çözücünün kullanılmasıyla yaklaşık %11-12 lipit verimi elde etmişler ve bu değerlerin hekzan ile gerçekleştirilmiş Soxhlet ekstraksiyonunda elde edilen verimden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Akgün vd. (2014) çalışmalarında süperkritik CO₂ ortamında SCG'den lipit ekstraksiyonunda farklı proses koşullarının ekstraksiyon verimi üzerindeki etkilerini deneysel tasarım ile belirlemişlerdir. Farklı kahve dükkanlarından elde edilen SCG (1) ve SCG (2) olarak adlandırılan atıklar ekstraksiyon öncesi 60°C'de 2 gün boyunca

kurutulmuştur. Deneysel tasarımda ekstraksiyon sıcaklığı (33.18-66.81°C) ekstraksiyon süresi (19.09-220.90) ve basınç (11.59-28.40 MPa) değişken olarak belirlenirken lipit verimi ise yanıt olarak incelenmiştir. Maksimum lipit verimi 33.18 °C sıcaklıkta, 28.40 MPa basınçta ve 220.90 dk'da SCG (1) için %11.41 SCG (2) için % 10.62 bulunmuştur.

Mkhonto ve Chetty (2021) çalışmalarında SCG'den lipit ekstraksiyonunda Soxhlet ekstraksiyon sistemi ile 2-metiltetrahidrofuranın kullanımının lipit verimi üzerine etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla 3 farklı yerel kahve dükkanından SCG temin etmişler (SCG1, SCG2, SCG3) ve atıkları nem içeriği, parçacık büyüklüğü ve lipit içeriğine göre karakterize etmişlerdir. Her bir çözücü için SK oranının ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisini incelemek için farklı oranlarda (20:1 18:1 15:1 10:1 5:1) çözücü eklenerek ekstraksiyon gerçekleştirmişlerdir. Ekstraksiyon süresinin etkisini belirlemek için ise katı-sıvı 15:1 oranında sabit tutularak ekstraksiyon süresini 1 ile 8 st arasında değiştirmişlerdir. SK oranının 20:1, sürenin 6 st olduğu koşulda lipit verimi %26.34 olarak elde edilmiştir.

Literatürde SCG'den ultrasonik dalga destekli lipit ekstraksiyonun gerçekleştirildiği çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Abdullah ve Koç (2013) iki fazlı çözücü (metanol ve hekzan) sistemi kullanarak gerçekleştirdikleri lipit ekstraksiyonunda SCG'de bulunan lipitin %98'inin 30 dk'da ekstrakte edildiğini ve %13 lipit verimine ulaşıldığını bildirmişlerdir. Rocha vd. (2014) hekzan ile SCG'den lipit ekstraksiyonunda SK oranı, sıcaklık parametrelerinin etkisini araştırmışlardır. Çalışmada, SK oranı 2-4 mL/g, sıcaklık ise 20-60°C arasında incelenmiştir. En yüksek verim, 4 mL/g SK oranında 60°C'de 45 dk'da %12 olarak elde edilmiştir. Ultrasonik dalga destekli ekstraksiyon ile hekzan kullanılarak SCG'den lipit ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği bir diğer çalışmada Miladi vd. (2021) ekstraksiyon sürecini optimize etmişlerdir. Deneysel tasarım parametreleri olarak ekstraksiyon süresi (15-115 dk), SK oranı (1-24 mL/g), sıcaklık (26-59°C) incelenirken cevap olarak lipit verimi incelenmiştir. Araştırma sonucunda incelenen tüm ekstraksiyon parametrelerinin etkili olduğunu ve en etkili faktörün SK oranı olduğunu bildirmişlerdir. Sıcaklığın 65°C, SK oranının 16 mL/g ve ekstraksiyon süresinin 120 dk olduğu koşulda maksimum lipit

verimine (%12) ulaşılmıştır. Diğer bir çalışmada Erdawati vd. (2022) SCG'nin doğal derin ötektik çözücüler (Natural Deep Eutectic Solvents, NADES) ile ön işleminin lipit verimi üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmada SCG'ler kolin klorür:üre, kolin klorür:fruktoz ve kolin klorür:glikoz NADES'leri ile 55°C'de 6 dk ultrasonik banyoda ön işleme tabi tutulmuştur. SCG NADES'den buhner hunisi ile ayrılmış ve ultrasonik banyoda hekzan (1:12.5 (g/g)) ile 60°C'de 45 dk ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen lipit verimi muamele edilmemiş SCG için %13 iken muamele edilmiş SCG için %17 olarak bulunmuştur.

Literatürde hidrofobik moleküllerin farklı HDES'lerle ekstraksiyonuna yönelik çalışmalar yer almaktadır. Bu çalışmalarda yağ asidi bazlı (kaprilik:kaprik asit, kaprilik:laurik asit), kuarterner amonyum tuzu bazlı (N81Cl:etilen glikol, N81Cl:kapril alkol, N4444Br: asetik asit) ve terpen bazlı (kafur:formik asit, timol:β-citronellol) HDES'ler kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Stupar vd. 2021, Khare vd. 2021, Fan vd. 2021). Ancak mentol bazlı HDES'ler kullanıldığında HBD'nin hidrofilik olması nedeniyle ekstrakte edilen maddenin saflaştırılmasının daha kolay olduğu bildirilmiştir (Wang vd. 2020). Literatürde fitokanabinoid, ergosterol ve ursolik asit gibi hidrofobik bileşenlerin mentol bazlı HDES'ler ile ekstrakte edildiği çalışmalar yer almaktadır (Krizek vd. 2018, Silva vd. 2020, Khare vd. 2021).

Bu çalışmalardan farklı olarak, literatürde hidrofobik yapıda olan kamferol, astaksantin ve tanşinon (tanshinones) gibi bileşenlerin, hidrofilik yapıda olan kolin klorür bazlı DES'ler ile ekstrakte edilebildiği gösterilmiştir. Bu çalışmalarda DES bileşenlerinin yüksek çözme kapasitesi nedeniyle hidrofobik özellikteki moleküller ile de etkileşebildiği ve ekstrakte edebildiği belirlenmiştir (Zhang vd. 2014, Chen vd. 2016, Bildik 2021).

Literatürde çeşitli kaynaklardan ekstrakte edilen lipitlerin karragenan bazlı yenilebilir film ve kaplamaların sentezinde kullanıldığı çalışmalara örnekler aşağıda sunulmuştur.

Aliabadi vd. (2013) κ-karragenan bazlı filmlere farklı derişimlerde (%1, %2, %3) eklenen *Satureja hortensis* esansiyel yağının filmlerin fiziksel, optik, mekanik özellikleri, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. *Satureja*

hortensis esansiyel yağı ilavesi ile filmlerin nem bariyer özelliklerinin geliştiğini, daha opak ve daha düşük nem içeriğine sahip film elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bunlara ek olarak filmlere eklenen esansiyel yağ oranı arttıkça toplam fenol (TP) miktarı ve antioksidan aktivitesinin (AA) arttığını belirtmişlerdir. En yüksek TP miktarı 20.56 mg/g, en yüksek AA ise %78.99 olarak tespit edilmiştir. Filme katılan esansiyel yağ oranı arttıkça gıda patojenlerinin (*S.aureus*, *B.cereus*, *E.coli*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*) gelişiminin önemli ölçüde inhibe edildiği belirlenmiştir.

Simona vd. (2021) filmlere farklı oranlarda trehaloz ve portakal esansiyel yağı ilave ederek filmlerin UV-VIS spektrumu üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, portakal esansiyel yağının trehaloz ile kombinasyonunun UV ve görünür bölgelerindeki geçirgenlik değerini azalttığını, böylece üretilen filmlerin UV bariyer görevi görebileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca sentezlenen filmlerin gram pozitif bakterilere (*S.aureus*) karşı dirençli olduğunu tespit etmişlerdir.

Nazurah ve Hannani (2017) farklı bitkisel yağların (zeytinyağı, mısır yağı, soya fasulyesi yağı ve ayçiçek yağı) κ -karragenan filmlerinin fiziksel ve mekanik özellikleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bitki yağlarının κ -karragenan bazlı filmlere dahil edilmesi ile nem içeriğinin ve gerilme direncinin azaldığını su buharı geçirgenliğinin arttığını tespit etmişlerdir. Zeytinyağı diğer yağlara kıyasla filmin özelliklerini geliştirme açısından daha başarılı bulunmuştur.

Literatürde filmde SCG'den ekstrakte edilen lipitin kullanıldığı tek çalışma olan Dordovic vd. (2023)'nin çalışması aşağıda özetlenmiştir.

Araştırmacılar Arabica ve Robusta çekirdeklerinden elde edilen SCG'leri hekzan ile karıştırıp dört gün bekletmelerinin ardından filtre kağıdından geçirmişlerdir. Süzüntüden hekzanın uzaklaştırılması için 4 saat (250 rpm) boyunca karıştırılmıştır. Elde edilen lipit 0.1, 0.45, 0.8 ve 1 g tartılarak κ -karragenan bazlı filmlere eklenmiştir. Çalışma sonunda araştırmacılar filmlere daha yüksek derişimlerde SCG lipiti eklendiğinde, polifenol içeriğinin ve % kopma uzaması değerlerinin arttığını nem içeriği değerlerinin ise azaldığını tespit etmişlerdir.

Yukarı özetlenen çalışmalar incelendiğinde SCG'den lipit ekstraksiyonunda en çok süperkritik CO₂ ekstraksiyonu kullanıldığı, bunun dışındaki yöntemlerde çoğunlukla toksik organik çözücülerin kullanıldığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada ise SCG'den lipit ekstraksiyonunda ilk kez DES'lerin kullanımı araştırılmıştır. Ekstraksiyonda etkin bir yöntem olan ultrasonik ekstraksiyon kullanılmıştır. DES'lerin hidrofobik ve hidrofilik olmak üzere iki farklı türü incelenmiştir. En yüksek lipit verimini sağlayan DES'ler için lipit verimi deneysel tasarım ile optimize edilmiştir. Bu tez çalışması, SCG'den DES'ler ile geleneksel olmayan çevre dostu bir yöntem olan ultrasonik dalga ekstraksiyonu kullanılarak lipitin geri kazanılması ve elde edilen lipitin hem saf hem de DES ile karışım halinde yenilebilir film sentezinde kullanılması açısından özgün bir çalışmadır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmada kullanılmak üzere Starbucks House Blend öğütülmüş kahve yerel bir marketten temin edilmiştir. Deneysel çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar sırasıyla **EK 1** ve **EK 2**'de verilmiştir.

3.2 Demlenmiş Kahve Posasının Hazırlanması

Çalışmada kullanılan demlenmiş kahve posası, 12 g kahve üzerine 400 mL su ilave edilerek 80°C sıcaklıkta 2 dk demleme süresinden sonra süzülmesi ile elde edilmiştir. 60°C'de 24 st etüvde (Zhichang- ZRD 5110) kurutulmuştur ve kuru ve serin ortamda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.3 Yeşil Çözücülerin Hazırlanması

Hazırlanan yeşil çözücülerin bileşenleri, mol oranları, kısaltmaları ve sentez sıcaklıkları **çizelge 3.1**'de verilmiştir. Yeşil çözücüler uygun mol oranındaki bileşenlerin tartılması ve uygun sıcaklıkta berrak bir sıvı oluşana kadar, manyetik karıştırıcıda karıştırılması ile hazırlanmıştır. Çalışmada mentol bazlı hidrofobik ve kolin klorür bazlı hidrofilik DES'ler kullanılmıştır. Mentol bazlı olan HDES'lerin hazırlanması için hidrojen bağı donörü (HBD) olarak laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve laurik asit kullanılmıştır. Kolin klorür bazlı hidrofilik DES'ler için ise HBD olarak üre ve sitrik asit kullanılmıştır. Mentol ve kolin klorür kullanımdan önce en az 24 st boyunca bir desikatörde bekletilmiştir.

Çizelge 3.1 DES türleri ve bileşimleri

DES grubu	DES bileşenleri	Kısaltma	Sentez sıcaklığı	Referans
Mentol bazlı	Mentol-laktik asit	MLA (1:1)	80 °C	Křížek vd. 2018
		MLA (1:2)	80 °C	Zarei vd. 2018
	Mentol-asetik asit	MAA (1:1)	80 °C	Florindo vd. 2017
		MAA (1:2)	80 °C	Kurtulbaş vd. 2022
Kolin klorür bazlı	Mentol-propiyonik asit	MPA (1:1)	80 °C	Křížek vd. 2018)
	Mentol-laurik asit	MLau (1:2)	80 °C	Zarei vd. 2018
	Kolin klorür-üre	CU (1:1)	50 °C	Viñas-Ospino vd. 2023
		CU (1:2)	80 °C	Asevedo vd. 2023
	Kolin klorür-sitrik asit	CCA (1:1)	80 °C	Shafie vd. 2019
		CCA (2:1)	80 °C	Shafie vd. 2019

3.4 Lipit ve Çözücülerin Karışabilirliğinin İncelenmesi

SCG'den lipit ekstraksiyonunda kullanılacak olan mentol bazlı HDES'lerin ekstrakte edilen lipit ile karışabilirliklerinin incelenmesi için ön denemeler yapılmıştır. Hekzan ile SCG'den ekstrakte edilen lipit (SK oranı=3 mL/g, T=60°C, t=30 dk) deney tüpüne alınmış ve ekstraksiyonda kullanılması planlanan HDES'ler ile 1:1 oranında karıştırılarak vortekslenmiştir. Lipit ile karışmadığı gözlenen tek DES olan MLA (1:2) ekstraksiyonlarda kullanılmamıştır. Faz ayrımının gerçekleşmediği, lipit ile karışabilir durumda olan HDES'ler ile ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir.

3.5 Ultrasonik Dalga Ekstraksiyonu

DES türü, DES miktarı, süre, SK oranı ve sıcaklık gibi farklı ekstraksiyon parametrelerinin etkilerinin incelenmesi amacıyla ultrasonik banyo kullanılmıştır (Elma S30H, Singer, Almanya).

DES türü etkisinin incelendiği deney setinde DES miktarı %100, SK=8 mL/g, t=30 dk, T=60°C olarak ayarlanmıştır. Kontrol olarak kullanılan hekzan ile SK=8 mL/g t=30 dk T=60°C olduğu koşulda ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Yeşil çözücü miktarının etkisinin incelendiği deney setinde %50, %75, %100 oranlarında DES'ler kullanılmış ve bu sırada diğer parametreler SK=8 mL/g, t=30 dk, T=60°C olarak ayarlanmıştır. En iyi lipid verimini sağlayan DES miktarları mentol bazlı DES'ler için %100, kolin klorür bazlı DES'ler için ise %50 olarak belirlenmiştir. DES türü ve miktarının etkisinin incelendiği deney setlerinin tamamlanmasının ardından kalan deneylere en yüksek lipid veriminin elde edildiği hidrofobik DES olan %100 MAA (1:1) ve hidrofilik DES olan %50 CU (1:1) ile devam edilmiştir. SK oranının etkisinin incelenmesi amacıyla 5 mL/g, 8 mL/g, 16 mL/g (T=60°C ve t=30 dk), ekstraksiyon sürenin etkisinin incelenmesi amacıyla 15, 30, 60, 120 dk, (SK=16 mL/g, T=60°C) ve sıcaklık etkisinin incelenmesi amacıyla 30°C, 60°C ve 75°C (SK=16 mL/g, t=60 dk) değerlerinde deneyler gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonra ekstratlar 25°C'de 6000 rpm hızında 10 dk santrifüjlenmiş, katı faz lipid veriminin belirlenmesinde kullanılmış, sıvı faz ise yağ asidi profilinin belirlenmesi amacıyla GC'de analizlenmiştir.

3.6 GC Analizi

Örneklerin yağ asidi profilleri, yağ asidi metil esteri (FAME) ile belirlenmiştir. Yağ asidi metil esteri oluşturulması için 200 µL örnek üzerine 20 µL 2N KOH/metanol çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan tüm karışımlar 15 saniye boyunca vortekslenmiştir. Vortekslenen karışımlardaki metil esterleri vialle alınarak GC'de analizlenmiştir. GC koşulları **çizelge 3.2**'de verilmiştir. Her bir ekstrat ve çözücüsü olan DES için GC analizleri gerçekleştirilmiş ve kromatogramlar üst üste çakıştırılarak çözücü olan DES'ten kaynaklı pikler elimine edilerek yağ asidi profilleri listelenmiştir.

Çizelge 3.2 GC analiz koşulları

Cihaz	: Shimadzu 2010 Plus		
Kolon	: RT-2560 (100 m x 0.25 mm x 0.20 µm)		
Enjeksiyon	Hacim : 1 µL Sıcaklık : 240 °C Basınç : 261.5 kPa Taşıyıcı gaz : He		
Fırın	Başlangıç sıcaklığı : 100°C Toplam zaman 67.67 dk		
Fırın programı	: Artış oranı (°C/dk)	Sıcaklık (°C)	Bekleme süresi (dk)
	-	100	4
	3	240	12

3.7 Lipit Veriminin Hesaplanması

Lipit veriminin belirlenmesi için santrifüj sonrası kalan SCG filtre kağıdına alınarak saf su ile birkaç kez yıkanmış ardından 24 st 60°C’de etüvde kurutularak tartılmıştır. Verim **eşitlik 3.1** kullanılarak ekstraksiyon öncesi ve sonrası elde edilen kuru ağırlıklar yardımıyla hesaplanmıştır.

$$Verim = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (3.1)$$

m_1 = ekstraksiyon öncesi kuru ağırlık

m_2 = ekstraksiyon sonrası kuru ağırlık

3.8 Deneysel Tasarım ve Optimizasyon

SCG’den lipit ekstraksiyonunda en yüksek verimi sağlayan hidrofobik MAA (1:1) (%100) ve hidrofilik CU (1:1) (%50) çözücüleri kullanılarak deneysel tasarım ve optimizasyon gerçekleştirilmiştir. Buna göre bağımsız değişkenler olarak sıcaklık (T),

ekstraksiyon süresi (t) ve SK oranı seçilmiş ve bu parametrelerin cevap olarak belirlenen lipit verimi üzerine etkisi Box-Behnken tasarımı (BBT) kullanılarak incelenmiş ve yanıt yüzeyleri elde edilmiştir (Design-Expert® 9.0. Stat-Ease, Inc., USA). Tasarımda kullanılan bağımsız değişkenler ve seviyeleri **çizelge 3.3**'te 17 deneysel noktadan oluşan BBT ise **çizelge 3.4**'te verilmiştir.

Çizelge 3.3 Deneysel tasarımın bağımsız değişkenleri ve seviyeleri

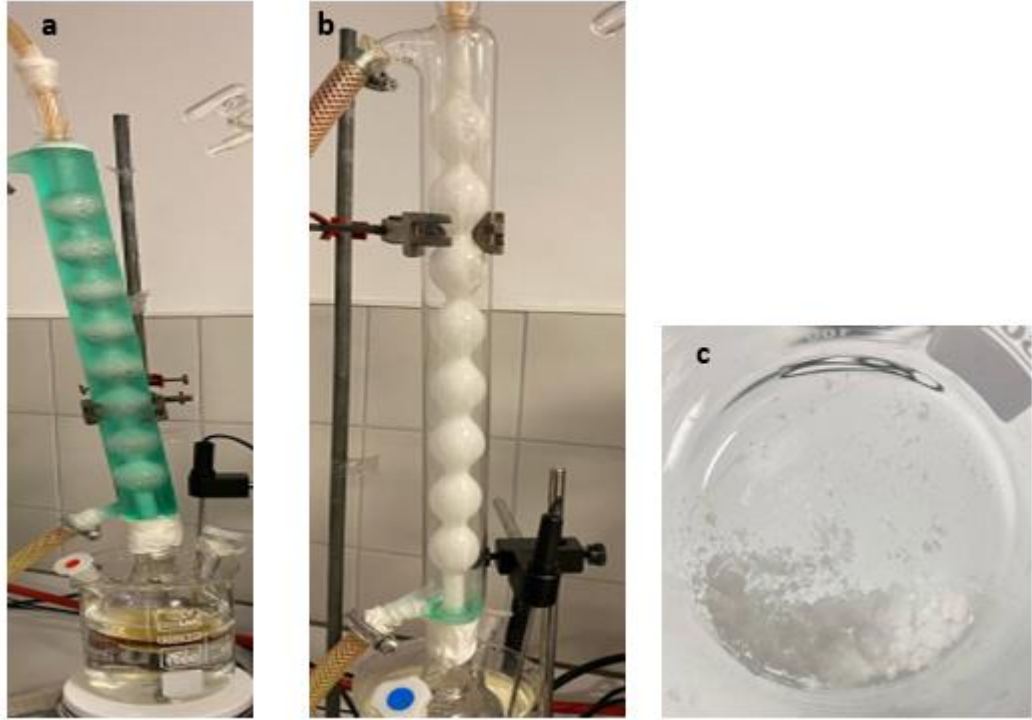
Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri		
	-1	0	1
A- SK oranı (mL/g)	5	12.5	20
B-Sıcaklık (°C)	30	50	70
C-Süre (dk)	15	52.5	90

Çizelge 3.4 Box-Behnken tasarımı ile elde edilen deney setleri

Deney	Faktör 1 A:SK oranı (mL/g)	Faktör 2 B: T (°C)	Faktör 3 C:t (dk)
1	12.50	50	52.50
2	5.00	50	15.00
3	12.50	50	52.50
4	12.50	50	52.50
5	12.50	30	90.00
6	5.00	70	52.50
7	20.00	50	90.00
8	12.50	70	15.00
9	5.00	30	52.50
10	12.50	50	52.50
11	12.50	70	90.00
12	20.00	50	15.00
13	12.50	30	15.00
14	5.00	50	90.00
15	20.00	70	52.50
16	12.50	50	52.50
17	20.00	30	52.50

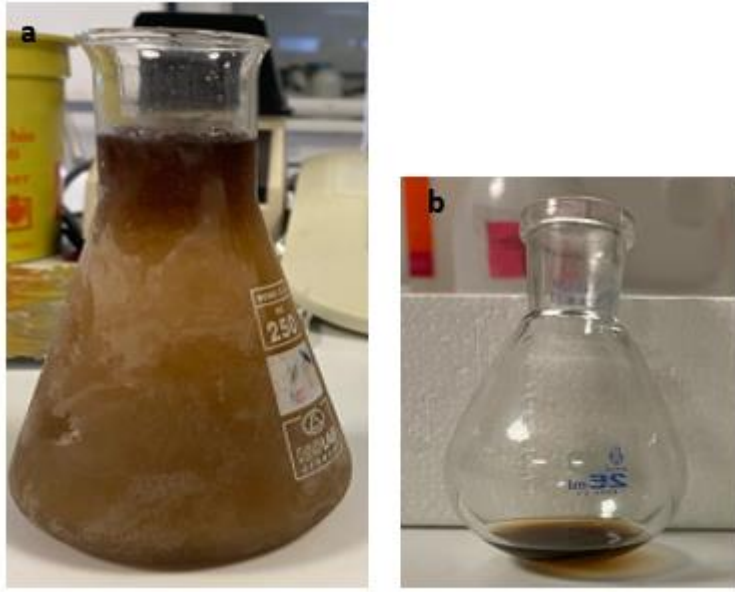
3.9 Lipitin Saflaştırılması

En yüksek lipit veriminin elde edildiği çözücüler olan MAA (1:1) ve CU (1:1) ile optimum koşullarda ekstraksiyon gerçekleştirildikten sonra lipitin saf halde elde edilebilmesi için her iki ekstreye de 1:10 oranında su eklenerek manyetik karıştırıcıda 10 dk karıştırılmış ve DES bileşenleri arasındaki hidrojen bağlarının bozulması sağlanmıştır (Shah ve Mjalli, 2014; L. T. Wang vd. 2020). MAA (1:1) içeren ekstrede asetik asit sulu faza geçmiş ve mentol ve lipit hidrofobik fazda kalmıştır. Fazların birbirinden ayrılması için 6000 rpm’de 10 dk santrifüj gerçekleştirilmiş ve sulu faz uzaklaştırılarak hidrofobik faz bir balona alınmıştır. Balona geri soğutucu takılarak 70°C’de su banyosuna yerleştirilmiş ve geri soğutucunun üst tarafından vakum uygulanarak ısıyla buharlaşan mentolün geri soğutucu iç yüzeyinde donması sağlanarak mentol geri kazanılmıştır (Şekil 3.1c). Saflaştırma için kurulan düzenek **şekil 3.1**’de verilmiştir.



