

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**FARKLI ORANLARDA LİMON YAĞI KATILMIŞ
JELATİN-KİTOSAN FİLMLERİNİN BAZI FİZİKSEL
VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Aslıhan TÜĞEN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 05.11.2018

Bornova-İZMİR

2018

Aslıhan TÜĞEN tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “**Farklı Oranlarda Limon Yağı Katılmış Jelatin-Kitosan Filmlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi**” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 05/11/2018 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK



Raportör Üye: Prof. Dr. Semih ÖTLEŞ



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Seval DAĞBAĞLI



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **“Farklı Oranlarda Limon Yağı Katılmış Jelatin-Kitosan Filmlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi”** başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

Aslıhan TÜĞEN

ÖZET**FARKLI ORANLARDA LİMON YAĞI KATILMIŞ
JELATİN-KİTOSAN FİLMLERİNİN BAZI FİZİKSEL VE
KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

TÜĞEN, Aslıhan

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK

Kasım 2018, 94 sayfa

Bu çalışmada, farklı oranlarda (%0.25-%0.50-%0.75-%1) limon yağı ile zenginleştirilmiş ve limon yağı ilave edilmemiş (kontrol) jelatin-kitosan (%40-%60) bazlı film örneklerinde, film kalınlığı, film çözünürlüğü, kopma mukavemeti ve kopma anında uzama, renk değerleri (CIE L*, a*, b*), ışık geçirgenliği, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite değerleri (DPPH, ABTS, metal şelatlayıcı aktivite) tespit edilmiştir. Taramalı elektron mikroskopunda (SEM) filmlerin görüntüleri alınmıştır. Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi yapılmıştır. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile limon yağının başlıca uçucu bileşenleri belirlenmiştir. Film örneklerinin askorbik asit içerikleri yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) yöntemi ile belirlenmiştir. Limon yağı ile zenginleştirilen film örneklerinin toplam fenolik madde içeriği 5.12 mg/kg ile 276.0 mg/kg arasında bulunmuştur. Sonuç olarak limon yağı oranı arttıkça filmlerin toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite ve askorbik asit içeriklerinin arttığı belirlenmiştir. Tüketici beğenisi üzerine olan etkisi de göz önüne alındığında, optimum limon yağı oranı olarak %0.75 belirlenmiştir. +4°C’de muhafaza edilen kaplanmamış (kontrol), jelatin-kitosan film çözeltisi ile kaplanmış, %0.75 limon yağı ile zenginleştirilmiş jelatin-kitosan film çözeltisi ile kaplanmış elma dilimlerinin depolama süresince (sıfırıncı, beşinci, yedinci gün) toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ve pH değerleri belirlenmiştir. Elde edilen tüm sonuçlar SPSS 24.0 paket programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (P<0.05).

Anahtar sözcükler: askorbik asit, antioksidan aktivite, jelatin, kitosan, limon yağı, toplam fenolik madde

ABSTRACT**DETERMINATION SOME PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF GELATIN-CHITOSAN FILMS ENRICHED WITH DIFFERENT RATIOS OF LEMON OIL**

TÜĞEN, Aslıhan

MSc in Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK

November 2018, 94 pages

In this study, film solubility, film thickness, tensile strength and elongation at break, colour values (CIE L*, a*, b*), light transmittance, amount of total phenolic compound, antioxidant activity values (DPPH, ABTS, metal chelating activity) of gelatin-chitosan films enriched with different ratios of lemon oil (0.25%-0.50%-0.75%-1%) and gelatine-chitosan (40%-60%) based film without lemon oil (control) were determined. Scanning electron microscope (SEM) images of gelatin-chitosan based films containing lemon oil were obtained. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis had been made. Lemon oil's main volatile components were determined with gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS). Ascorbic acid contents of the film samples were determined with high performance liquid chromatography (HPLC). Total phenolic compound contents of film samples enriched with lemon oil were found between with 5.12 mg/kg and 276 mg/kg. As a result, it was determined that with increased lemon oil ratio, total phenolic compound content, antioxidant activity and ascorbic acid contents were increased. Considering the effect of lemon oil on consumers preference, optimum lemon oil ratio has been determined as 0.75%. Apple slices were coated with gelatin-chitosan based film; gelatin-chitosan based films