Şekil 3.1 MAA (1:1) ile ekstrakte edilen lipitin saflaştırılması (a) Mentol ve lipit karışımından mentolün uzaklaştırılması için kurulan düzenek, (b) Geri soğutucu içinde donmuş olan mentol, (c) Geri kazanılan mentol

Hidrofilik yapıda olan CU (1:1) DES'ine aşırı miktarda su eklenmesinin ve karıştırılmasının ardından tüm DES bileşenleri sulu faza geçmiş ve lipitin ayrılması için +4°C'de 24 st bekletilmiş ardından -20°C'de 24 st dondurulmuştur (**Şekil 3.2**). Bu sayede lipit fazı üste çıkarak su fazından farklı bir faz oluşturmuştur ve dondurucudan çıkartıldığı an hızlıca eriyerek donmuş haldeki sulu fazdan ayrılmıştır. Toplanan lipit fazı içinde kalma ihtimali olan suyun uzaklaştırılması için döner buharlaştırıcıya alınmış ve ardından lipit saf olarak elde edilmiş ve dondurulmuştur (**Şekil 3.2**).



Şekil 3.2 CU (1:1) ile ekstrakte edilen lipitin saflaştırılması (a) Ekstre üzerine eklenen aşırı su ve ekstrenin -20°C'de dondurulmuş görüntüsü (b) Ayrılan lipit fazı

3.10 Antioksidan Aktivite Tayini

Toplam antioksidan aktivite, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal yakalama yöntemiyle belirlenmiştir (Fernando ve Soysa, 2015). 60 µL ekstre, 1140 µL DPPH (100 µM) ile karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dk bekletildikten sonra 517 nm'de absorbans okunmuştur. Aynı prosedür numune olmadan kontrol ($A_{kontrol}$) için de gerçekleştirilmiştir. DPPH giderimi (% inhibisyon) **eşitlik 3.2'**den hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.11 Yenilebilir Film Sentezi

Yenilebilir film sentezinde polimer olarak κ -karregen an plastikleştirici olarak gliserol ve emülgatör olarak Tween-80 kullanılmıştır (Shojaee-Aliabadi vd. 2014). Yenilebilir film sentezinde iki farklı yöntem kullanılmıştır. Yöntemlerin birinde deneysel tasarım sonucu optimize edilen koşullarda elde edilmiş ekstrelerden saflaştırılmış olan lipidler katkı maddesi olarak kullanılmış, diğ erinde ise kokusuz olan CU (1:1) ekstresi saflaştırılmadan direkt plasitkleştirici olan gliserol içine farklı oranlarda eklenmiştir.

Saflaştırılmış lipidin katkı maddesi olarak kullanımı: Polimer olarak kullanılan κ -karragenanın %1’lik, (a/h) çözeltisi üzerine %30 gliserol ilave edilerek 80°C ve 400 rpm’de 25 dk boyunca karıştırılmıştır. Toplam 6 mL olarak hazırlanan çözelti üzerine farklı oranlarda saflaştırılmış lipidler eklenmiştir (%1, 2, 3 ve 5). Eklenen lipidin 1/10’u kadar Tween 80 ilave edilerek ultrasonik banyoda 80°C 5 dk boyunca homojenizasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve 65°C’ye soğutulduktan sonra 9.6 cm çapındaki cam petrilere aktarılmış ve etüvde 30°C’de 24 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Kontrol olarak ekstrenin eklenmediği film kullanılmıştır. Lipit içeren filmler içerdikleri lipit miktarına göre MAA1, MAA2, MAA3, MAA5, CU1, CU2, CU3, CU5 kontrolleri ise K olarak adlandırılmıştır.

Ekstrenin yapıya katılması: CU (1:1) NADES’i MAA (1:1)’den farklı olarak kokusuz olduğundan yenilebilir filme direkt ekstre halinde eklenmesinin etkisinin incelenebilmesi amacıyla plastikleştirici olan gliserolün %5, 10, 20, 30 ve 50’si kadar ekstre çözeltiye ilave edildikten sonra yukarıda verilen prosedürle filmler hazırlanmıştır. Kontrol olarak hazırlanan filmlerde ekstre yerine, çözücüsü olan %50 CU (1:1) kullanılmıştır. Ekstrenin yapıya eklendiği filmler YE5, YE10, YE20, YE30 ve YE50 olarak, kontrolleri ise YK5, YK10, YK20, YK30 ve YK50 olarak adlandırılmıştır. **Çizelge 3.5**’te hazırlanan yenilebilir filmler, özellikleri ve kısaltmaları verilmiştir.

Çizelge 3.5 Yenilebilir filmler, bileşimleri ve kısaltmaları

Film	Eklenen lipit miktarı, % (toplam hacmin)	Eklenen ekstre miktarı, % (gliserol hacminin)	Eklenen çözücü miktarı, % (gliserol hacminin)
K	-	-	-
CU1	1	-	-
CU2	2	-	-
CU3	3	-	-
CU5	5	-	-
MAA1	1	-	-
MAA2	2	-	-
MAA3	3	-	-
MAA5	5	-	-
K5	-	-	5
E5	-	5	-
K10	-	-	10
E10	-	10	-
K20	-	-	20
E20	-	20	-
K30	-	-	30
E30	-	30	-
K50	-	-	50
E50	-	50	-

3.12 Yenilebilir Film Analizleri

3.12.1 Kalınlık ölçümü

Sentezlenen filmlerin 0.01 hassasiyete sahip manuel mikrometre (Temak, İstanbul, Türkiye) ile 3 farklı yerden kalınlıkları ölçülmüş ve bu ölçümlerin ortalamaları alınmıştır (Simona vd. 2021).

3.12.2 Geçirgenlik ve şeffaflık ölçümü

Filmlerin geçirgenlik ve şeffaflık değerlerinin belirlenebilmesi için 3 cm x 3 cm boyutlarında kesilen filmlerin ultraviyole (UV) (356 nm) ve görünür (Vis) (600 nm) dalga boylarında geçirgenlik değerleri kaydedilmiştir. Şeffaflık değeri **eşitlik 3.3** kullanılarak belirlenmiştir (Han ve Floros, 1997).

$$\text{Şeffaflık değeri} \left(\frac{Abs}{mm} \right) = \frac{\log T_{600}}{x} \quad (3.3)$$

Eşitlikteki T_{600} 600 nm'deki geçirgenlik değeri (%) x filmin kalınlığını göstermektedir (μm).

3.12.3 Nem içeriği tayini

2 cm x 2 cm boyutlarında kesilen filmlerin ağırlıkları ölçüldükten sonra etüvde 105 °C sıcaklıkta 2 st kurutulmuş ve son ağırlıkları ölçülmüştür. Nem içeriği **eşitlik 3.4** kullanılarak belirlenmiştir (Jancikova vd. 2020).

$$\text{Nem içeriği (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \quad (3.4)$$

Eşitlikte W_1 filmlerin kurutma öncesi ağırlığını W_2 filmlerin kurutma sonrası ağırlığını göstermektedir.

3.12.4 Antioksidan aktivite tayini

Filmlerin AA değerleri, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal giderme yöntemiyle Bölüm 3.10'da verilen yöntemle ölçölmüştür. Örnek çözeltisi için 25 mg yenilebilir film 4 mL suda çözönmüştür (Velásquez vd. 2021).

3.12.5 Fourier dönüştümlü kızılötesi spektroskopisi analizleri

Yenilebilir filmlerin FTIR analizleri 4000-400 cm⁻¹ aralığında Attenuated Reflectance (ATR) FTIR ile (Jasco (FT/IR-4600)) Ankara Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir.

3.12.6 Taramalı elektron mikroskobu analizleri

Yenilebilir filmlerin SEM analizi Ankara Üniversitesi Nökleer Bilimler Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiş olup 15 kV'luk voltaj ve x1000 büyütme kullanılarak görüntü alınmıştır (ZEISS, Evo 40).

3.12.7 Mekanik özelliklerin analizi

Hazırlanan yenilebilir filmlere çekme testi uygulanmıştır (50N yük, 5 mm/dk hız) (Shimadzu, AGS-X). Örneklere uygulanan çekme yükü ve örneklerde meydana gelen uzama miktarı zamana bağlı olarak kaydedilmiştir. Mühendislik gerilmesi (σ) ve mühendislik gerinmesi (ϵ) **eşitlik 3.5** ve **eşitlik 3.6** ile hesaplanmıştır.

$$\sigma(\text{MPa})=F/A \quad (3.5)$$

F: kopma anında uygulanan maksimum kuvvet (N)

A : kesit alanı (mm²)

$$\epsilon = (l_i - l_0)/l_0 \quad (3.6)$$

l_i : ilk uzunluk (mm)

l_0 : son uzunluk (mm)

Kopma uzaması (KU%) ise **eşitlik 3.7** ile hesaplanmıştır.

$$KU (\%) = \left(\frac{l_i - l_0}{l_0} \right) \times 100 \quad (3.7)$$

Bu değerler yardımıyla elde edilen mühendislik gerilmesi (σ) - mühendislik gerinmesi (ϵ) eğrisinin eğiminden Young modülü (YM) ve maksimum gerilme olduğu noktadan gerilme direnci (GD) hesaplanmıştır. Ölçümler Ankara Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir.

3.12.8 Antimikrobiyal aktivitelerin belirlenmesi

Filmlerin ve ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi, Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir. Filmlerin antimikrobiyal aktiviteleri, saflaştırılmış lipidlerin katkı maddesi olarak kullanıldığı MAA5, CU5 filmleri ve kontrolü (K) ayrıca ekstrenin yapıya katıldığı E20 ve kontrolü (K20) için ölçülmüştür. Bu amaçla gıda kaynaklı enfeksiyonlara ve gıda bozulmalarına neden olan üç farklı gram negatif bakteri (*Escherichia coli* ATCC 43888, *Salmonella infantis* ATCC 51741 ve *Salmonella typhimurium* SL 1344) ve iki farklı gram pozitif bakteriye (*Listeria monocytogenes* ATCC 13932 ve *Listeria monocytogenes* ATCC 7644) karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Shen vd. 2010, Simona vd. 2021). Yenilebilir filmler 6 mm çapında disk şeklinde kesilmiş ve fiziksel dezenfeksiyon için 1 saat süreyle UV ışığına (dalga boyu 260 nm) maruz bırakılmıştır. Gliserol içerisinde stok kültür halinde -20°C'de saklanan patojen bakteriler Brain Heart Infusion (BHI, Merck, Almanya) sıvı besiyerinde 37°C'de 24 st süreyle inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. 0.5 Mc Farland standardına göre hazırlanan her bir patojen bakteri kültürü BHI yarı katı besiyerine (%0.75 gr agar içeren) inoküle edilmiş ve ardından petri içerisinde hazırlanan BHI katı (%1.5 gr agar içeren) yüzeyine yayılmıştır. Besiyerinin katılaşmasını takiben hazırlanan diskler belirli aralıklarla yüzeye yerleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak antibiyotik içeren diskler

kullanılmıştır. 37°C’de 24 saat inkübasyonu takiben diskler etrafında oluşan inhibisyon zonları bir cetvel yardımıyla ölçülmüştür.

Filmler için gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite ölçümleri, CU (1:1) ekstresi ve saflaştırılmış lipidler için agar kuyu difüzyonu yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Disk difüzyon yöntemine benzer şekilde agar üzerine bakteri kültürü inoküle edilmiş ve yayılmıştır. Katılaştıran agarlar üzerinde steril bir uç ile aseptik olarak kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuk içerisine gözenek boyutu 0.22 µm olan filtreden geçirilerek steril edilen örneklerden 100 µL konulmuş ve 37°C’de 24 st inkübe edilmiş ardından diskler etrafında oluşan inhibisyon zonları bir cetvel yardımıyla ölçülmüştür.

3.13 İstatiksel Analiz

Tüm ekstraksiyonlar ve analizler üç tekrarlı halinde gerçekleştirilmiş ve ortalama değerler $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile GraphPad Prism Version 10.0.2 kullanılarak yapılmış ortalama değerler $p < 0.05$ olduğunda anlamlı olarak kabul edilmiştir. Veri analizinde varyans ve yanıt yüzeylerinin analizi, regresyon denklemleri ve optimum parametrelerin belirlenmesi amacıyla Design-Expert® 9.0 (Stat-Ease, Inc., ABD) yazılımı kullanılmıştır.

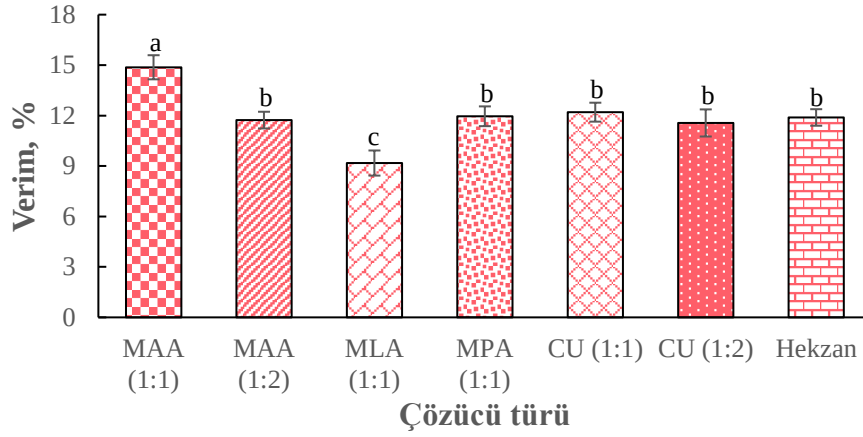
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Demlenmiş Kahve Posasından Lipit Ekstraksiyonu

4.1.1 Yeşil çözücü türünün etkisi

Çalışmada mentol bazlı hidrofobik HDES'lerin yanı sıra literatürde hidrofobik moleküllerin ekstraksiyonunda etkili olduğu belirlenmiş olan kolin klorür bazlı hidrofilik DES'ler de SCG'den lipit ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Mentol bazlı DES'ler olarak MAA (1:1), MAA (1:2), MLA (1:1), MPA (1:1), MLau (1:1) ve kolin klorür bazlı CU (1:1), CU (1:2), CCA (1:1) ve CCA (1:2) hazırlanmıştır (**Çizelge 3.1**). Ancak hidrofilik DES'ler arasında yer alan CCA (1:1) ve CCA (1:2) viskozitelerinin çok yüksek olması nedeniyle, mentol bazlı MLau (1:1) ise stabil olmaması nedeniyle deneylerde kullanılamamıştır.

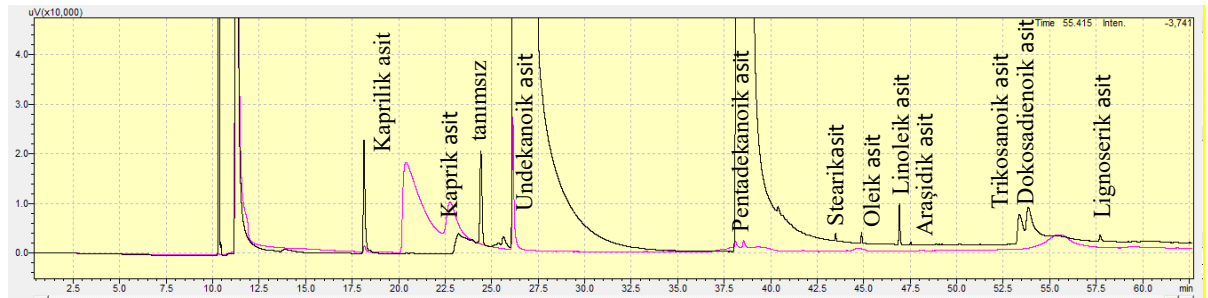
Farklı DES türlerinin lipit verimi üzerine etkisi **şekil 4.1**'de verilmiştir. Buna göre DES'ler arasında en yüksek verim 14.87 ± 0.71 ile MAA (1:1) ile elde edilirken en düşük verim ise 9.17 ± 0.74 ile MLA (1:1) ile elde edilmiştir. Diğer DES'ler ile elde edilen lipit verimleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). Lipit verimi, Mentol/HBD mol oranının 1:1'den 1:2'e değişmesiyle azalmış ve MAA (1:2) ile 11.73 ± 0.49 değeri elde edilmiştir. Kolin klorür bazlı DES'ler incelendiğinde ise verimin 12 civarında olduğu, CU (1:1) ve CU (1:2) arasında istatistiksel fark olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). Kontrol deneyi olarak gerçekleştirilen hekzan ile ekstraksiyon sonucunda verim 11.88 ± 0.49 olarak bulunmuştur. Kullanılan yeşil çözücüler arasından MAA (1:1)'in öne çıktığı ancak diğer yeşil çözücülerin de hekzan ile benzer performansta olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1 Farklı çözücü türlerinin lipid verimine etkisi

Farklı harfler, istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$)

Elde edilen ekstrelerin yağ asidi profillerinin incelenebilmesi amacıyla GC analizleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.2’de örnek bir kromatogram yer almaktadır. Elde edilen tüm ekstreler ve çözücülerin analizleri gerçekleştirildikten sonra üst üste çakıştırılmış ve ekstreya ait olan yağ asitleri listelenerek sunulmuştur. Mentol bazlı hidroforik DES türlerinin lipid bileşimi üzerine etkisi çizelge 4.1’de verilmiştir. Buna göre linoleik asit MAA (1:2) hariç, tüm ekstrelerde elde edilen en yüksek miktardaki yağ asidi olmuştur. İkinci sırada MAA (1:1) için palmitik asit, MLA (1:1) ve MPA (1:1) için ise oleik asit yer almıştır. MAA (1:2) ile elde edilen ekstrede en yüksek yağ asidi ise heptadekanoik asit olmuştur.



Şekil 4.2 Örnek GC kromatogramı (siyah:%50 MLA (1:1) ile elde edilen ekstre, pembe: %50 MLA (1:1))

Çizelge 4.1 Mentol bazlı hidrofobik DES’ler ile elde edilen ekstrelerin yağ asidi profilleri (%)

Yağ asidi türü	DES türü			
	MAA (1:1)	MAA (1:2)	MLA (1:1)	MPA (1:1)
Palmitik asit (C16:0)	28.93	14.23	-	25.62
Heptadekanoik asit (C17:0)	-	26.04	-	-
Stearik asit (C18:0)	6.29	-	9.91	5.56
Oleik asit (C18:1n9c)	17.99	6.32	13.22	30.65
Elaidik asit (C18:1n9t)	-	21.03	-	-
Linoleik asit (C18:2n6c)	39.07	20.62	65.31	31.68
Linolenik asit (C18:3n3)	-	-	2.05	-
Araşidik asit (C20:0)	2.22	6.25	3.74	2.06
<i>cis</i> -11,14-eikosadieonik asit (C20:2)	-	5.51	2.52	-
<i>cis</i> -8,11,14-eikosatrienoik asit (C20:3n6)	0.88	-	-	-
Nervonik asit (C24:1)	3.22	-	3.25	4.43

Çizelge 4.2’de ise kolin klorür bazlı DES’ler ile ekstrakte edilen lipidlerin bileşimleri verilmiştir. CU (1:1) ile en fazla linoleik asit (%25.73), ikinci sırada elaidik asit (%21.77) ve üçüncü sırada palmitik asit (%18.17) ekstrakte edilmiştir. CU (1:2) ile ise en fazla *cis*-8,11,14-eikosatrienoik asit (C20:3n6) (%26.49), ikinci sırada kaproik asit, üçüncü sırada ise *cis*-10-heptadekanoik asit ekstrakte edilmiştir.

Hekzan ile elde edilen lipidlerin bileşimleri ise çizelge 4.3’te verilmiştir. En fazla linoleik asit (%45.54), ikinci sırada palmitik asit (%30.56) ve üçüncü sırada oleik asit (%9.01) ekstrakte edildiği belirlenmiştir.

Yağ asitlerinden palmitik, heptadekanoik, stearik, elaidik, linoleik, linolenik ve araşidik asitlerin hem mentol bazlı hem de kolin klorür bazlı DES’ler ile ekstrakte edilebildiği oleik asitin ise DES’lerden mentol bazlı olanlar ile ve ayrıca hekzan ile ekstrakte edilebildiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2 Kolin klorür bazlı hidrofilik DES’ler ile elde edilen ekstrelerin yağ asidi profilleri (%)

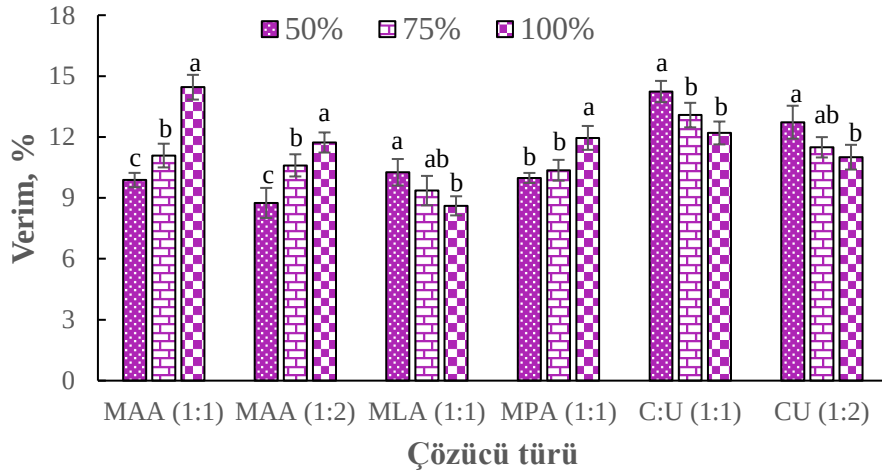
Yağ asitleri	CU (1:1)	CU (1:2)
Kaproik asit (C6:0)	0.004	23.89
Kaprilik asit (C8:0)	1.46	-
Undekanoik asit (C11:0)	0.83	0.20
Miristoleik asit (C14:1)	-	4.09
Pentadekanoik asit (C15:0)	0.21	1.27
Palmitik asit (C16:0)	18.17	4.77
Palmitoleik asit (C16:1)	-	3.38
Heptadekanoik asit (C17:0)	0.007	0.09
<i>cis</i> -10-heptadekanoik asit (C17:1)	-	11.43
Stearik asit (C18:0)	6.46	0.33
Oleik asit (C18:1n9c)	5.89	0.83
Elaidik asit (C18:1n9t)	21.77	0.58
Linoleik asit (C18:2n6c)	25.73	1.36
Linolenik asit (C18:3n3)	0.61	0.69
Gama linolenik (C18:3n6)	0.09	-
Araşidik asit (C20:0)	0.08	0.002
<i>cis</i> -11-eikosadieonik (C20:1n9)	4.54	-
Araşidonik asit (C20:4n6)	0.12	-
<i>cis</i> -11,14-eikosadieonik asit (C20:2)	0.008	8.45
<i>cis</i> -8,11,14-eikosatrienoik asit (C20:3n6)	0.006	26.49
Heneikosanoik asit	1.01	-
Erukik (C22:1n9)	1.20	-
Trikasanoik asit (C23:0)	3.73	-
<i>cis</i> -5,8,11,14,17-eikosapentanoik asit (C20:5n3) EPA	0.02	8.24

Çizelge 4.3 Hekzan ile elde edilen lipitin yağ asidi profili

Yağ asitleri	%
Linoleik asit	45.54
Palmitik asit	30.56
Oleik asit	9.01
Stearik asit	6.71
Araşidik asit	2.62
Undekanoik asit	1.86

4.1.2 Yeşil çözücü miktarının etkisi

Yeşil çözücü miktarı etkisinin incelenmesi amacıyla %50, %75 ve %100 oranlarında DES içeren çözücüler ekstraksiyonda kullanılmış ve lipit verimine etkileri **şekil 4.3**'te verilmiştir. Buna göre MLA (1:1) dışındaki mentol bazlı DES'lerde DES miktarının artması ile lipit verimi artmıştır ($p<0.05$). MLA (1:1) ile için DES miktarı arttıkça verimde azalma olmuştur. Kolin klorür bazlı DES grubunda ise aksine DES miktarı arttıkça lipit veriminin azaldığı belirlenmiştir ($p<0.05$). En yüksek verim değerleri mentol bazlı DES'ler için %100 MAA (1:1) ile kolin klorür bazlı DES'ler için ise %50 CU (1:1) ile elde edilmiştir.



Şekil 4.3 Yeşil çözücü miktarının lipit verimine etkisi

Aynı grup içindeki farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

Mentol bazlı DES'lerin %50 ve %75 oranlarında DES içerikleri ile elde edilen ekstratlarının yağ asidi profillerinde en çok bulunan yağ asidinin undekanoik asit olduğu ($>90\%$) ve diğer yağ asitleri içeriklerinin %10'dan düşük olduğu belirlenmiş ve ekte sunulmuştur (**EK3-EK4**).

Kolin klorür bazlı hidrofilik DES'lerin farklı miktarları ile ekstrakte edilen lipitlerin miktarlarına göre ilk üç sırada yer alan yağ asitleri **çizelge 4.4**'te verilmiştir. Buna göre DES miktarı değiştikçe yağ asidi içerik ve miktarlarının oldukça değiştiği belirlenmiştir. DES miktarı ile yağ asidi türü ve miktarı arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

En yüksek lipit verimi sağlayan çözücüler mentol bazlı DES'ler arasında %100 MAA (1:1), kolin klorür bazlı DES'ler arasında ise %50 CU (1:1) seçilmiştir. Elde edilen yağ asidi profillerinin seçime yönelik özel bir farklılık göstermemeleri nedeniyle çözücü seçiminde yalnızca verim göz önünde bulundurulmuştur. Devam eden deney setlerinde seçilen iki çözücü ile devam edilmiştir.

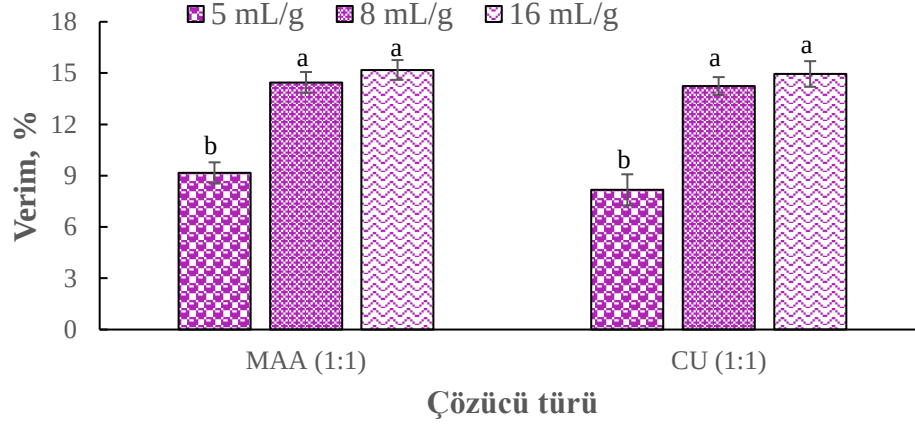
Çizelge 4.4 Kolin klorür bazlı hidrofilik DES'lerin tür ve miktarına göre elde edilen yağ asidi profilleri (%)

Yağ asidi türü	DES türü ve bileşimi					
	CU (1:1)			CU (1:2)		
	%100	%75	%50	%100	%75	%50
Linoleik asit (C18:2n6c)	25.73	-	-	-	-	-
Palmitik asit (C16:0)	18.17	-	-	-	-	-
Elaidik asit (C18:1n9t)	21.77	-	-	-	13.54	-
Kaprik asit (C10:0)	-	29.96	-	-	-	-
cis-10-heptadekanoik asit (C17:1)	-	29.96	22.21	11.43	-	-
Pentadekanoik asit (C15:0)	-	25.8	-	-	-	-
Bütirik asit (C4:0)	-	-	39	-	-	-
Lignoserik asit (C24:0)	-	-	23.99	-	17.3	5.09
cis-8,11,14-eikosatrienoik asit (C20:3n6)	-	-	-	26.49	-	-
Kaproik asit (C6:0)	-	-	-	23.89	-	-
Linolelaidik asit (C18:2n6t)	-	-	-	-	27.01	-
cis-4,7,10,13,16,19, dokosahekzaenoik asit (C22:6n3) DHA	-	-	-	-	-	77.30
Gama linolenik (C18:3n6)	-	-	-	-	-	4.37

4.1.3 Sıvı-katı oranının etkisi

SK oranının lipit verimi üzerine etkisi 5, 8 ve 16 mL/g değerlerinde incelenmiş ve sonuçlar **şekil 4.4**'te verilmiştir. Buna göre her iki DES için de SK oranın 5 mL/g'dan 8 mL/g'a artması ile lipit veriminin anlamlı olarak arttığı ($p < 0.05$) ancak 8 mL/g'dan 16 mL/g'a arttığında verimlerde anlamlı bir artış olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). En

yüksek değerler MAA (1:1) ile 15.18 ± 0.57 olarak, CU (1:1) ile 14.94 ± 0.75 olarak elde edilmiştir.

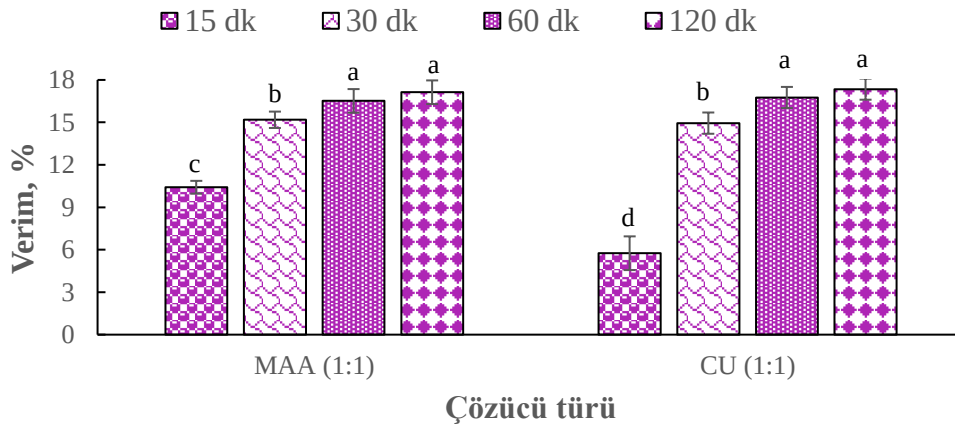


Şekil 4.4 Farklı çözücüler için SK oranının lipit verimine etkisi

Aynı grup içindeki farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$)

4.1.4 Ekstraksiyon süresinin etkisi

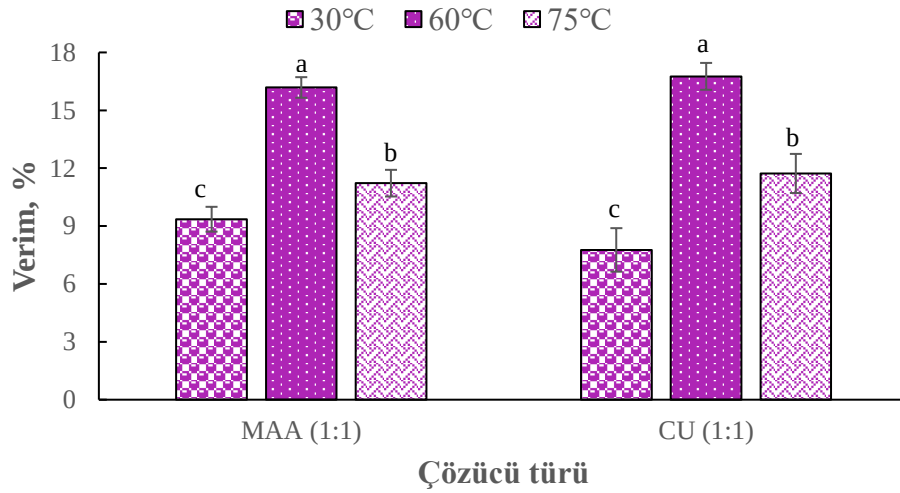
SCG'den lipit ekstraksiyonu üzerine sürenin etkisinin incelenebilmesi amacıyla 15, 30, 60 ve 120 dk boyunca ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiş ve sonuçlar **şekil 4.5**'te verilmiştir. Buna göre her iki DES türü için lipit veriminin 60 dk'ya kadar arttığı, 60 dk'dan sonra ise verimde anlamlı bir değişikliğin olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$). Ekstraksiyon prosesinde enerji tasarrufunun sağlanması amacıyla 60 dk seçilmiştir.



Şekil 4.5 Farklı çözücüler için ekstraksiyon süresinin lipit verimine etkisi
Aynı grup içindeki farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

4.1.5 Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi

Şekil 4.6’da farklı ekstraksiyon sıcaklıklarının lipit verimi üzerine etkisi görülmektedir. Her iki DES türü için de sıcaklık 30°C’den 60°C’ye arttığında verimin arttığı ancak 75°C’ye arttığında verimin azaldığı belirlenmiştir ($p<0.05$). MAA (1:1) ve CU (1:1) için en yüksek verim değerlerine 60°C sıcaklıkta ulaşılmış sırasıyla %16.51±0.57 ve %16.76±0.69 değerleri elde edilmiştir.



Şekil 4.6 Ekstraksiyon sıcaklığının lipit verimine etkisi
Aynı grup içindeki farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

4.2 Deneysel Tasarım ve Optimizasyonu

SCG’den lipit ekstraksiyonu üzerine DES türü, DES miktarı, SK oranı, süre ve sıcaklık etkileri tek seferde tek parametre yöntemi ile incelenmiştir. Ancak ekstraksiyon verimi üzerinde etkili olan parametrelerin etkilerinin birlikte incelenebilmesi, yanıt yüzeylerinin belirlenebilmesi ve optimizasyon için deneysel tasarım gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak mentol bazlı ve kolin klorür bazlı DES’ler arasında en iyi lipit verimlerini sağlayan %100 MAA (1:1) ve %50 CU (1:1) seçilmiştir. BBT ile gerçekleştirilen tasarımda

bağımsız değişkenler sıcaklık, ekstraksiyon süresi ve SK oranı cevap olarak ise lipit verimi seçilmiş ve YYY ile elde edilen ilişkiler görselleştirilmiştir.

4.2.1 Kolin klorür bazlı DES ile lipit veriminin optimizasyonu

SCG'den CU (1:1) ile lipit ekstraksiyonunda BBT'ye göre hazırlanmış olan deney seti ve elde edilen cevap değerleri **çizelge 4.5**'te verilmiştir. Elde edilen lipit verimlerinin %5.22 ile %20.50 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.5 CU (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için Box-Behnken tasarımına göre oluşturulan deney setleri ve yanıtları

Deney	Faktör 1 A:SK (mL/g)	Faktör 2 B:T (°C)	Faktör 3 C:Süre (dk)	Yanıt Verim (%)
1	12.50	50	52.50	10.62
2	5.00	50	15.00	5.22
3	12.50	50	52.50	10.92
4	12.50	50	52.50	10.02
5	12.50	30	90.00	14.03
6	5.00	70	52.50	9.03
7	20.00	50	90.00	15.30
8	12.50	70	15.00	12.53
9	5.00	30	52.50	7.86
10	12.50	50	52.50	11.15
11	12.50	70	90.00	20.50
12	20.00	50	15.00	10.75
13	12.50	30	15.00	11.62
14	5.00	50	90.00	6.47
15	20.00	70	52.50	16.90
16	12.50	50	52.50	10.71
17	20.00	30	52.50	15.90

Bağımsız değişkenlerin verim yanıtı üzerine etkisinin varyans analizi (ANOVA) **çizelge 4.6**'da verilmiştir. Sonuçlara göre faktörler ve yanıt arasındaki en iyi ilişkiyi indirgenmiş ikinci dereceden model vermiştir.

ANOVA sonuçlarına göre model için elde edilen yüksek F değeri (132.22) ve düşük p değeri (>0.001) modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca uyum eksikliğinin istatistiksel olarak önemsiz bulunması modelin başarılı olduğunu doğrulamıştır. Tahmini ve düzeltilmiş korelasyon katsayılarının birbirine yakın ve değerinin 1'e yakın olması ($R^2 = 0.990$) deneysel ve tahmin edilen yanıt değerleri arasında uyum olduğunu göstermektedir (**Çizelge 4.7**). Düşük varyasyon katsayısı (CV) (3.95) deneysel sonuçların güvenilirliğini ve kesinliğini göstermektedir.

Lipit veriminin bağımsız değişkenlere bağlı olan denkleminin ikinci dereceden polinom olduğu belirlenmiş ve elde edilen denklem kodlanmış faktörler cinsinden **eşitlik 4.1**'de verilmiştir.

$$Y_{Verim} = 10.77 + 378*A + 0.83*B + 1.66*C + 0.83*A*C + 0.66*B*C - 1.40*A^2 + 3.11*B^2 \quad (4.1)$$

Her bir model teriminin p değerleri incelendiğinde SK oranı (A), sıcaklık (B) ve sürenin (C) doğrusal etkisi, A ve B'nin karesel etkisi ve AC ve BC'nin etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

Çizelge 4.6 CU (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için Box-Behnken tasarımı elde edilen ikinci derece polinom modele ait ANOVA sonuçları

Kaynak	KT	SD	KTO	F-değeri	p-değeri	
Model	193.63	7	27.66	132.22	<0.0001	Önemli
A-SK	114.44	1	114.44	547.04	<0.0001	
B-T	5.50	1	5.50	26.31	0.0006	
C-t	22.00	1	22.00	105.19	<0.0001	
AC	2.72	1	2.72	13.01	0.0057	
BC	1.76	1	1.76	8.43	0.0175	
A ²	8.24	1	8.24	39.41	0.0001	
B ²	40.84	1	40.84	195.23	<0.0001	
Kalıntı	1.88	9	0.21			
Uyum eksikliği	1.38	5	0.28	2.19	0.2342	Önemsiz
Saf hata	0.50	4	0.13			
Toplam	195.51	16				

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KTO: Kareler toplamının ortalaması

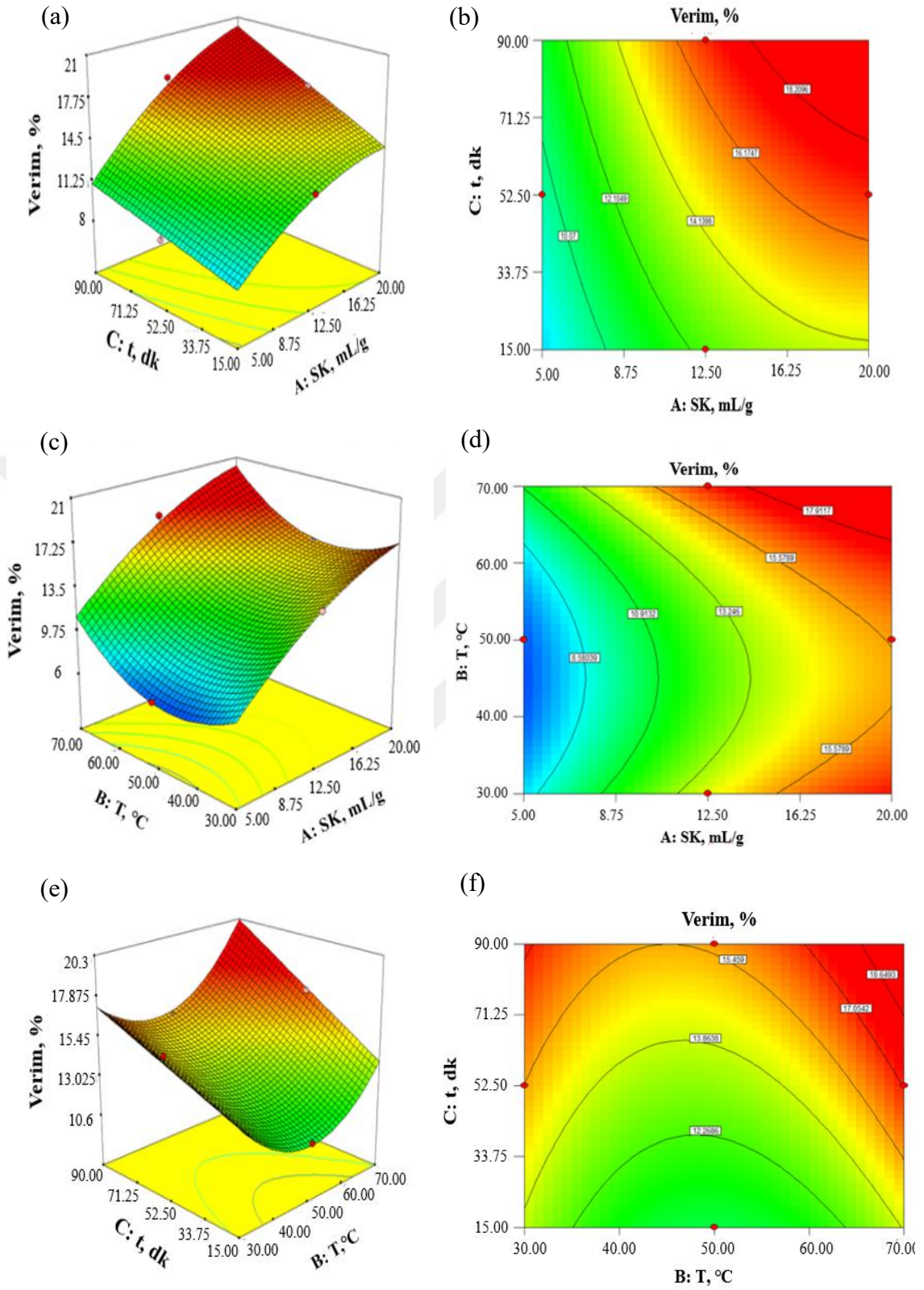
Çizelge 4.7 CU (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için elde edilen modelin korelasyon katsayısı değerleri

Model	Standart sapma	C.V%	R ²	Düzeltilmiş R ²	Tahmini R ²	Yeterli kesinlik
İndirgenmiş ikinci derece	0.46	3.95	0.9904	0.9829	0.9440	39.321

Lipit veriminin bağımsız değişkenler ile değişimini gösteren üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri ve eşyükselti eğrileri **Şekil 4.7**'de verilmiştir. Süre ve SK oranının etkileşiminin lipit verimi üzerine etkisi incelendiğinde (**Şekil 4.7.a, b**) ekstraksiyon süresinin düşük değerlerinde SK oranı arttıkça verimin arttığı, ekstraksiyon süresinin yüksek değerlerinde ise SK oranı arttıkça verimin daha yüksek eğimle arttığı gözlenmiştir. SK oranının düşük değerlerinde süre arttıkça verimde hafif artış gözlenirken yüksek değerlerinde süre arttıkça verimde daha yüksek bir artış olduğu görülmüştür. En yüksek lipit verimi değerlerine SK oranı ve sürenin yüksek olduğu değerlerde ulaşıldığı belirlenmiştir (**Şekil 4.7.a, b**).

Şekil 4.6. c, d'de sıcaklık ve SK oranı etkileşimlerinin verim üzerindeki etkisi görülmektedir. SK oranının düşük değerlerinde verim, sıcaklık arttıkça önce azalmış sonra artmış, ancak %10 civarında sabit kaldığı görülmüştür. SK oranının yüksek değerlerinde de benzer bir profil görülmüş ancak sıcaklık arttıkça verimin maksimuma ulaştığı görülmüştür. Düşük sıcaklık değerlerinde ise SK oranı arttıkça verim de artmış, ancak yüksek sıcaklık değerlerinde bu artış daha fazla olmuştur. En yüksek lipit verimi değerlerine yüksek sıcaklık ve yüksek SK oranlarında ulaşıldığı gözlenmiştir.

Şekil 4.7. e ve f'de sıcaklık ve sürenin etkileşiminin lipit verimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Cevap yüzeyinin yine eyer şeklinde olduğu görülmektedir. Ekstraksiyon süresinin hem düşük hem de yüksek değerlerinde verimin sıcaklıkla önce azalıp sonra arttığı, sabit sıcaklıkta ise sürenin artmasıyla verimin arttığı belirlenmiştir. En yüksek lipit verimi değerlerinin yüksek sıcaklık ve yüksek ekstraksiyon süresinde elde edildiği belirlenmiştir.



Şekil 4.7 CU (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri ve eşyüksekti eğrileri (a) ve (b) t-SK oranı etkisi ($T=70^{\circ}\text{C}$) (c) ve (d) T- SK oranı etkisi ($t=83.92$ dk) (e) ve (f) t-T (SK=20 mL/g)

YYY grafiklerinin elde edilmesinin ardından lipit veriminin optimize edilmesi amaçlanmıştır. Buna göre program tarafından optimum koşullar ekstraksiyon süresi 90 dk, SK oranı 19.58 mL/g ve sıcaklık 80°C olarak sunulmuş ve bu koşullar altında öngörülen lipit verimi %24.77 verilmiştir. Sonucun doğrulanması amacıyla optimum koşullar altında 4 tekrarlı olarak deneyler gerçekleştirilmiştir. Doğrulama denemeleri sonucunda verim 25.10 ± 0.69 bulunmuş öngörülen değerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Deneysel değerler ile tahmin edilen değer arasındaki % hata değeri 1.31 olarak belirlenmiştir.

4.2.2 Mentol bazlı DES ile lipit veriminin optimizasyonu

SCG'den MAA (1:1) ile lipit ekstraksiyonunda BBT'ye göre hazırlanmış olan deney seti ve elde edilen cevap değerleri **çizelge 4.8**'de verilmiştir. Elde edilen lipit verimlerinin %10.96 ile %17.90 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.8 MAA (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için Box-Behnken tasarımına göre oluşturulan deney setleri ve yanıtları

Deney	Faktör 1 A: SK (mL/g)	Faktör 2 B: T (°C)	Faktör 3 C: Süre (dk)	Yanıt Verim (%)
1	12.5	50	52.50	15.16
2	5.00	50	15.00	10.96
3	12.50	50	52.50	15.50
4	12.50	50	52.50	15.30
5	12.50	30	90.00	13.44
6	5.00	70	52.50	12.64
7	20.00	50	90.00	17.90
8	12.50	70	15.00	13.94
9	5.00	30	52.50	13.08
10	12.50	50	52.50	15.30
11	12.50	70	90.00	14.57
12	20.00	50	15.00	16.10
13	12.50	30	15.00	12.03
14	5.00	50	90.00	14.11
15	20.00	70	52.50	17.20
16	12.50	50	52.50	15.75
17	20.00	30	52.50	16.95

Bağımsız değişkenlerin verim yanıtı üzerine etkisinin varyans analizi (ANOVA) **çizelge 4.9'**da verilmiştir. Sonuçlara göre faktörler ve yanıt arasındaki en iyi ilişkiyi indirgenmiş üçüncü dereceden model vermiştir. ANOVA sonuçlarına göre model için elde edilen yüksek F değeri (86.75) ve düşük p değeri (< 0.001) modelin oldukça anlamlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca uyum eksikliğinin p değerinin istatistiksel olarak önemsiz bulunması modelin başarılı olduğunu doğrulamıştır ($p > 0.05$). **Çizelge 4.10'**da korelasyon katsayısı değerleri yer almaktadır. Buna göre modelin tahmini (R^2) 0.93 ve düzeltilmiş regresyon katsayısı (R_{adj}^2) 0.97 olup, birbirine yakın olması ve değerinin 1'e yakın olması deneysel ve tahmin edilen yanıt değerleri arasında uyum olduğunu göstermektedir. Düşük CV değeri (1.79) deneysel sonuçların güvenilirliğini ve kesinliğini göstermektedir.

Çizelge 4.9 MAA (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için Box-Behnken tasarımıda elde edilen üçüncü derece polinom modele ait ANOVA sonuçları

Kaynak	KT	SD	KTO	F-değeri	p-değeri	
Model	53.81	9	5.98	86.75	<0.0001	Önemli
A-SK	35.96	1	35.96	521.68	<0.0001	
B-T	2.31	1	2.31	33.52	0.0007	
C-t	1.04	1	1.04	15.10	<0.0060	
AC	0.77	1	0.77	11.11	0.0125	
A ²	0.57	1	0.57	8.32	0.0235	
B ²	2.72	1	2.72	39.44	0.0004	
C ²	5.13	1	5.13	74.39	<0.0001	
A ² B	1.30	1	1.30	18.92	0.0034	
A ² C	0.79	1	0.79	11.43	0.0118	
Kalıntı	0.48	7	0.069			
Uyum eksikliği	0.27	3	0.091	1.73	0.2987	Önemsiz
Saf hata	0.21	4	0.053			
Toplam	54.29	16				

KT: Kareler toplamı, SD: Serbestlik derecesi, KTO: Kareler toplamının ortalaması

Çizelge 4.10 MAA (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için elde edilen modelin korelasyon katsayısı değerleri

Model	Standart sapma	C.V%	R ²	Düzeltilmiş R ²	Tahmini R ²	Yeterli kesinlik
İndirgenmiş üçüncü derece	0.26	1.79	0.9911	0.9797	0.9327	32.356

Lipit veriminin bağımsız değişkenlere bağlı olan denkleminin üçüncü dereceden polinom olduğu belirlenmiş ve elde edilen denklem kodlanmış faktörler cinsinden **eşitlik 4.2**'de verilmiştir.

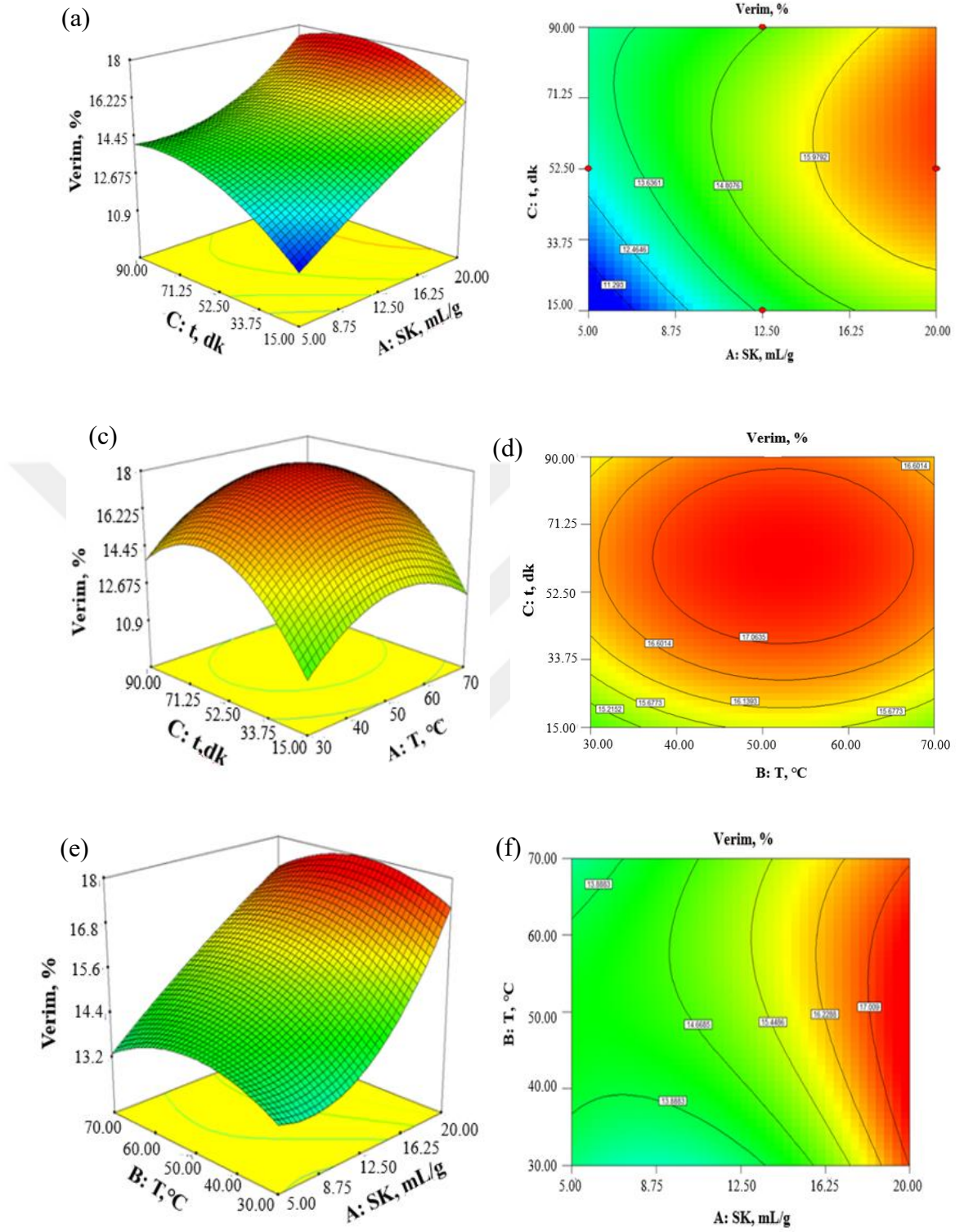
$$Y_{Verim}=15.40 + 2.12*A + 0.76*B + 0.51*C - 0.44*A*C + 0.37 *A^2 -0.80*B^2 -1.10*C^2 - 0.81*A^2B+ 0.63*A^2C \quad (4.2)$$

ANOVA sonucu incelendiğinde bağımsız değişkenlerin (A, B ve C), ikinci dereceden terimin (A^2 , B^2 ve C^2) ve üçüncü dereceden terimin (A^2B , A^2C) verim üzerinde anlamlı etkileri olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Bunun yanı sıra SK oranı ve süre etkileşimi (AC) önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Lipit veriminin bağımsız değişkenler ile değişimini gösteren üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri ve eşyükselti eğrileri **şekil 4.8**'de verilmiştir. Süre ve SK oranının etkileşiminin lipit verimi üzerine etkisi incelendiğinde sürenin düşük değerlerinde verimin doğrusal bir eğimle arttığı gözlenirken sürenin yüksek değerlerinde eğrisel bir artış olduğu ve verimin arttığı belirlenmiştir (**Şekil 4.8.a, b**). SK oranının hem düşük ve hem de yüksek değerlerinde süre arttıkça verimde önce yüksek bir artış sonra hafif bir azalma olduğu belirlenmiştir. En yüksek lipit verimi değerlerine yüksek SK oranı ve orta-yüksek ekstraksiyon sürelerinde ulaşılmıştır.

Şekil 4.8.c, d'de en yüksek lipit verimin incelenen bölgenin tam ortasında yer aldığı görülmektedir. Sıcaklığın ve sürenin ortalama değerlerinde en yüksek lipit verimi değerleri elde edilmiştir.

Şekil 4.8.e ve f'de sıcaklık ve SK oranının etkileşimi incelendiğinde sıcaklığın düşük seviyelerinde SK oranı arttıkça verim önce çok hafif azalmış sonra artmış sıcaklığın yüksek seviyelerinde ise SK oranı arttıkça verimde doğrusal bir artış olduğu belirlenmiştir. SK oranının hem yüksek hem de düşük değerlerinde sıcaklık ile verim arasındaki değişimin benzer olduğu ancak yüksek SK değerlerinde yüksek verim elde edildiği belirlenmiştir. En yüksek lipit verimi değerlerine sıcaklığın orta, SK oranının ise yüksek değerlerinde ulaşıldığı görülmektedir.



Şekil 4.8 MAA (1:1) ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar için üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri ve eşyüksele eğrileri (a) ve (b) t-SK oranı ($T=47.3^{\circ}\text{C}$) (c) ve (d) t-T ($\text{SK}=18.5 \text{ mL/g}$) (e) ve (f) T-SK oranı ($t=69.7 \text{ dk}$)

YYY grafiklerinin elde edilmesinin ardından lipit veriminin optimize edilmesi amaçlanmıştır. Buna göre program tarafından optimum koşullar ekstraksiyon süresi 87.57 dk, SK oranı 30 mL/g ve sıcaklık 50°C olarak belirlenmiş ve bu koşullar altında öngörülen lipit verimi %24.15 verilmiştir. Sonucun doğrulanması amacıyla optimum koşullar altında 4 tekrarlı olarak deney gerçekleştirilmiş ve verim 25.30 ± 1.59 bulunmuş ve öngörülen değerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Deneysel değerler ile tahmin edilen değer arasındaki % hata değeri 4.54 olarak belirlenmiştir.

4.2.3 Optimum koşullarda elde edilen ekstre ve lipitlerin antioksidan aktivite değerleri

Optimum koşullarda elde edilen ekstre ve lipitlerin antioksidan aktivite değerleri **çizelge 4.11**'de verilmiştir. Buna göre en yüksek AA değeri CU (1:1) ekstre ile %75.97 olarak elde edilmiştir. Saflaştırılmış lipitlerin AA değerlerinin ekstrele göre oldukça azaldığı belirlenmiştir. Bunun nedeninin saflaştırma prosedürleri sırasında ekstrelerin uzun süre nispeten yüksek sıcaklığa maruz kalmalarının neden olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.11 Optimum ekstre ve lipitlerin antioksidan aktivite değerleri

Örnek	AA, %
CU (1:1) ekstre	75.97 ± 0.66
MA (1:1) ekstre	58.15 ± 0.98
CU (1:1) -lipit	54.12 ± 1.06
MAA (1:1) -lipit	30.11 ± 1.02

4.2.4 Optimum koşullarda elde edilen lipitlerin yağ asidi profilleri

Mentol bazlı ve kolin klorür bazlı DES'ler ile SCG'den lipit ekstraksiyonunun optimize edilmesinin ardından elde edilen ekstrelerden lipitler saflaştırılmıştır. Saflaştırılmış lipitlerin yağ asidi profilleri **çizelge 4.12**'de verilmiştir.

Çizelge 4.12 Saflaştırılmış lipitlerin yağ asidi profili (%)

Yağ asidi türü	CU (1:1)-lipit	MAA (1:1)-lipit
Bütirik asit (C4:0)	8.69	-
Kaprik asit (C10:0)	-	5.48
Undekanoik asit (C11:0)	2.30	86.59
cis-10-pentadekanoik asit (C15:1)	0.79	0.04
Palmitik asit (C16:0)	1.80	2.44
Stearik asit (C18:0)	1.92	0.49
Oleik asit (C18:1n9c)	1.46	0.61
Elaidik asit (C18:1n9t)	25.11	-
Linoleik asit (C18:2n6c)	1.85	3.03
Araşidik asit (C20:0)	-	0.17
cis-11-eikosenoik (C20:1n9)	1.49	0.05
cis-11,14-eikosadieonik asit (C20:2)	6.90	0.08
Heneikosanoik asit	4.72	0.10
Behenik asit (C22:0)	6.85	0.04
Trikasanoik asit (C23:0)		0.41
cis-5,8,11,14,17-eikosapentanoik asit (C20:5n3) EPA	1.69	-
cis-4,7,10,13,16,19,dokosahekzaenoik asit (C22:6n3) DHA	2.00	0.48
Nervonik asit (C24:1)	32.41	-

Buna göre saflaştırılmış lipitlerde ilk üç sırada yer alan yağ asitlerinin CU (1:1)-lipit için nervonik asit (%32.41), elaidik asit (%25.11) ve bütirik asit (%8.69), MAA (1:1)-lipit için ise undekanoik asit (%86.59) kaprik asit (%5.48) ve linoleik asit (%3.03) olduğu bulunmuştur.

MAA (1:1)-lipit içinde en fazla bulunan undekanoik asit düz zincirli, on bir karbonlu doymuş bir yağ asididir. Önemli antifungal etkiye sahiptir. Özellikle, *Trichophyton rubrum* mantarının çoğalmasını ve sporlanmasını inhibe ettiği ve hücre dışı keratinaz ve lipaz aktivitelerini inhibe ettiği belirlenmiştir (Rossi vd. 2021). Ayrıca antibiyotiğe

dirençli bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede antibiyofilm olarak görev yapabileceği bildirilmiştir (Jin vd. 2020).

CU (1:1)-lipit içeriğinde en fazla bulunan nervonik asit nutrasötik ve farmasötik uygulamalara yönelik potansiyel kullanımları nedeniyle artan bir ilgi görmektedir. Parkinson, Demiyelinizan, Alzheimer gibi nörolojik hastalıklar, ayrıca kanser, diyabet, obezite hastalıklarını ve komplikasyonlarını iyileştirebildiği bildirilmiştir (Phung vd. 2023). Plastik, kozmetik, naylon üretiminde yeşil ve sürdürülebilir bir hammadde olarak kullanılabilir. Ayrıca besin takviyelerinde ve ilaçlarda kullanımı bulunmaktadır (Liu vd.2022).

4.3 Yenilebilir Filmlerin Özellikleri

SCG'den lipit ekstraksiyonun her iki DES için optimize edilmesinin ardından elde edilen lipitin bir uygulamada kullanılması amacıyla yenilebilir film sentezleri gerçekleştirilmiş ve lipitlerin film özellikleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla lipit iki farklı strateji ile film yapısına katılmıştır. Yöntemlerin birinde deneysel tasarım sonucu optimize edilen koşullarda elde edilmiş ekstraktlardan saflaştırılmış olan lipitler katkı maddesi olarak kullanılmıştır, diğerinde ise lipitin saflaştırılmadan eklenmesi planlanmıştır. MAA (1:1) içerdiği mentol nedeniyle yoğun kokuya sahip olduğu için kaplanan yiyeceklerde olumsuz bir etki yaratmaması amacıyla yalnızca kokusuz olan CU (1:1) ekstresi yenilebilir film sentezinde kullanılmıştır. Lipitin ekstre halinde film yapısına eklenme stratejisinde plastikleştirici olan gliserol içine farklı oranlarda eklenmiştir.

4.3.1 Kalınlık ve nem içerikleri

Lipitin katkı maddesi olarak kullanıldığı ve ekstrenin yapıya katıldığı yenilebilir filmlerin ortalama kalınlık değerleri sırasıyla **çizelge 4.13**'te ve **çizelge 4.14**'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde kalınlıkların 0.17 ile 0.24 mm arasında değiştiği görülmektedir.

Lipit içeren filmlerin kontrole göre film kalınlıklarının arttığı belirlenmiştir. Ekstrenin yapıya katıldığı filmler toplam hacim değişmeyecek şekilde hazırlandığından ekstre derişiminin artması filmin kalınlığında önemli etki göstermemiştir ($p>0.05$).

Lipit ve ekstre içeren filmlerin nem içerikleri sırasıyla **çizelge 4.13** ve **çizelge 4.14**'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde lipit içeren filmlerin nem içeriği değerlerinin %12 - %23 arasında değiştiği görülmektedir. **Çizelge 4.13**'te tüm filmlerin kontrol filmine göre nem değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca eklenen lipit miktarı ile filmlerdeki nem içeriklerinin azaldığı belirlenmiştir. MAA2 MAA3 ve MAA5 arasındaki nem içeriğinin farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çizelge 4.14 incelendiğinde E50 hariç olmak üzere ekstre eklenen tüm filmlerin nem içeriklerinin kontrollerine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra kontrol filmleri birbirleriyle kıyaslandığında CU (1:1) içeriği arttıkça nem içeriklerinin azaldığı belirlenmiştir. En düşük nem içeriği %6.80 ile E50 filminde elde edilmiştir.

Çizelge 4.13 Saflaştırılmış lipit içeren filmlerin kalınlık ve nem içeriği değerleri

Film	Kalınlık (mm)	Nem içeriği (%)
K	0.16 ± 0.01^d	23.99 ± 1.67^a
CU1	0.18 ± 0.01^{cd}	18.74 ± 0.87^b
CU2	0.19 ± 0.01^{bc}	16.07 ± 1.11^{bc}
CU3	0.21 ± 0.01^b	15.11 ± 1.01^{cd}
CU5	0.23 ± 0.01^a	12.70 ± 1.32^d
MAA1	0.17 ± 0.01^{cd}	17.12 ± 1.18^{bc}
MAA2	0.19 ± 0.01^c	14.17 ± 1.32^d
MAA3	0.21 ± 0.01^b	13.23 ± 1.08^d
MAA5	0.23 ± 0.01^a	13.02 ± 1.02^d

Aynı sütundaki farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

Çizelge 4.14 Ekstre içeren filmlerin kalınlık ve nem içeriği değerleri

Film	Kalınlık (mm)	Nem içeriği (%)
K5	0.17 ± 0.01^a	30.36 ± 1.47^a
E5	0.17 ± 0.01^a	24.56 ± 1.11^c
K10	0.17 ± 0.01^a	29.61 ± 1.74^{ab}
E10	0.17 ± 0.01^a	24.66 ± 0.79^c
K20	0.17 ± 0.01^a	26.25 ± 1.75^{bc}
E20	0.17 ± 0.01^a	22.24 ± 1.88^{cd}
K30	0.17 ± 0.01^a	18.43 ± 1.94^d
E30	0.17 ± 0.01^a	12.83 ± 1.45^e
K50	0.17 ± 0.01^a	8.85 ± 1.61^f
E50	0.17 ± 0.01^a	6.80 ± 1.16^f

Aynı sütundaki farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$)

4.3.2 Geçirgenlik ve şeffaflık özellikleri

Lipit ve ekstre içeren filmlerin geçirgenlik değerleri sırasıyla **çizelge 4.15** ve **çizelge 4.16**'da verilmiştir. **Çizelge 4.15**'te tüm filmlerin kontrol filmine göre hem UV (356 nm) hem de görünür (600 nm) bölgelerdeki geçirgenlik değerlerinin kontrole göre daha düşük olduğu ve filme eklenen lipit miktarı ile geçirgenlik değerlerinin azaldığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). En düşük geçirgenlik değerleri MAA5 için 356 nm'de 74.67 ± 0.15 , 600 nm'de 86.4 ± 0.10 olarak CU5 için ise 356 nm'de 60.67 , 600 nm'de 86.6 olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4.16 incelendiğinde ekstre eklenen tüm filmlerin her iki dalga boyundaki geçirgenlik değerlerinin kontrol filmlerine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. En düşük geçirgenlik değerleri E50 için 356 nm'de 40.3 ± 0.44 , 600 nm'de 85.5 ± 0.35 olarak elde edilmiştir.

Filmlerin şeffaflık değerleri incelendiğinde lipit ve ekstre ilavesinin önemli bir azalmaya neden olduğu görülmüştür ($p < 0.05$) (**Çizelge 4.14** ve **Çizelge 4.15**). Lipit eklenen filmler arasında en düşük şeffaflık değerleri MAA5 ve CU5 ile 7.68 ± 0.07 ve 7.78 ± 0.07 olarak bulunurken ekstre eklenen filmler arasında en düşük şeffaflık değeri E50 ile 11.37 ± 0.01 olarak bulunmuştur. Film yapısına eklenen ekstre miktarı arttıkça yenilebilir filmlerin

renklerinde koyulaşma olduğu gözlenmiş, bu durum da azalan şeffaflık ile uyumlu bulunmuştur. **Şekil 4.9'**da en düşük geçirgenlik ve şeffaflığa sahip olan MAA5, CU5 ve E50 filmlerinin kontrolleriyle beraber fotoğrafları sunulmuştur.

Çizelge 4.15 Safılaştırılmış lipit içeren filmlerin geçirgenlik ve şeffaflık değerleri

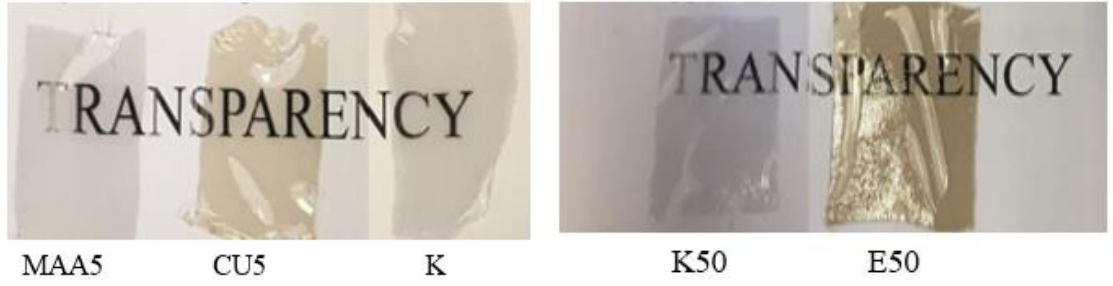
Film	T356, %	T600, %	Şeffaflık
K	91.4 ± 0.3 ^a	93.3 ± 0.2 ^a	11.8 ± 0.2 ^a
CU1	84.7 ± 0.2 ^d	92.7 ± 0.1 ^b	10.9 ± 0.1 ^b
CU2	80.6 ± 0.1 ^e	92.5 ± 0.2 ^b	10.4 ± 0.1 ^c
CU3	73.6 ± 0.2 ^g	91.3 ± 0.2 ^c	8.9 ± 0.2 ^d
CU5	60.6 ± 0.2 ^h	86.6 ± 0.3 ^g	7.8 ± 0.1 ^e
MAA1	89.2 ± 0.1 ^b	90.8 ± 0.1 ^d	10.8 ± 0.2 ^b
MAA2	88.6 ± 0.2 ^c	90.2 ± 0.2 ^e	10.3 ± 0.1 ^c
MAA3	84.7 ± 0.2 ^d	88.2 ± 0.2 ^f	8.9 ± 0.2 ^d
MAA5	74.6 ± 0.2 ^f	86.4 ± 0.1 ^g	7.7 ± 0.1 ^e

Aynı sütundaki farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$)

Çizelge 4.16 Ekstre ilaveli filmlerin geçirgenlik ve şeffaflık değerleri

Film	T356, %	T600, %	Şeffaflık
K5	91.4 ± 0.2 ^a	93.3 ± 0.0 ^a	11.6 ± 0.0 ^a
E5	87.0 ± 0.1 ^b	92.4 ± 0.1 ^c	11.5 ± 0.1 ^a
K10	90.6 ± 0.2 ^a	93.3 ± 0.1 ^a	11.5 ± 0.1 ^a
E10	76.6 ± 0.1 ^c	90.8 ± 0.1 ^e	11.5 ± 0.1 ^a
K20	90.6 ± 0.1 ^a	92.5 ± 0.0 ^a	11.5 ± 0.0 ^a
E20	61.4 ± 0.2 ^d	89.4 ± 0.0 ^f	11.4 ± 0.0 ^a
K30	91.5 ± 0.2 ^a	92.7 ± 0.1 ^b	11.5 ± 0.1 ^a
E30	52.8 ± 0.1 ^e	88.2 ± 0.0 ^g	11.4 ± 0.0 ^a
K50	90.5 ± 0.2 ^a	91.8 ± 0.1 ^d	11.5 ± 0.1 ^a
E50	40.3 ± 0.1 ^f	85.5 ± 0.1 ^h	11.3 ± 0.1 ^b

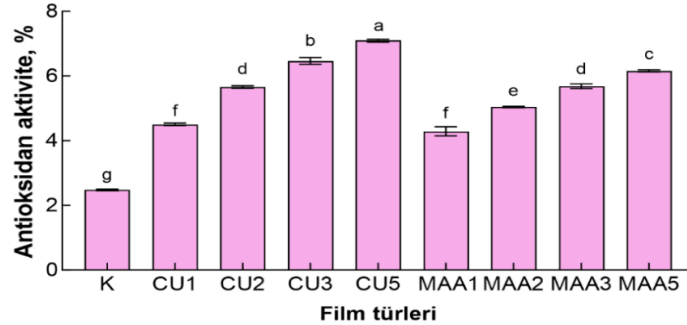
Aynı sütundaki farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$)



Şekil 4.9 Yenilebilir filmlerin şeffaflık görüntüleri

4.3.3 Antioksidan aktivite değerleri

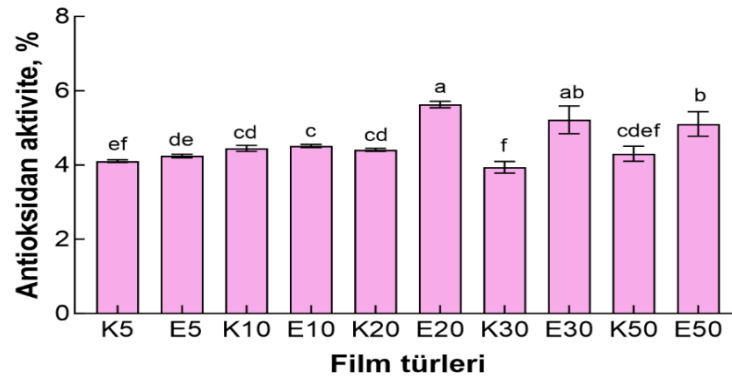
Lipit içeren yenilebilir filmlerin AA değerleri **şekil 4.10**'da verilmiştir. Buna göre lipit eklenen filmlerin AA değerlerinin hem CU hem de MAA için lipit miktarı arttıkça arttığı belirlenmiştir ($p<0.05$). En yüksek AA değerleri ise MAA5 ve CU5 ile sırasıyla $\%6.15\pm0.035$ ve $\%7.09\pm0.045$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.10 Saflaştırılmış lipit içeren filmlerin AA değerleri (%)

Farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

Ekstre içeren yenilebilir filmlerin AA değerleri **şekil 4.11**'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde %5 ve %10 ekstre içeren filmlerin kontrolleriyle benzer AA sergiledikleri belirlenmiştir. ($p>0.05$). Bunun yanı sıra %20, 30 ve 50 ekstre içeren filmlerin kontrollerine göre AA değerlerinin önemli bir oranda arttığı görülmektedir. En yüksek AA değeri E20 filmi ile $\%5.63\pm0.09$ olarak elde edilmiştir.



Şekil 4.11 Ekstre içeren filmlerin AA değerleri (%)
Farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$)

4.3.4 Mekanik özellikleri

Young modulu (YM), kopma uzaması (%KU) ve gerilme direnci (GD) yenilebilir filmlerin kimyasal yapısıyla yakından ilişkili olan ve mekanik özelliklerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan karakteristik özelliklerdir. YM, filmin sertliği ve esnekliği hakkında bilgi vermektedir, yüksek YM değerine sahip filmler daha sert ve esnekliği daha az olmaktadır. %KU, filmin kırılmadan şekil değişikliklerine dayanma kapasitesidir, filmin dayanıklılığını ve esnekliğini belirten bir özelliktir. Film ne kadar yüksek kopma uzamasına sahipse o kadar esnek ve dayanıklı olarak kabul edilmektedir. GD, bir maddenin gerilime maruz kaldığında kopmaya karşı direncini ifade etmektedir (Atta vd. 2022).

Hazırlanan yenilebilir filmler arasında en yüksek antioksidan aktivite gösteren filmler olan MAA5, CU5 ve E20'nin mekanik özelliklerine ışık tutan YM, %KU ve GD değerleri **çizelge 4.17**'de sunulmuştur. Lipit içeren filmlerde YM değerlerinin kontrole göre yaklaşık yarıya düştüğü, ekstre içeren filmin ise kontrole göre yaklaşık %25 oranında azaldığı belirlenmiştir. Bu durum eklenen lipit ve ekstre ile esnekliğin arttığını göstermektedir.

%KU değerleri incelendiğinde lipit ve ekstrenin filmlere farklı özellikler kazandırdığı görülmektedir. Buna göre CU5 için %KU değerinin arttığı ($p < 0.05$) ancak MAA5 için

değişmediği belirlenmiştir ($p>0.05$). Ekstre içeren filmlerde ise E20 için %KU değerinin kontrolü olan K20'ye göre azaldığı belirlenmiştir. Bu durumda CU (1:1) DES varlığının filmin %KU değerine olumlu etki yarattığı söylenebilir.

GD değerleri incelendiğinde ise hem lipit hem de ekstre eklenen filmlerin gerilme direncinin lipit ve ekstre ilavesi ile azaldığı görülmüştür.

Çizelge 4.17 Lipit ve ekstre içeren filmlerin Young modülü, kopma uzaması ve gerilme direnci değeri

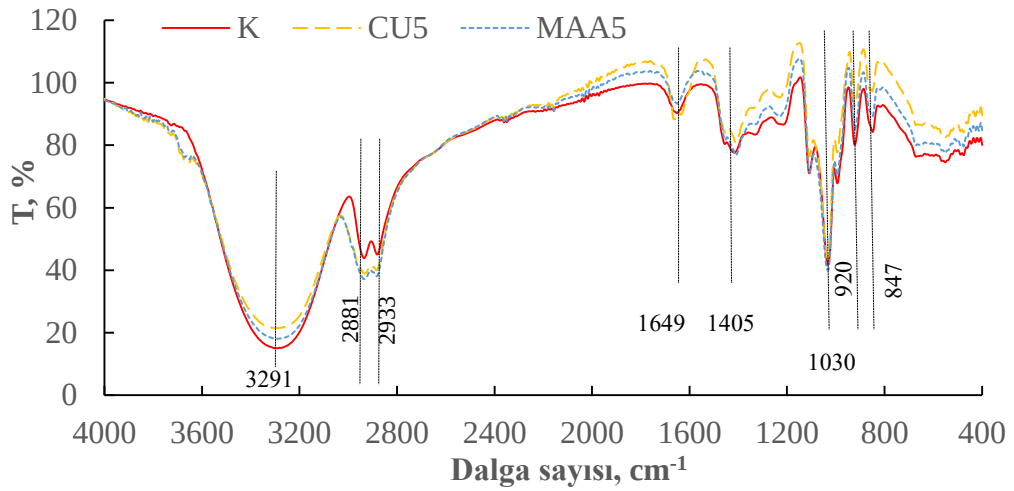
Film	YM (MPa)	KU (%)	GD (MPa)
K	0.54±0.02 ^a	9.43±1.74 ^c	0.04±0.00 ^a
CU5	0.25±0.03 ^d	16.42±1.45 ^b	0.02±0.00 ^c
MAA5	0.21 ±0.01 ^d	10.26±1.15 ^c	0.02±0.00 ^c
K20	0.45±0.05 ^b	20.03±1.41 ^a	0.04±0.01 ^a
E20	0.38±0.01 ^c	15.19±0.92 ^b	0.03±0.01 ^b

Farklı harfle belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

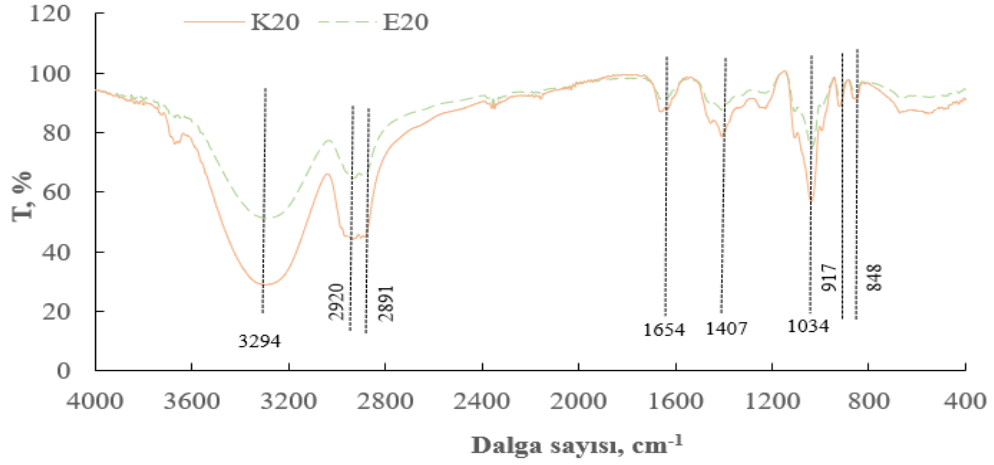
4.3.5 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi sonuçları

Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR-ATR), biyofilmlerin kimyasal karakterizasyonu ve karragenan bazlı filmlerin eklenen ekstre veya lipit ile yapısal etkileşimini gözlemlemek için kullanılmıştır. Kontrol, CU5, MAA5, YK20, YE20 filmlerinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları **şekil 4.12** ve **şekil 4.13**'te verilmiştir. Kontrol filminin spektrumunda 3291 cm^{-1} civarında gözlemlenen pik O–H gerilme titreşimine, 2933 cm^{-1} ve 2811 cm^{-1} 'de görülen pikler C-H bandının asimetric ve simetric gerilmesine, 1650 cm^{-1} dalga sayısında görülen pik absorplanmış suyun O–H bükülmesine, 1030 cm^{-1} civarındaki absorpsiyon bandı gliserolün OH grubuna, 917 cm^{-1} 'deki pik 3,6-anhidro-D-galaktozda C-O-C gerilmesine, 846 cm^{-1} 'deki pik D-galaktoz-4-sülfat gerilmesine karşılık gelmektedir. Belirlenen pikler κ -karragenan filmlerin literatürde belirlenmiş olan karakteristik pikleri ile uyumludur (Şen ve Erboz, 2010; Oun ve Rhim, 2017; Liu vd. 2019)

Lipit ve ekstre içeren filmlerin FTIR spektrumlarında yeni bir pikin oluşmadığı ancak bazı piklerin yüksekliğinin değiştiği görülmüştür. Filme eklenen lipit ile 3291 cm^{-1} yer alan pik yüksekliğinin azaldığı 2933 cm^{-1} ve 2881 cm^{-1} 'de piklerin (C-H) yüksekliğinin ise arttığı saptanmıştır. Bu durum film yapısına eklenen yüzey aktif madde olan Tween-80 ve lipitte bulunan hidrokarbonların varlığına işaret etmektedir (Simona vd. 2021). Kontrole göre CU5 ve MAA5 filmlerinde 1403 cm^{-1} 'de dalga sayısında yer alan C-C bandına karşılık gelen pikin daha keskin hale geldiği görülmüştür. Bu değişimin karragenan ve lipit etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmüştür. **Şekil 4.13** incelendiğinde ise ekstre ilavesi ile birlikte K20 filminde görülen O-H, C-H, C-C bandının yoğunluğunun azaldığı tespit edilmiştir.



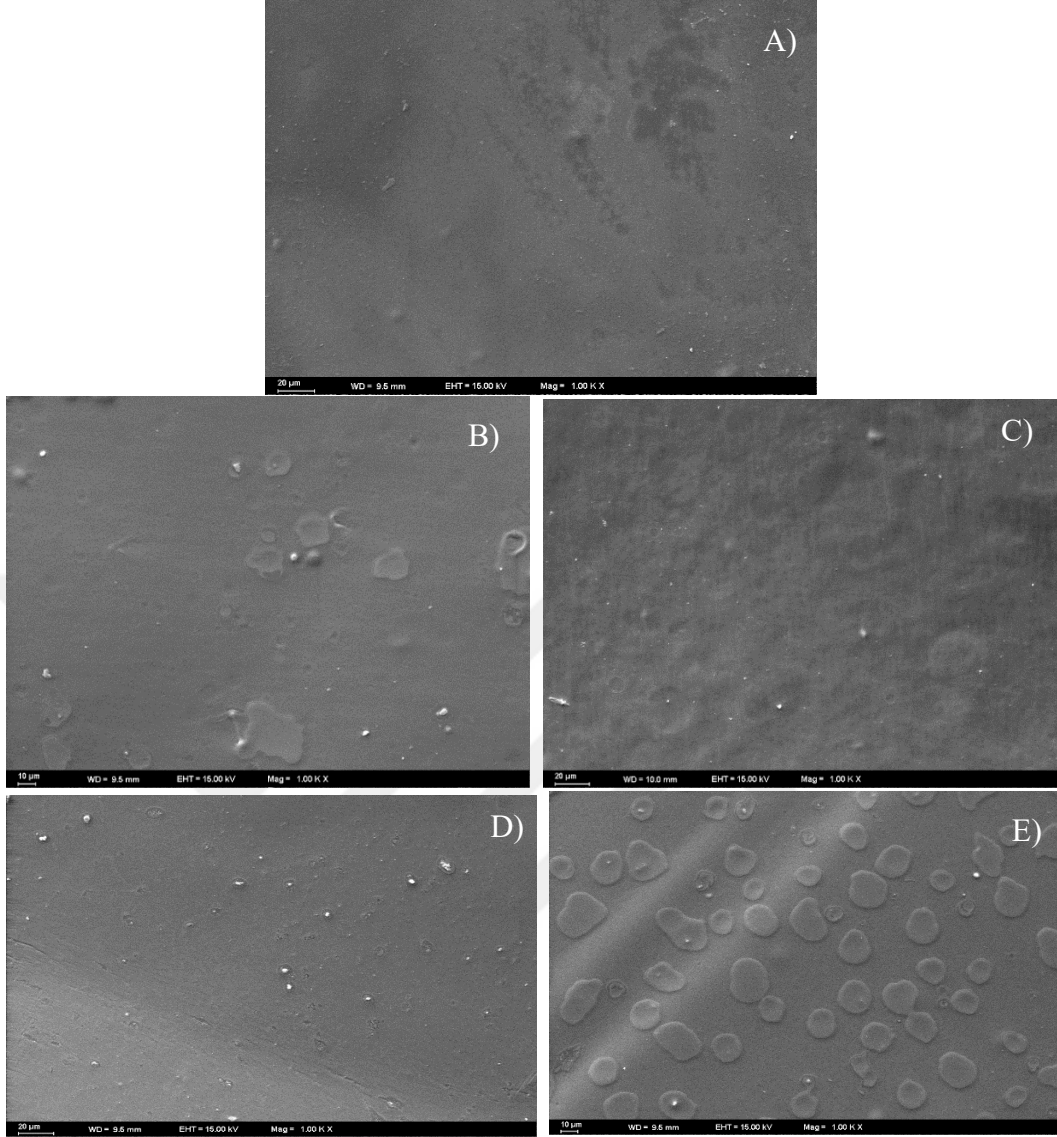
Şekil 4.12 Saflaştırılmış lipit içeren filmlerin ve kontrolün FTIR spektrumu



Şekil 4.13 Ekstre içeren filmin ve kontrolünün FTIR spektrumu

4.3.6 Taramalı elektron mikroskobu analizi sonuçları

Şekil 4.13'te lipit ve ekstre içeren filmlerin ve kontrollerinin SEM görüntüleri verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde kontrol filminin (Şekil 4.14 A) lipit içeren filmlere göre (Şekil 4.14 B, C) daha pürüzsüz ve homojen mikro yapıda olduğu görülmektedir. CU5 filmi üzerinde beyaz mikro tanecikler ve lipit varlığından kaynaklanabileceği düşünülen mikro alanlar yer almaktadır (Şekil 4.14 B). MAA5 filminde ise daha farklı dalgalı bir mikro yüzey olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.14 C). Bu da ekstraksiyon aşamasında kullanılan farklı DES türlerinin ekstrakte edilen lipitler üzerindeki ve dolayısıyla eklendiği film yapısı üzerinde yarattığı mikro farklılıkları ortaya koymaktadır. Şekil 4.14 D ve E incelendiğinde ise hidrofilik CU (1:1) DES'inin film yapısına homojen olarak dağıldığı ancak içerdiği lipitin mikro tanecikler halinde film üzerinde yer aldığı görülmektedir.

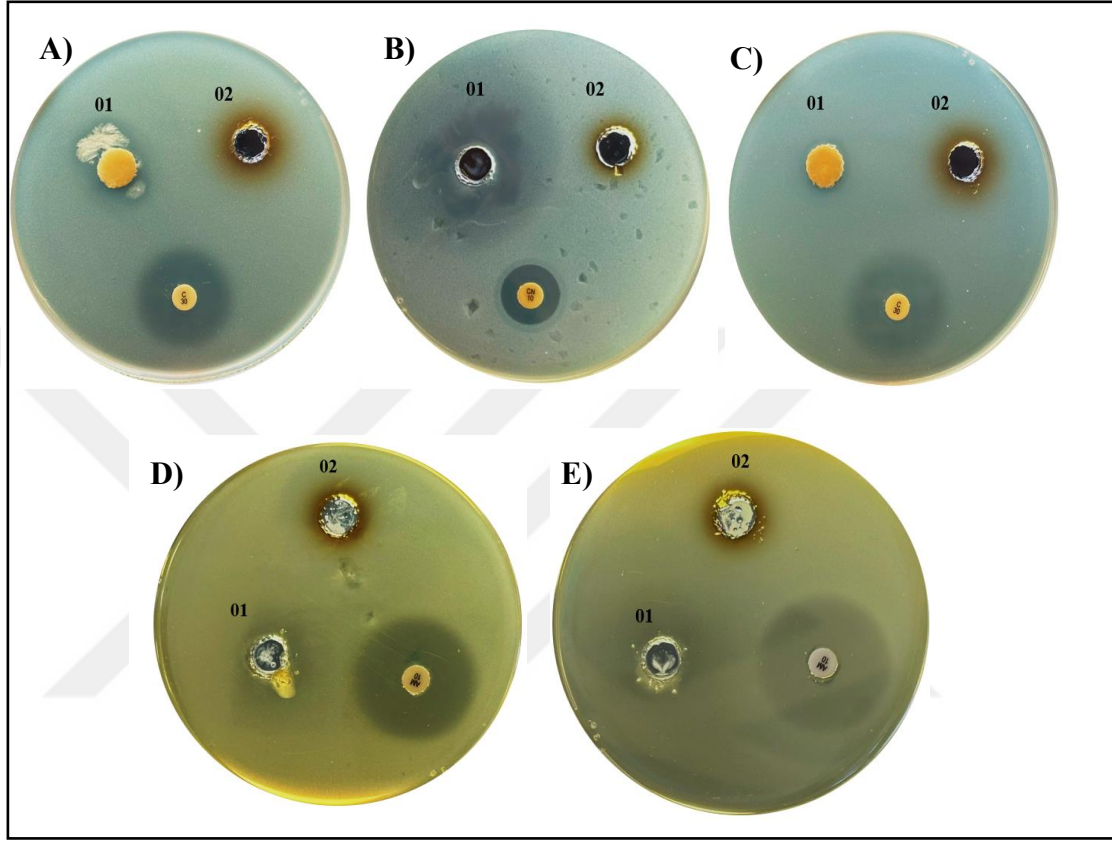


Şekil 4.14 SEM görüntüleri A: K, B: CU5, C: MAA5, D: K20, E: E20

4.3.7 Antimikrobiyal aktivite sonuçları

Antimikrobiyal aktivite analizlerinde üç farklı gram negatif bakteri (*Escherichia coli* ATCC 43888, *Salmonella infantis* ATCC 51741 ve *Salmonella typhimurium* SL 1344) ve iki farklı gram pozitif bakteri (*Listeria monocytogenes* ATCC 13932 ve *Listeria monocytogenes* ATCC 7644) kullanılmıştır. Hazırlanan yenilebilir filmlerin patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir. Bu nedenle CU (1:1) ve MAA (1:1) ile optimizasyon sonucu elde edilen saflaştırılmış lipidlerin ve CU (1:1) ekstresinin antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir ve kontrol olarak çözücüsü kullanılmıştır.

Sonuçlara göre MAA (1:1) lipitinin incelenen tüm bakteri türlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (şekil 4.15). İnhibisyon zon çapları ise çizelge 4.18’de verilmiştir.



Şekil 4.15 Saflaştırılmış lipitler olan MAA (1:1) (01) ve CU (1:1) (02)’in *S. infantis* (A), *E. coli* (B), *S. typhimurium* (C), *L. monocytogenes* ATCC 13932 (D), *L. monocytogenes* ATCC 7644 (E)’e karşı antimikrobiyal aktivelere

Test edilen patojenlerden *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 ve *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 gram pozitif iken *Escherichia coli* ATCC 43888, *Salmonella infantis* ATCC 51741 ve *Salmonella typhimurium* SL 1344 gram negatif bakterileridir. MAA (1:1)-lipit hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere karşı oldukça yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *L. monocytoneges* gram-pozitif bakterilerine karşı göstermiştir.

Çizelge 4.18 Lipit, ekstre ve filmlerin farklı patojen bakterilere karşı ölçülen inhibisyon zon çapları

Örnek	İnhibisyon çapı, mm				
	<i>S.infantis</i>	<i>E.coli</i>	<i>S. thphimurium</i>	<i>L.monocytogenes</i> ATCC 13932	<i>L.monocytogene</i> <i>s</i> ATCC 7644
MAA(1:1) -lipit	17	18	13	20	22
CU(1:1)- lipit	-	-	-	-	-
CU(1:1)- kontrol	-	-	-	-	-
CU(1:1)- ekstre	-	-	-	-	-
K-film	-	-	-	-	-
MAA5- film	-	-	-	-	-
CU5-film	-	-	-	-	-
K20-film	-	-	-	-	-
E20-film	-	-	-	-	-

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında demlenmiş kahve posası olan SCG'den lipit ekstraksiyonunda hidrofilik ve hidrofobik olmak üzere altı adet DES kullanılarak lipit ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon üzerine etkili parametreler olan DES türü, DES miktarı, süre, sıcaklık, SK oranı etkileri incelenmiştir. Mentol bazlı DES'ler arasında %14.87±0.71 ile MAA (1:1) en yüksek verimi sağlamış, kolin klorür bazlı DES'ler ile elde edilen verimler arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir (CU (1:1) ile %12.2±0.56, CU (1:2) ile %11.56±0.80).

MAA (1:1) ile daha fazla verim elde edilmesinin sebebi mentolün asetik asit ile kurduğu moleküller arası hidrojen bağının laktik asite göre daha güçlü olması ve dolayısıyla lipitin daha fazla çözünmesi olabileceği düşünülmektedir. Literatürde bazı hidrojen bağı donörlerinin mentol ile daha güçlü hidrojen bağları kurduğu ve dolayısıyla hedef bileşenlerin çözünürlüklerinin artabileceği bildirilmiştir (Li vd. 2023).

Elde edilen veriler göz önüne alındığında farklı HBA/HBD kombinasyonlarının ve mol oranlarının verim üzerine etkisinin olduğu belirlenmiştir. Literatürde mentol bazlı HDES'ler ile (mentol:formik asit, asetik asit, propiyonik asit, dekanolik asit, isopropanol n-butanol, pirüvik asit, laktik asit, levulinik asit) elma kabuğundan ursolik asit ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada araştırmacılar mentolün asetik asit, propiyonik asit ve dekanolik asit ile oluşturduğu HDES'lerde alkil zincirinin artmasıyla ursolik asitin çözünürlüğünün azaldığını, bunun nedeninin HDES'in sterik etkisinin artmasından kaynaklı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca alkil zinciri arttıkça HDES'in viskozitesinin artması kütle transferini etkileyerek ursolik asitin çözünürlüğünün azalmasına sebep olduğunu rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada mentol bazlı ve farklı karboksilik asitler ile hazırlanan HDES'ler ile (mentol:formik asit, asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit, oktanoik asit, hekzanoik asit, laktik asit, mandelik asit) fitokanabinoid ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş en yüksek ekstraksiyon verimine mentol:asetik asit (1:1) ile ulaşıldığı bildirilmiştir (Křížek vd. 2018). Bu tez çalışmasında da laktik asitin benzer bir sterik etkisi yaratma nedeniyle daha düşük verim elde edilmiş olabileceği düşünülmektedir.

DES türünün yağ asidi profili üzerine etkileri incelendiğinde palmitik, heptadekanoik, stearik, elaidik, linoleik, linolenik ve araşidik asitlerin hem mentol bazlı hem de kolin klorür bazlı DES'ler ile ekstrakte edilebildiği, oleik asitin ise yalnızca mentol bazlı DES'lerle ekstrakte edilebildiği tespit edilmiştir. Literatürde farklı çözücüler (n-hekzan, etil asetat, n-propanol ve izopropanol) kullanılarak SCG'den ekstrakte edilen lipitlerin yağ asidi profilleri incelenmiştir. Çalışma sonunda farklı çözücüler ile elde edilen lipitlerde benzer yağ asitleri bulunduğu ve en çok bulunan yağ asitlerinin palmitik asit, stearik asit ve linoleik asit olduğu bildirilmiştir (Loyao vd. 2018).

Farklı DES miktarlarının lipit verimi üzerine etkisi incelendiğinde, mentol bazlı DES'ler için en yüksek lipit verimine %100 DES ortamında ulaşılmış ve DES miktarı arttıkça değerlerin azaldığı belirlenmiştir. Kolin klorür bazlı DES'ler için ise tam tersi bir durum gözlenmiş ve en yüksek verim %50 DES miktarında elde edilmiştir. Literatürde farklı sonuçların elde edildiği çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Wang vd. (2018) mentol bazlı HDES ile iki fazlı misel sistemi oluşturarak hidrofilik ve hidrofobik bileşenleri eş zamanlı olarak ekstrakte etmişlerdir. Araştırmacılar %40-90 oranında DES miktarı kullanıldığında misel oluşumu sonucu ekstraksiyon veriminin arttığını, daha az DES miktarı kullanıldığında ise mentol ve asetik asit arasındaki hidrojen bağlarını bozarak ekstraksiyon verimini azalttığını bildirmişlerdir. Chen vd. (2016) *Radix Salviae miltiorrhizae*'den farklı polaritelere sahip aktif bileşenlerin kolin klorür bazlı DES'ler ile mikrodalga destekli yöntemle ekstraksiyonunu gerçekleştirdikleri çalışmada DES miktarının ekstraksiyon verimine etkisini belirlemişlerdir. Araştırmacılar kolin klorür bazlı DES'ler ile ekstraksiyonda hidrofobik bileşen miktarının %100 DES miktarında en yüksek seviyeye ulaştığı ve su içeriği arttıkça miktarının azaldığını bildirmişlerdir.

DES miktarının yağ asidi profiline etkisi değerlendirildiğinde ise yağ asidi profilinin oldukça değiştiği belirlenmiştir, ancak DES miktarı ile yağ asidi türü ve miktarı arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

Çalışma kapsamında incelenen 3 farklı SK oranı (5, 8 ve 16 mL/g) değerlendirildiğinde her iki DES için en yüksek verim 16 mL/g oranında elde edilmiş, MAA (1:1) ile $\%15.18 \pm 0.57$, CU (1:1) ile $\%14.94 \pm 0.75$ değerlerine ulaşılmıştır. SK oranının artması, katı ile çözücü arasında derişim farkını yani itici gücü artırmış buna bağılı olarak kütle transferini hızlandırmıştır (Zhang vd. 2009). Literatürde bu bulguyu destekleyecek çalışmalar bulunmaktadır. Ultrasonik dalga yöntemi kullanarak SCG'den lipit ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi kullanarak optimize edildiğı çalışmada yüksek lipit verimi elde etmek için en uygun SK oranının 16 mL/g olduğı bildirilmiştir (Miladi vd. 2021). SCG'den ultrasonik banyo kullanılarak lipit ekstraksiyonun gerçekleştirildiğı bir çalışmada araştırmacılar SK oranının artmasının elde edilen lipit verimi üzerine olumlu etkisinin olduğunu, en yüksek verimin çalışılan en yüksek SK oranında $\%12$ olarak elde edildiğini bildirmişlerdir (Valderez vd. 2014). Benzer bir etki Hibbert vd. (2019) tarafından da gözlemlenmiştir. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile SCG'den lipit ekstraksiyonunu gerçekleştirdikleri çalışmada çözücü miktarının artması ile SCG ve hekzan arasındaki derişim farkının artmasına bağılı olarak verimin arttığını çözücünün 100 mL'den 160 mL'ye arttırılması ile $\%38$ daha fazla lipit elde edilerek $\%11.54$ lipit verimine ulaşıldığı bildirilmiştir (Hibbert vd. 2019).

SCG'den lipit ekstraksiyonunda çözücü temas süresi açısından, lipitin tamamen geri kazanılması için genellikle uzun ekstraksiyon süreleri gerekmektedir. Ancak ekonomik faktörler bunu sınırlayabilmektedir. Ayrıca, uzun ekstraksiyon süreleri ekstraksiyon verimliliğinin zamanla azalmasına ve hedef bileşenin bozulmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle, ekstrenin kalitesini korumak ve aynı zamanda prosesin enerji tüketimini azaltmak amacıyla ekstraksiyon süresini optimize etmek gereklidir (Miladi vd. 2021).

Çalışma kapsamında ekstraksiyon süresi etkisinin incelenmesi amacıyla 15, 30, 60, 120 dk sürelerinde lipit ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. MAA (1:1) ve CU (1:1) ile sürenin 15 dk'dan 60. dk'ya çıkması ile verimin arttığı 60'dan 120 dk'ya çıkması ile verimde anlamlı bir değışikliğın olmadığı belirlenmiştir. Literatürde ekstraksiyon süresinin artmasıyla beraber lipit veriminin arttığı ve en yüksek lipit veriminin çalışılan en yüksek ekstraksiyon sürelerinde elde edildiğı bildirilmektedir (Miladi vd. 2021, Stevanato ve Da Silva 2019 Tian vd. 2012). Stevanato vd. (2019) turp tohumundan lipit ekstraksiyonunda

20 dk, 40 dk ve 60 dk ekstraksiyon süreleri çalışmışlar ve 60. dk'da, en yüksek verime ulaştıklarını rapor etmişlerdir. Tian vd. (2012) nar çekirdeğinden lipit ekstraksiyonu gerçekleştirdikleri çalışmada farklı ekstraksiyon sürelerinin lipit verimi üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar ekstraksiyonun ilk 30 dk'da verimde hızlı bir artış olduğunu ileriyeleyen sürelerde ise artış hızının azaldığını bildirmişlerdir.

Ekstraksiyon sıcaklığının lipit verimine etkisinin incelendiği deneylerde 30°C, 60°C ve 75°C'de çalışılmıştır. 30°C'den 60°C'ye arttığında lipit verimin arttığı belirlenmiştir. Bunun nedeni, ultrasonik dalga destekli ekstraksiyonunda sıcaklığın artması sonucu kavitasyon eşiğinin düşerek daha fazla kavitasyon kabarcığının oluşması olarak yorumlanabilir. Sıcaklık 75°C'ye yükseltildiğinde verimin azalma nedeninin artan buhar basıncından dolayı kavitasyon kabarcıklarının buharla dolması ve partiküller üzerindeki mikro patlamaların etkilerinin azalması olabileceği düşünülmektedir (Abdullah ve Bulent Koç 2013).

Tek seferde tek parametre deneyleri ile ekstraksiyon üzerindeki etkili parametreler ve değer aralıklarının belirlenmesinin ardından lipit için en yüksek ekstraksiyonu sağlayan MAA (1:1) ve CU (1:1) kullanılarak ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. MAA (1:1) için optimum koşullar ekstraksiyon süresi 87.57 dk, SK oranı 30 mL/g, 50°C sıcaklık olarak saptanmış bu koşullar altında verim 25.30 ± 1.59 olarak tespit edilmiştir. CU (1:1) için ise optimum ekstraksiyon koşulları ekstraksiyon süresi 90 dk, SK oranı 19.58 mL/g ve 80°C sıcaklık olarak belirlenmiş bu koşullar altında verim 25.10 ± 0.69 olarak bulunmuştur. Buna göre her iki çözücü için optimize edilen koşullar ile çalışmadaki en yüksek lipit verimlerine ulaşılmıştır. Literatürde SCG'den ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen en yüksek lipit verimleri %12 (Miladi vd. 2021), %13 (Abdullah ve Koç 2013) %17 (Erdawati vd. 2022) olarak verilmiştir.

Optimum koşullarda elde edilen lipitlerin yağ asitleri profili incelendiğinde baskın olan yağ asitlerinin undekanoik asit (%86.59) ve nervonik asit (%32.41) olduğu belirlenmiştir. Bu yağ asitlerinin özellikleri incelendiğinde undekanoik asitin antifungal etkileri olan doymuş ve orta zincirli bir yağ asidi olduğu (Rossi vd. 2021), antibiyotiğe dirençli bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede antibiyofilm olarak görev yapabildiği (Jin vd.

2020), nervonik asitin ise nutrasötik ve farmasötik uygulamalara yönelik potansiyel kullanımları olduğu, Parkinson, Demiyelinizan, Alzheimer gibi nörolojik hastalıklar, ayrıca kanser, diyabet, obezite hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı (Phung vd. 2023) , plastik, kozmetik, naylon üretiminde hammadde olduğu ve besin takviyelerinde ve ilaçlarda kullanıldığı belirlenmiştir (Liu vd. 2022). Dolayısıyla optimize edilen lipidlerin içerikleri açısından önemli kullanım alanlarına sahip oldukları anlaşılmıştır.

Optimum koşullarda elde edilen lipidler saflaştırılarak yenilebilir filmler sentezlenmiştir. Burada lipidler film sentezinin son aşamasında katkı maddesi olarak eklenmiştir. Ayrıca saflaştırma işlemi olmadan ekstrenin direkt yenilebilir film sentezinde kullanımının incelenebilmesi amacıyla CU (1:1) ekstresi de plastikleştirici olarak görev gören gliserol içerisine eklenerek film sentezinde kullanılmıştır. Elde edilen filmlerde antioksidan aktivite, geçirgenlik, şeffaflık ve mekanik özelliklerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Yenilebilir filmlerin kalınlığı hem mekanik hem de geçirgenlik özelliklerini etkileyen önemli bir parametredir. Kurutma koşulları ve hazırlama yöntemleri, filmlerin kalınlığını etkileyen faktörlerdir (Fakhreddin Hosseini vd. 2014). Bu çalışmada yenilebilir film kalınlıklarının 0.17 ile 0.24 mm arasında olduğu belirlenmiştir. Literatürde ideal kalınlığın 0.25 mm'den az olması gerektiği bildirilmiştir (Skurtys vd. 2011). Buna göre bu tez çalışmasında üretilen filmlerin kalınlığı ideal kalınlığa uygundur.

Yenilebilir filmlerde nem içeriği, filmin esnekliği ve dayanıklılığı açısından önemli bir parametredir (de Moraes Crizel vd. 2018). Filmin nem içeriğinin düşük olması, paketlenmiş ürünün daha uzun süre korunmasını sağlarken yüksek nem içeriği, mikrobiyolojik riski artırmaktadır (W. Apriliyani vd. 2020). Bu tez çalışmasında elde edilen yenilebilir filmlerin nem içerikleri değerlendirildiğinde katkı maddesi olarak eklenen lipid miktarının artmasıyla nem içeriği değerlerinde azalma olduğu belirlenmiş ve en düşük nem içeriğine 12.70 ± 1.32 ile CU5 filminde ulaşılmıştır. Ekstrenin yapıya katıldığı filmlerde ise hem DES hem de ekstrenin artmasıyla nem içeriğinin azaldığı belirlenmiş ve en düşük nem içeriğine 6.80 ± 1.16 ile E50 filminde ulaşılmıştır. Ekstrenin artması ile nem içeriğinin azalması, ekstrenin içerdiği lipid nedeniyle anlamlıdır. Kullanılan DES açısından bakıldığında ise kolin klorür ve üre gibi bileşenlerin hidrofilik

olmasına rağmen DES doğası gereği yapısında yer alan H bağlarının kuvvetli olması ve suyu çekmesi nedeniyle nem içeriğinde azalmaya sebep olmuş olabileceği düşünülmektedir. Eklenen lipit ile filmlerin nem içeriğinin azalması istenen ve beklenen bir sonuçtur. Benzer şekilde Aliabadi vd. (2014) filmlerde lipit ilavesi ile hidrofobikliğin artmasına bağlı olarak nem içeriği değerlerinin azaldığını ve nem içeriklerinin %14-20 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Literatürde CU (1:1) DES'i veya ekstresinin eklendiği yenilebilir film çalışmasına rastlanmamıştır.

Geçirgenlik, yenilebilir film üzerinden ışık veya diğer elektromanyetik radyasyonun geçişine izin verme yeteneğini ifade etmektedir. Yüksek geçirgenliğe sahip filmler, daha şeffaf olup daha fazla ışığın geçmesine izin verirken düşük geçirgenliğe sahip olanlar daha az şeffaf yani daha opaklardır (Ningrum vd. 2021). Çalışmada elde edilen filmlerin geçirgenlik değerlerine bakıldığında kontrol film yüksek geçirgenlik değeri gösterirken lipit ve ekstrenin eklenmesi ile UV ve görünür dalga boyundaki geçirgenliğin azaldığı belirlenmiştir. Şeffaflık değerlerinin de ekstre ve lipit ilavesi ile azaldığı saptanmıştır. Benzer şekilde Rincón vd. (2019) filmlere defne yaprağı esansiyel yağın eklenmesiyle geçirgenliğin azaldığını doğrulamıştır. Başka bir çalışmada Aliabadi vd. (2014) *κ*-karragenan bazlı filmlere ekledikleri *Zataria multiflora* Boiss (ZEO) ve *Mentha pulegium* (MEO) esansiyel yağların oranlarının artmasıyla ışık saçılımı yoğunluğunun arttığını ve buna bağlı olarak filmlerin şeffaflık değerlerinin azaldığını bildirmişlerdir.

Antioksidanların yenilebilir ambalajlara dahil edilmesi, ambalaj malzemesinin biyoaktif özelliklerini geliştirmekte ve oksidatif stresi geciktirerek veya engelleyerek gıda ürünlerinin besin değerinin korunmasına ve raf ömrünün artmasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca, doğal bileşiklerin (yüksek miktarda AA'ya sahip, fenolik bileşikler ve uçucu yağlar içeren) biyo-bazlı filmlere dahil edilmesinin, antioksidan aktivitesini iyileştirdiği ve gıda ürünlerinin depolama süresini artırdığı bilinmektedir.

Çalışmada sentezlenen filmlerden en yüksek AA değerleri, CU5 ve E20 filmleri ile 7.09 ± 0.045 ve 5.63 ± 0.09 olarak elde edilmiştir. Tez çalışmasında elde edilen sonuçların Dordovic vd.'nin (2023) araştırma bulgularına benzer olduğu görülmüştür. Dordovic vd. (2023) farklı oranlarda SCG'den elde edilen lipiti filmlere ilave ettikleri

çalışmada filmlerin AA değerlerinin %0.48-%13.74 aralığında bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar SCG lipitin filmlerin AA değerine katkıda bulunmasını fenolik bileşenler, tanenler, kafein gibi antioksidan özelliğe sahip bileşenlerin varlığından kaynaklandığını rapor etmişlerdir (Dordevic vd. 2023). Başka bir çalışmada da SCG'den elde edilen lipitin antioksidan özelliklere sahip olduğu doğrulanmıştır (Leow vd. 2021). Filmlere eklenen ekstrelerin film sentezinden önceki AA değerleri incelendiğinde CU5 filmine eklenen ekstrenin %54.12 iken E20 filmine eklenen ekstre AA değeri ise %75.97 olarak bulunmuştur. Dolayısıyla film sentezi sırasında AA değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Bu durumun film üretimi sırasında maruz kalınan sıcaklık, ışık, pH ve oksijen gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Nogueira vd. 2019).

Tez çalışması kapsamında sentezlenen filmlerin mekanik analiz sonuçları değerlendirildiğinde YM 0.21-0.54 MPa, %KU değeri %9.43-20, GD ise 0.02-0.04 MPa aralığında bulunmuştur. Filmin yapısına eklenen lipit ve ekstre YM değerinin azalmasını, %KU değerinin ise artmasını sağlayarak filmlerin mekanik özelliklerini geliştirmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde Shojae Aliabadi vd. (2013) filmlere lipit ilavesi ile GD değerinin azaldığını %KU değerinin ise arttığını gözlemişlerdir. Araştırmacılar film ağında, daha zayıf polimer-esansiyel yağ etkileşimlerinin kısmen daha güçlü polimer-polimer etkileşimlerinin yerini almış olabileceğini ve bununla filmlerin gerilme direncinde azalmaya sebep olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca esansiyel yağın varlığı plastikleştirici etki göstererek filmlerin %KU değerlerini artırdığı rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada filmlere ilave edilen zeytin yağı ve zencefil yağının GD değerini düşürdüğü %KU değerini ise artırdığını göstermiştir (Atta vd. 2022). Çalışmamızda elde edilen yenilebilir filmlerin GD değeri oldukça düşük bulunmuştur. Bu sonuç literatürde yer alan bir çalışmayla benzer bulunmuştur. Dordevic vd. (2023) karragenan filmine SCG'den elde edilen lipiti ekledikleri çalışmada GD değerinin 0.03 ve 0.06 MPa aralığında bulunduğunu bildirmişlerdir.

Yenilebilir filmlerinin morfolojik özellikleri SEM kullanılarak analiz edilmiştir. Kontrol filmlerinin pürüzsüz ve homojen mikro yapı sergilediği lipit ve ekstre içeren filmlerin ise pürüzlülüğünde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Yağ asitlerinin varlığıyla yüzey pürüzlülüğündeki artış daha önce başka araştırmacılar tarafından da gözlemlenmiştir.

Shojaee-Aliabadi vd. (2014) karragenan filme *Zataria multiflora* Boiss (ZEO) ve *Mentha pulegium* (MEO) esansiyel yağ ilave ettiklerinde, polimer matrisine gömülü esansiyel yağ damlacıklarıyla ilişkili pürüzlü ve homojen olmayan bir yüzey gözlemişlerdir. (Shojaee-Aliabadi vd. 2014). Başka bir çalışmada bitkisel yağların karragenan bazlı yenilebilir filmlerin formülasyona eklenmesi ile daha pürüzlü yapılar oluşturduğuna dair benzer bulgular elde edilmiştir (Nur Fatin Nazurah ve Nur Hanani, 2017). Acevedo-Fani vd. (2015) esansiyel yağ ilave edilen filmlerde, yağ damlacıklarının homojen olarak dağılmayıp kuruma sırasında agregatların oluşmasına sebep olarak yüzeyde hidrofobik yapıların gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Acevedo-Fani vd. 2015).

Farklı derişimlerde ekstre ve lipit içeren filmlerin FTIR spektrumlarında yeni bir pikin ortaya çıkmadığı ancak bazı piklerin yüksekliğinin değiştiği görülmüştür. Bu bulguların literatür verileri ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Santos vd. tarafından yapılan çalışmada κ-karragenan filmlere ilave edilen *Cymbopogon winterianus* esansiyel yağ ile FTIR spektrumunda yeni bir pikin gözlenmediği ancak esansiyel yağ miktarının artmasıyla mevcut piklerin yüksekliğinin arttığı ortaya konmuştur. Başka bir çalışmada κ-karragenan filmine farklı oranlarda kişniş uçucu yağı ilave edildiğinde filmlerin FTIR spektrumunda hidrojen bağlarının sayısındaki artışa bağlı olarak OH bandının daha yüksek dalga boyuna kaydığı rapor edilmiştir (Sathuvan vd. 2023).

Gıda kalitesini ve gıda güvenliğini artırma potansiyeline sahip olması nedeniyle, antimikrobiyal aktiviteye sahip yenilebilir ambalaj filmleri büyük ilgi görmektedir (Yousefi vd. 2022). Gıda oksidasyonunu ve istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesini önlemek için aktif bileşikler doğrudan gıda formülasyonuna eklenebilir, gıda yüzeyine kaplanabilir veya ambalaj malzemesine dahil edilebilmektedir (Benbettaieb vd. 2019). Sentetik antimikrobiyal ajanların paketlenme sisteminde kullanımının olası yan etkileri nedeniyle ve tüketicilerin kimyasal katkı maddeleri içermeyen sağlıklı gıdalara yönelik taleplerini karşılamak amacıyla antimikrobiyallerin doğal kaynaklardan seçilmesi ve genel olarak güvenli (GRAS) bileşikler olarak kabul edilen bileşiklerin kullanılması yönünde eğilim bulunmaktadır. Yenilebilir filmler, organik asitler, bakteriyosinler, uçucu yağlar ve ekstreler dahil olmak üzere çok çeşitli antimikrobiyal maddelerle işlenebilmektedir. Bu maddeler depolama sırasında gıdalara karışarak gıda güvenliğini

arttırmaktadır. Bir antimikrobiyalın seçiminde, hedef mikroorganizmaya karşı etkinliği, film oluşturunca biyopolimer ve mevcut diğcr gıda bileşenleri arasındaki olası etkileşimler dikkate alınmalıdır (Campos vd. 2011).

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen filmlerde gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite elde edilememiştir. Literatür incelendiğinde antimikrobiyal filmlerin etkinliği aktif maddelerin film içindeki difüzyonuna dayandığı, dolayısıyla film sentezi aşaması ve sonrasında ekstrede bulunan aktif madde moleküllerinin boyutu şekli, ayrıca filmi oluşturan polimer yapısı (gözenek boyutu, polimerik zincir esnekliği) ve çevresel koşulların (pH, su aktivitesi ve sıcaklık) difüzyonu etkileyerek ekstrenin film içinde antimikrobiyal aktivite gösterememesine sebep olabileceği belirtilmiştir (Zacititi ve Kieckbusch 2009).

Film içindeyken herhangi bir inhibisyon yaratmayan ekstrenin ve lipitin antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Buna göre MAA lipitin tüm patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği, CU ekstre ve CU lipitin ise antimikrobiyal etki göstermediği belirlenmiştir.

Zon çapının 20 mm'den büyük olması çok güçlü antimikrobiyal, 11-20 mm olması güçlü antimikrobiyal, 6-10 mm olması orta antimikrobiyal ve 5 mm'den küçük olması zayıf antimikrobiyal olarak sınıflandırılmaktadır (Ningrum vd. 2021). Buna göre MAA lipit tüm patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal etki göstermiştir. En yüksek antimikrobiyal aktivite gram pozitif bakterilerine karşı gözlenmiştir. Bu, gram-pozitif bakterilerin gram-negatif bakterilere göre daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Bunun nedeni, gram-negatif bakterilerin hücre duvarını kaplayan kalın bir lipopolisakkarit dış zar tabakasına sahip olması ve hidrofobik moleküllere karşı güçlü bir bariyer görevi görmesinden kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla antibakteriyel ajan olarak lipit gram-pozitif bakterilerin hücre duvarlarından gram-negatif bakterilere göre daha kolay geçebilmektedir (Zhang vd. 2016, Benbettaieb vd. 2019).

Bu tez çalışması kapsamında;

- i) Literatürde ilk kez SCG'den ultrasonik dalga ekstraksiyonu ile yeşil çözücüler kullanılarak lipit ekstraksiyonu sağlanmış ve ekstraksiyon parametrelerinin elde edilen lipitlerin yağ asidi profillerine etkisi belirlenmiş,
- ii) seçilen DES'ler ile lipit veriminin optimizasyonu gerçekleştirilmiş,
- iii) farklı yöntemler kullanılarak ekstrelerden lipit saflaştırılmış,
- iv) elde edilen ekstre ve saflaştırılmış lipitler katkı maddesi olarak veya gliserol yerine yenilebilir filmlere dahil edilmiştir.

İleriki çalışmalarda, lipit veriminin yanı sıra ekstrakte edilen lipit içinde yer alan yağ asitlerinden yalnızca bir tanesi hedeflenerek lipit profilinin optimizasyonu gerçekleştirilebilir, filmlerde antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerin artması ve gerilme direncinin iyileştirilmesi için farklı film bileşenleri denenerek film formülasyonları geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Abbott, A. P., Boothby, D., Capper, G., Davies, D. L., & Rasheed, R. K. 2004. Deep Eutectic Solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: Versatile alternatives to ionic liquids. *Journal of the American Chemical Society*, 126(29), 9142–9147.
- Abdullah, M., & Bulent Koc, A. 2013. Oil removal from waste coffee grounds using two-phase solvent extraction enhanced with ultrasonication. *Renewable Energy*, 50, 965–970.
- Acevedo-Fani, A., Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M. A., & Martín-Belloso, O. 2015. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, 47, 168–177.
- Ahangari, B., and Sargolzaei, J. 2013. Extraction of lipids from spent coffee grounds using organic solvents and supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(5)
- Akgün, N.A., Bulut, H., Kikic, I., Solinas, D., 2014. Extraction behavior of lipids obtained from spent coffee grounds using supercritical carbon dioxide *Chem. Eng. Technol.* 37 (11), 1975–1981.
- Al-Hamamre, Z., Foerster, S., Hartmann, F., Kröger, M., Kaltschmitt, M., 2012. Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing. *Fuel* 96, 70–76.
- Andrade, R., Skurtys, O., & Osorio, F. 2015. Drop impact of gelatin coating formulated with cellulose nanofibers on banana and eggplant epicarps. *LWT*, 61(2), 422–429.
- Apriliyani, W. M., Purwadi, P., Manab, A., Apriliyanti, M.W., Ikhwan, D.A. 2020. Characteristics of Moisture Content, Swelling, Opacity and Transparency with Addition Chitosan as Edible Films/Coating Base on Casein. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 18(1), 9–14.
- Asevedo, E. A., das Chagas, B. M. E., de Oliveira Júnior, S. D., & dos Santos, E. S. 2023. Recovery of lipids and carotenoids from *Dunaliella salina* microalgae using deep eutectic solvents. *Algal Research*, 69.
- Atabani, A. E., Al-Muhtaseb, A. H., Kumar, G., Saratale, G. D., Aslam, M., Khan, H. A., Said, Z., & Mahmoud, E. 2019. Valorization of spent coffee grounds into biofuels and value-added products: Pathway towards integrated bio-refinery. *Fuel*, 254.
- Atar'es, L., & Chiralt, A. 2016. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 51–62.
- Atta, O. M., Manan, S., Ul-Islam, M., Ahmed, A. A. Q., Ullah, M. W., & Yang, G. 2022. Development and characterization of plant oil-incorporated carboxymethyl

- cellulose/bacterial cellulose/glycerol-based antimicrobial edible films for food packaging applications. *Advanced Composites and Hybrid Materials*, 5(2), 973–990.
- Benbettaïeb, N., Debeaufort, F., & Karbowski, T. 2019. Bioactive edible films for food applications: mechanisms of antimicrobial and antioxidant activity. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59(21) 3431–3455.
- Bildik, F. 2021. Application of choline chloride as natural deep eutectic solvents for the green extraction of phenolic compounds from *Rheum ribes* leaves. *European Journal of Technique*. 11, 140–143.
- Blinová, L., Sirotiak, M., Bartošová, A., & Soldán, M. 2017. Review: Utilization of Waste From Coffee Production. *Research Papers Faculty of Materials Science and Technology Slovak University of Technology*, 25(40), 91–101.
- Boateng, I. D. A 2022. critical review of emerging hydrophobic deep eutectic solvents' applications in food chemistry: Trends and opportunities. *J. Agric. Food Chem.* 70, 11860–11879.
- Bomfim, A.S.; de Oliveira, D.M.; Walling, E.; Babin, A.; Hersant, G.; Vaneeckhaute, C.; Dumont, M.-J.; Rodrigue, D. 2022. Spent coffee grounds characterization and reuse in composting and soil amendment. *Waste* 1, 2–20.
- Caetano, N.S., Silva, V.F.M., Mata, T.M., 2012. Valorization of coffee grounds for biodiesel production. *Chem. Eng. Trans.* 26, 267–272.
- Campos, C.A., Gerschenson L.N., Flores, S.K. 2010. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food Bioprocess Technol* 46(4):849–875
- Campos-Vega, R.; Loarca-Piña, G.; Vergara-Castañeda, H.; Oomah, B.D. 2015. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends Food Sci. Technol.* 45, 24–36.
- Cao, J., & Su, E. 2021. Hydrophobic deep eutectic solvents: the new generation of green solvents for diversified and colorful applications in green chemistry. *Journal of Cleaner Production*, 314, 127965.
- Cervera-Mata, A., Fernández-Arteaga, A., Navarro-Alarcón, M., Hinojosa, D., Pastoriza, S., Delgado, G., et al., 2021. Spent coffee grounds as a source of smart biochelates to increase Fe and Zn levels in lettuces. *J. Clean. Prod.* 328, 129548.
- Chawla, R., Sivakumar, S., & Kaur, H. (2021). Antimicrobial edible films in food packaging: Current scenario and recent nanotechnological advancements- a review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100024.
- Chen, J., Liu, M., Wang, Q. Zhang, H. 2016 Deep eutectic solvent-based microwave-assisted method for extraction of hydrophilic and hydrophobic components from *Radix Salviae miltiorrhizae*, *Molecules* 21

- Chen, W. 2021. Fortification of edible films with bioactive agents: a review of their formation, properties, and application in food preservation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1–27
- Ciannamea, E. M., Stefani, P. M., & Ruseckaite, R. A. 2016. Properties and antioxidant activity of soy protein concentrate films incorporated with red grape extract processed by casting and compression molding. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 74, 353–362.
- Coelho, J. P., Filipe, R. M., Paula Robalo, M., Boyadzhieva, S., St Cholakov, G., & Stateva, R. P. 2020. The Journal of Supercritical Fluids Supercritical CO₂ extraction of spent coffee grounds. Influence of co-solvents and characterization of the extracts. *J. of Supercritical Fluids*, 161, 104825.
- Couto, R.M. Fernandes, J. da Silva, M.D.R.G. Simões, P.C. 2009. Supercritical fluid extraction of lipids from spent coffee grounds, *J. Supercritical Fluids* 51, 159–166
- Cruz, J.R, Mendes, E., Torrinha, Á., Morais, S., Pereira, J.A., Baptista, P., Casal, S. 2015. Carotenoids of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Grown on Soil Enriched with Spent Coffee Grounds. *Food Res.* 17(2): 1535–1547.
- Cunha S.C, Fernandes J.O. 2018. Extraction techniques with deep eutectic solvents. *TrAC Trends Anal. Chem.* 105:225–39
- de Moraes Crizel, T., de Oliveira Rios, A., Alves, V. D., Bandarra, N., Moldão-Martins, M., & Hickmann Flôres, S. 2018. Biodegradable Films Based on Gelatin and Papaya Peel Microparticles with Antioxidant Properties. *Food and Bioprocess Technology*, 11(3), 536–550.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., & Voilley, A. 1998. Edible films and coatings: Tomorrow's packagings: A review. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38, 299–313.
- Dhall, R. K. 2013. Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53(5), 435–450.
- Di Pasqua, R., Betts, G., Hoskins, N., Edwards, M., Ercolini, D., Mauriello, G., 2007. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. *J. Agric. Food. Chem.* 55, 4863–4870.
- Dordevic, D., Dordevic, S., Abdullah, F. A. A., Mader, T., Medimorec, N., Tremlova, B., & Kushkevych, I. 2023. Edible/Biodegradable Packaging with the Addition of Spent Coffee Grounds Oil. *Foods*, 12(13).
- Dwamena, A.K. 2019. Recent advances in hydrophobic deep eutectic solvents for extraction, *Separations* 6, 9.
- Efthymiopoulos, I., 2018. Recovery of lipids from spent coffee grounds for use as a biofuel. Doctoral dissertation, University College London, London, UK.

- Fakhreddin Hosseini, S., Rezaei, M., Zandi, M., & Farahmandghavi, F. 2014. Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. 44,172-182
- Fan C, Sebbah T, Liu Y, Cao X:2021. Terpenoid-capric acid based natural deep eutectic solvent: insight into the nature of low viscosity. *Clean Eng Technol* 3:100116
- Florindo, C., Branco, L. C., & Marrucho, I. M. 2017. Development of hydrophobic deep eutectic solvents for extraction of pesticides from aqueous environments. *Fluid Phase Equilibria*, 448, 135–142.
- Gennadios, A., Hanna, M. A., & Kurth, L. B. 1997. Application of Edible Coatings on Meats, Poultry and Seafoods: A Review.
- Global coffee production 2021/22 | Statista. Retrieved November 14, 2023, from <https://www.statista.com/statistics/263311/worldwide-production-of-coffee/>
- Han, J. H. 2013. Edible Films and Coatings: A Review. In *Innovations in Food Packaging: Second Edition* 213–255
- Han, J. H., & Floros, J. D. 1997. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13(4), 287–298.
- Hassan, B., Ali Shahid Chatha, S., Ijaz Hussain, A., Mahmood Zia, K., & Akhtar, N. 2018. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 1095–1107.
- Hernandez-Izquierdo, V. M., & Krochta, J. M. 2008. Thermoplastic processing of proteins for film formation - A review. *Journal of Food Science*, 73(2).
- Herrera, J. C., & Lambot, C. 2017. The Coffee Tree – Genetic Diversity and Origin. In: *The Craft and Science of Coffee*, B. Folmer (Eds.), Academic Press, 1-16.
- Herrero, M.; Plaza, M.; Cifuentes, A.; Ibáñez, E. 2012. Extraction techniques for the determination of phenolic compounds in food. In *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*; Pawliszyn, J., Ed.; Academic Press: Oxford, UK, 159–180.
- Hibbert, S., Welham, K., & Zein, S. H. 2019. An innovative method of extraction of coffee oil using an advanced microwave system: in comparison with conventional abduallahet extraction method. *SN Applied Sciences*, 1(11).
- Jancikova, S., Dordevic, D., Jamroz, E., Behalova, H., & Tremlova, B. 2020. Chemical and physical characteristics of edible films, based on κ - And ι -carrageenans with the addition of lapacho tea extract. *Foods*, 9(3).
- Jessop, P.G. 2011. Searching for green solvents, *Green Chem.* 13 (6) 1391,

- Jin, X., Zhou, J., Richey, G., Wang, M. Hong, S.M.C., Hong, S.H. 2021. Undecanoic acid, lauric acid, and N-tridecanoic acid inhibit *Escherichia coli* persistence and biofilm formation, *J. Microbiol. Biotechnol.* 31, 130–136.
- Keshavarzipour, F.; Tavakol, H. 2016. The synthesis of coumarin derivatives using choline chloride/zinc chloride as a deep eutectic solvent. *J. Iran. Chem. Soc.* 13, 149–153.
- Khare, L., Karve, T., Jain, R., Dandekar, P. 2021. Menthol based hydrophobic deep eutectic solvent for extraction and purification of ergosterol using response surface methodology, *Food Chem.* 340, 127979.
- Kondamudi, N Mohapatra, S.K, Misra, M. 2008 Spent coffee grounds as a versatile source of green energy *J. Agric. Food Chem.*, 56 (24), 11757
- Křížek, T., Bursová, M., Horsley, R., Kuchař, M., Tůma, P., Čabala, R., & Hložek, T. 2018. Menthol-based hydrophobic deep eutectic solvents: Towards greener and efficient extraction of phytocannabinoids. *Journal of Cleaner Production*, 193, 391–396.
- Kumar, L., Ramakanth, D., Akhila, K., & Gaikwad, K. K. 2022. Edible films and coatings for food packaging applications: a review. In *Environmental Chemistry Letters* 20(1) 875–900.
- Kumar, N., Ojha, A., & Singh, R. 2019. Preparation and characterization of chitosan-pullulan blended edible films enrich with pomegranate peel extract. *Reactive and Functional Polymers*, 144, 104350
- Kurtulbaş, E., Gizem Pekel, A., Toprakçı, İ., Özçelik, G., Bilgin, M., & Şahin, S. 2020. Hydrophobic carboxylic acid based deep eutectic solvent for the removal of diclofenac. *Biomass Convers Bior* 1-9
- Leow, Y., Yin, P., Yew, M., Chee, P. L., Loh, X. J., & Kai, D. 2021. Recycling of spent coffee grounds for useful extracts and green composites *Rsc Adv* 11, 2682–2692
- Lina F, Ballesteros JA, Teixeira SI, Mussatto 2014. Chemical, functional, and structural properties of spent coffee grounds and coffee silverskin. *Food Bioprocess Technol* 7:3493–3503
- Liu, F., R. Wu, X. Ma, and E. Su. 2022. The Advancements and Prospects of Nervonic Acid Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 70 (40):12772–83.
- Liu, J., Wang, H., Guo, M., Li, L., Chen, M., Jiang, S., Li, X., & Jiang, S. (2019). Extract from *Lycium ruthenicum* Murr. Incorporating κ -carrageenan colorimetric film with a wide pH-sensing range for food freshness monitoring. *Food Hydrocolloids*, 94, 1–10.

- Loyao, A.S.; Villasica, S.L.G.; Dela Peña, P.L.L.; Go, A.W. 2018. Extraction of lipids from spent coffee grounds with non-polar renewable solvents as alternative. *Ind. Crop. Prod.* 119, 152–161.
- Ma, Y., Wang, Q., & Zhu, T. 2019. Comparison of hydrophilic and hydrophobic deep eutectic solvents for pretreatment determination of sulfonamides from aqueous environments. *Analytical Methods*, 11(46), 5901–5909.
- Makoś, P., Słupek, E., & Gębicki, J. 2019. Hydrophobic deep eutectic solvents in microextraction techniques-A review. *Microchem. J.*, 152, 104384.
- Marto, J., Gouveia, L. F., Chiari, B. G., Paiva, A., Isaac, V., Pinto, P., Simões, P., Almeida, A. J., & Ribeiro, H. M. 2016. The green generation of sunscreens: Using coffee industrial sub-products. *Industrial Crops and Products*, 80, 93–100.
- Mchugh, T. H., Aujard, J.-F., & Krochta, J. M. 1994. Plasticized Whey Protein Edible Films: Water Vapor Permeability Properties. *Journal of food science*, 59 (2), 416–419
- Miladi, M., Martins, A. A., Mata, T. M., Vegara, M., Pérez-Infantes, M., Remmani, R., Ruiz-Canales, A., Núñez-Gómez, D. 2021. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Spent Coffee Grounds Oil Using Response Surface Methodology. *Processes*, 9(11).
- Mkhonto, B., Chetty, M., 2021. 2-methyltetrahydrofuran as a potential green solvent for lipids extraction from spent coffee grounds for fuel grade hydrocarbons production. *Chem. Eng. Trans.* 89, 409–414.
- Mohamed, S. A., El-Sakhawy, M., Abdel-Monem El-Sakhawy, M. 2020. Polysaccharides, Protein and Lipid-Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review. *Carbohydr Polym*, 238
- Muangrat, R., Pongsirikul, I. 2019. Recovery of spent coffee grounds oil using supercritical CO₂: extraction optimization and physicochemical properties of oil. *Journal of Food*, 17(1), 334–346.
- Muñoz, M., Roa, M., Correa, R. 2019. Endocarp analysis of a traditional variety of colombian coffee. *Coffee Science* 14(2), 206–222
- Murthy, P. S.; Madhava Naidu, M. 2012. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition- A review. *Resources, Conservation and Recycling* 66, 45–58
- Musale, R. Shukla, S.R. 2016. Deep eutectic solvent as effective catalyst for aminolysis of polyethylene terephthalate (PET) waste *International Journal of Plastics Technology* 20(1)
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S., & Teixeira, J. A. 2011. Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. In *Food and Bioprocess Technology* 4(5), 661–672.

- Ningrum, A., Widyastuti Perdani, A., Supriyadi, Siti Halimatul Munawaroh, H., Aisyah, S., Susanto, E. 2021. Characterization of Tuna Skin Gelatin Edible Films with Various Plasticizers-Essential Oils and Their Effect on Beef Appearance. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9).
- Nur Fatin Nazurah, R., Nur Hanani, Z. A. 2017. Physicochemical characterization of kappa-carrageenan (*Euchema cottoni*) based films incorporated with various plant oils. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1479–1487.
- Obruca, S., Benesova, P., Kucera, D., Petrik, S., & Marova, I. 2015. Biotechnological conversion of spent coffee grounds into polyhydroxyalkanoates and carotenoids. In *New Biotechnology* 32(6), 569–574.
- Oun, A. A., & Rhim, J. W. 2017. Carrageenan-based hydrogels and films: Effect of ZnO and CuO nanoparticles on the physical, mechanical, and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, 67, 45–53.
- Pavlat, A. E., & Orts, W. 2009. Edible Films and Coatings: Why, What, and How? In *Edible Films and Coatings for Food Applications* 1–23
- Phung, N. V., F. Rong, W. Y. Xia, Y. Fan, X. Y. Li, S. A. Wang, and F. L. Li. 2023. Nervonic acid and its sphingolipids: Biological functions and potential food applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1–20.
- Priya, K., Thirunavookarasu, N., & Chidanand, D. V. 2023. Recent advances in edible coating of food products and its legislations: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 12.
- Ribeiro, H., Marto, J., Raposo, S., Agapito, M., Isaac, V., Chiari, B. G., Lisboa, P. F., Paiva, A., Barreiros, S., & Simões, P. 2013. From coffee industry waste materials to skin-friendly products with improved skin fat levels. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(3), 330–336.
- Rocha, M.V.P., José, L., Lima De Matos, B., Pinto De Lima, L., Marciano Da, P., Figueiredo, S., Lucena, L., André, F., Fernandes, N., Rocha, L., & Gonçalves, B. 2014. Ultrasound-assisted production of biodiesel and ethanol from spent coffee grounds. *Bioresour. Technol.*, 167, 343–348
- Santos, É. M. dos, Macedo, L. M. de, Tundisi, L. L., Ataíde, J. A., Camargo, G. A., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P. P., & Mazzola, P. G. 2021. Coffee by-products in topical formulations: A review. In *Trends in Food Science and Technology* 111, 280–291.
- Sathuvan, M., Thangam, R., Cheong, K. L., Kang, H., & Liu, Y. 2023. κ -Carrageenan-essential oil loaded composite biomaterial film facilitates mechanosensing and tissue regenerative wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 241.
- Schaeffer, N.; Martins, M. A.; Neves, C. M.; Pinho, S. P.; Coutinho, J. A. 2018. Sustainable Hydrophobic Terpene-based Eutectic Solvents for the Extraction and Separation of Metals. *Chem. Commun.* 54, 8104–8107

- Shafie, M. H., Yusof, R., & Gan, C. Y. 2019. Synthesis of citric acid monohydrate-choline chloride based deep eutectic solvents (DES) and characterization of their physicochemical properties. *Journal of Molecular Liquids*, 288.
- Shah, D., & Mjalli, F. S. 2014. Effect of water on the thermo-physical properties of Reline: An experimental and molecular simulation based approach. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16(43), 23900–23907.
- Shamsuri A.A., Abdullah D.K., 2010. Protonation and Complexation Approaches for Production of Protic Eutectic Ionic Liquids. *J. Phys. Sci.* 21, 15-28.
- Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Hosseini, S. M., & Khaksar, R. 2014. Characterization of κ -carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 582–591.
- Silva, N.H.C.S., Morais, E.S., Freire, C.S.R., Freire, M.G., Silvestre, A.J.D. 2020. Extraction of high value triterpenic acids from *Eucalyptus globulus* biomass using hydrophobic deep eutectic solvents, *Molecules* 25.
- Simona, J., Dani, D., Petr, S., Marcela, N., Jakub, T., & Bohuslava, T. 2021. Edible films from carrageenan/orange essential oil/trehalose—structure, optical properties, and antimicrobial activity. *Polymers*, 13(3), 1–19.
- Smith E.L., Abbott A.P., Ryder K.S. 2014. Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. *Chem Rev*; 114:11060–82.
- Sousa, S., Machado, M., Carvalho, A. P., Pintado, M., & Gomes, A. M. 2023. Alternative sources of bioactive lipids: Challenges and perspectives (microalgae, plant seeds). *Bioactive Lipids* 297-320
- Stevanato, N., & Da Silva, C. 2019. Radish seed oil: Ultrasound-assisted extraction using ethanol as solvent and assessment of its potential for ester production. *Ind. Crop Prod.*, 132, 283-291
- Stupar, A.; Šeregelj, V.; Ribeiro, B.D.; Pezo, L.; Cvetanović, A.; Mišan, A.; Marrucho, I. Recovery of β -carotene from pumpkin using switchable natural deep eutectic solvents. *Ultrason. Sonochem.* 2021, 76, 105638
- Suhag, R., Kumar, N., Petkoska, A. T., & Upadhyay, A. 2020. Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. In *Food Research International*, 136, Elsevier Ltd.
- Sundqvist-Andberg, H., & Åkerman, M. 2021. Sustainability governance and contested plastic food packaging-An integrative review. *J. Clean. Prod.* 306, 127111.
- Şen, M., & Erboz, E. N. 2010. Determination of critical gelation conditions of κ -carrageenan by viscosimetric and FT-IR analyses. *Food Research International*, 43(5), 1361–1364.

- Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., & Masoudpour-Behabadi, M. 2016. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 137, 360–374.
- Tharanathan, R. N. 2003. Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. In *Trends in Food Science and Technology*, 14, (3), 71–78.
- Tian, Y., Xu, Z., Zheng, B., & Lo, Y. M. 2012. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Ultrason. Sonochem*, 20 (1) 202-208
- van Osch, D.J.G.P., Zubeir, L.F., Van Den Bruinhorst, A., Rocha, M.A.A. and Kroon, M.C. 2015. Hydrophobic deep eutectic solvents as water-immiscible extractants. *Green Chemistry*, 17(9); 4518–4521.
- Velásquez, P., Bustos, D., Montenegro, G., & Giordano, A. 2021. Ultrasound-assisted extraction of anthocyanins using natural deep eutectic solvents and their incorporation in edible films. *Molecules*, 26(4).
- Viñas-Ospino, A., Panić, M., Bagović, M., Radošević, K., Esteve, M. J., & Radojčić Redovniković, I. 2023. Green approach to extract bioactive compounds from orange peel employing hydrophilic and hydrophobic deep eutectic solvents. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 31.
- Wang, L. T., Yang, Q., Cui, Q., Fan, X. H., Dong, M. Z., Gao, M. Z., Lv, M. J., An, J. Y., Meng, D., Zhao, X. H., Fu, Y. J. 2020. Recyclable menthol-based deep eutectic solvent micellar system for extracting phytochemicals from Ginkgo biloba leaves. *Journal of Cleaner Production*, 244.
- Wang, M., J. Wang, Y. Zhou, M. Zhang, Q. Xia, W. Bi, D. D. Y.Chen. 2017. Ecofriendly mechanochemical extraction of bioactivecompounds from plants with deep eutectic solvents.*ACSSustainable Chemistry & Engineering* (7):6297–30
- Wang, Q., Chen, W., Zhu, W., McClements, D. J., Liu, X., & Liu, F. 2022. A review of multilayer and composite films and coatings for active biodegradable packaging. In *npj Science of Food* 6(1)
- Warrag, S.E.E., Kroon, M.C. 2019. Hydrophobic Deep Eutectic Solvents. *Deep Eutectic Solvents*, John Wiley & Sons, Ltd , 83–93.
- Williamson, K., Hatzakis, E. 2018. NMR analysis of roasted coffee lipids and development of a spent ground coffee application for the production of bioplastic precursors. *Food Res.* 119, 683–692.
- Wu, Y., Wu, H., & Hu, L. 2023. Recent Advances of Proteins, Polysaccharides and Lipids-Based Edible Films/Coatings for Food Packaging Applications: a Review. In *Food Biophysics*. 19, 29-45

- Yousefi, M., Nematollahi, A., Shadnoush, M., Mortazavian, A. M., & Khorshidian, N. 2022. Antimicrobial Activity of Films and Coatings Containing Lactoperoxidase System: A Review. In *Frontiers in Nutrition* 9.
- Zarei, A. R., Nedaei, M., & Ghorbanian, S. A. 2018. Ferrofluid of magnetic clay and menthol based deep eutectic solvent: Application in directly suspended droplet microextraction for enrichment of some emerging contaminant explosives in water and soil samples. *Journal of Chromatography A*, 1553, 32–42.
- Zhang, H.; Tang, B.; Row, K.H. A green deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted method to extract astaxanthin from shrimp byproducts. *Anal. Lett.* 2014, 47, 742–749.
- Zhang, Q. A., Zhang, Z. Q., Yue, X. F., Fan, X. H., Li, T., & Chen, S. F. (2009). Response surface optimization of ultrasound-assisted oil extraction from autoclaved almond powder. *Food Chemistry*, 116(2), 513–518.
- Zhang, Q., De Oliveira Vigier, K., Royer, S., & Jérôme, F. (2012). Deep eutectic solvents: Syntheses, properties and applications. *Chemical Society Reviews*, 41(21), 7108–7146.
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P., & Quek, S. Y. (2016). Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, 59, 282–289.
- Zhang, Y.; Rempel, C.; McLaren, D. 2014. Edible Coating and Film Materials: Carbohydrates. In *Innovations in Food Packaging*, 305–323
- Zhen, N., Wang, X., Li, X., Xue, J., Zhao, Y., Wu, M., Zhou, D., Liu, J., Guo, J., & Zhang, H. (2022). Protein-based natural antibacterial materials and their applications in food preservation. *Microbial Biotechnology*, 15(5), 1324–1338.

EKLER

EK 3 %75 hidrofobik DES ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstrelerin lipit kompozisyonu

EK 4 %50 hidrofobik DES ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstrelerin lipit kompozisyonu

EK 5 %75 hidrofilik DES ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstrelerin lipit kompozisyonu

EK 6 %50 hidrofilik DES ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstrelerin lipit kompozisyonu

EK 7 Optimum ekstrelerin saflaştırılması sonrasında elde edilen lipitlerin kompozisyonu

EK 8 Saflaştırılmış lipitlerin GC kromatogramları

EK 1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Kimyasal	Firma	Katalog No
DL-mentol	Sigma Aldrich	W266507
Üre	Merck	1.084.871.000
L-Laktik asit	Sigma Aldrich	27714
Propiyonik asit	Merck	G5516
Tartarik asit	Sigma Aldrich	33801
Laurik asit	Sigma Aldrich	W261408
Hekzan	Isolab	1.043.912.500
Potasyum hidroksit	Merck	105012
Kolin klorür	Sigma	C1879
Gliserol	Sigma Aldrich	G5516
Etanol	Isolab	9.200.262.500
Metanol	Sigma Aldrich	24229
κ -karragenan	Fluka	22048
Tween 80	Merck	822187

EK 2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Cihaz	Model
Ultrasonik banyo	Elma, Elmasonic S 30 H
Terazi	Mettler AB54-S; Scaltec
UV-VIS spektrofotometre	Shimadzu UV-1601
Liyofilizatör	Hetosicc
Döner buharlaştırıcı	Heidolph
Saf su cihazı	Millipore
GC-FID	Shimadzu 2010 Plus
Etüv	Zhichang-ZRD 5110
Manyetik karıştırıcı	Isolab Laborgerate GmbH
Santrifüj	Hettich Rotina 35 R
Filtre kağıdı	Macherey-Nagel 125 mm

EK 3 %75 Hidrofobik DES İle Gerçekleştirilen Ekstraksiyon Sonrası Elde Edilen Ekstrelerin Lipit Kompozisyonu

Yağ asitleri	MAA (1:1)	MAA (1:2)	MLA (1:1)	MPA (1:1)
Kaprilik asit (C8:0)	0.004	-	0.23	-
Kaprik asit (C10:0)	16.27	3.75	0.003	-
Undekanoik asit (C11:0)	83.7	96.15	98.3	99.96
Laurik asit (C12:0)	-	-	0.18	-
<i>cis</i> -10-pentadekanoik asit (C15:1)	-	-	1.11	-
Palmitik asit (C16:0)	0.003	0.003	0.05	0.01
Palmitoleik asit (C16:1)		0.056	-	
Heptadekanoik asit (C17:0)	0.001	-	-	-
Stearik asit (C18:0)	0.0007	-	0.01	-
Oleik asit (C18:1n9c)	0.0041	0.003	0.03	-
Elaidik asit (C18:1n9t)	-	-	-	-
Linolelaidik asit (C18:2n6t)		0.006	-	
Linoleik asit (C18:2n6c)	0.0036	0.0038	0.07	0.01
Linolenik asit (C18:3n3)	-	-	0.003	-
Araşidik asit (C20:0)	-	0.013	0.004	-
<i>cis</i> -11,14-eikosadieonik asit (C20:2)	0.0044	-	-	-
<i>cis</i> -8,11,14-eikosatrienoik asit (C20:3n6)	-	-	-	-
Behenik asit (C22:0)	0.0040	-	0.001	-
Trikasanoik asit (C23:0)	-	-	0.004	-
<i>cis</i> -5,8,11,14,17-eikosapentanoik asit (C20:5n3) EPA	-	-	0.002	-
<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19,dokosahekzaenoik asit (C22:6n3) DHA	-	-	0.002	-
Nervonik asit (C24:1)	0.0032	0.0084	-	-

EK 4 %50 Hidrofobik DES İle Gerçekleştirilen Ekstraksiyon Sonrası Elde Edilen Ekstrelerin Lipit Kompozisyonu

Yağ asitleri	MAA (1:1)	MAA (1:2)	MLA (1:1)	MPA (1:1)
Kaprilik asit (C8:0)	2.06	0.008	0.18	0.002
Kaprik asit (C10:0)	-	-	-	-
Undekanoik asit (C11:0)	-	99.89	92.31	99.82
Laurik asit (C12:0)	-	-	-	-
Tridekanoik asit (C13:0)	-	-	-	0.002
<i>cis</i> -10-pentadekanoik asit (C15:1)	-	-	7.27	-
Palmitik asit (C16:0)	29.28	0.017	-	0.02
Palmitoleik asit (C16:1)	-	-	-	-
Heptadekanoik asit (C17:0)	-	0.001	-	-
Stearik asit (C18:0)	6.28	0.004	0.0067	0.008
Oleik asit (C18:1n9c)	10.92	0.04	0.0095	0.033
Elaidik asit (C18:1n9t)	-	0.001	-	-
Linolelaidik asit (C18:2n6t)	-	-	-	0.002
Linoleik asit (C18:2n6c)	41.03	0.02	0.038	-
Linolenik asit (C18:3n3)	-	-	0.001	0.09
Araşidik asit (C20:0)	2.24	0.002	-	0.001
<i>cis</i> -11,14-eikosadienik asit (C20:2)	2.98	0.001	-	-
<i>cis</i> -8,11,14-eikosatrienoik asit (C20:3n6)	-	-	-	-
Heneikosanoik asit	-	-	0.001	-
Behenik asit (C22:0)	1.27	-	-	-
<i>cis</i> -13-16-dokosadienoik asit (C22:2)	-	-	0.07	-
Trikasanoik asit (C23:0)	-	-	0.083	-
<i>cis</i> -5,8,11,14,17-eikosapentanoik asit (C20:5n3) EPA	-	-	-	-
<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19,dokosahekzaenoik asit (C22:6n3) DHA	-	-	-	-
Lignoserik asit	-	-	0.003	-
Nervonik asit (C24:1)	2.52	0.007	0.007	0.004

EK 5 %75 Hidrofilik DES İle Gerçekleştirilen Ekstraksiyon Sonrası Elde Edilen Ekstrelerin Lipit Kompozisyonu

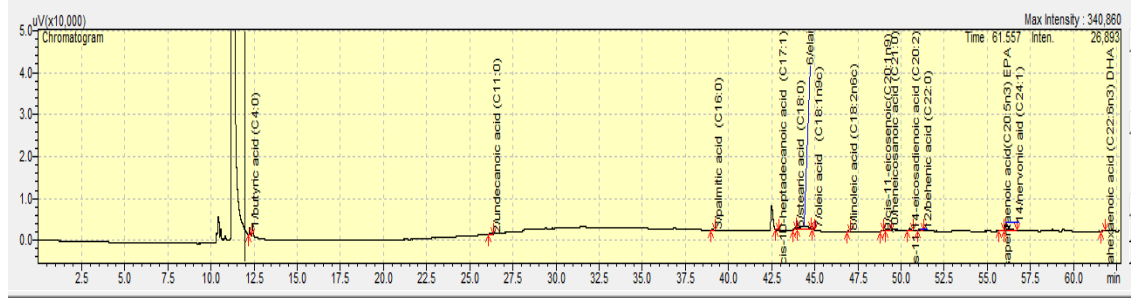
Yağ asitleri	CU (1:1)	CU (1:2)
Kaprik asit (C10:0)	29.96	-
Laurik asit (C12:0)	-	-
Tridekanoik asit (C13:0)		1.45
Pentadekanoik asit (C15:0)	25.8	-
<i>cis</i> -10-pentadekanoik asit (C15:1)	0.12	-
<i>cis</i> -10-heptadekanoik asit (C17:1)	29.96	-
Stearik asit (C18:0)	1.27	7.02
Oleik asit (C18:1n9c)		7.21
Elaidik asit (C18:1n9t)	0.12	13.54
Linolelaidik asit (C18:2n6t)	9.24	27.01
Linoleik asit (C18:2n6c)	0.46	2.05
Gama linolenik (C18:3n6)	-	1.62
Araşidik asit (C20:0)	-	9.78
<i>cis</i> -11-eikosadieonik (C20:1n9)	-	1.12
<i>cis</i> -11,14-eikosadieonik asit (C20:2)	-	3.71
<i>cis</i> -8,11,14-eikosatrienoik asit (C20:3n6)	1.14	2.54
Heneikosanoik asit	-	5.59
<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19,dokosahekzaenoik asit (C22:6n3) DHA	1.19	-
Lignoserik asit (C24:0)	-	17.3

EK 6 %50 Hidrofilik DES İle Gerçekleştirilen Ekstraksiyon Sonrası Elde Edilen Ekstrelerin Lipit Kompozisyonu

Yağ asitleri	CU (1:1)	CU (1:2)
Bütirik asit (C4:0)	39	-
Kaproik asit (C6:0)	1.68	0.11
Kaprilik asit (C8:0)	1.91	0.36
Kaprik asit (C10:0)	-	1.06
Pentadekanoik asit (C15:0)	-	0.69
Palmitik asit (C16:0)	2.30	1.54
Palmitoleik asit (C16:1)	-	-
Heptadekanoik asit (C17:0)	3.38	0.92
<i>cis</i> -10-heptadekanoik asit (C17:1)	22.21	-
Stearik asit (C18:0)	0.02	-
Oleik asit (C18:1n9c)	1.84	5.57
Elaidik asit (C18:1n9t)	1.10	0.59
Linolelaidik asit (C18:2n6t)	4.74	-
Linoleik asit (C18:2n6c)	2.88	0.90
Gama linolenik (C18:3n6)	1.94	4.37
Araşidik asit (C20:0)	3.11	0.59
<i>cis</i> -11,14-eikosadieonik asit (C20:2)	2.63	-
<i>cis</i> -11-14-17-eikosatrienoik asit (C20:3n3)	-	0.11
Erukik (C22:1n9)	-	0.80
Trikasanoik asit (C23:0)	2.95	-
<i>cis</i> -5,8,11,14,17-eikosapentanoik asit (C20:5n3) EPA	2.72	-
<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19, dokosahekzaenoik asit (C22:6n3) DHA	4.98	77.30
Lignoserik asit (C24:0)	23.99	5.09

EK 7 Saflaştırılmış Lipitlerin GC Kromatogramları

CU (1:1)-lipit



MAA (1:1)-lipit

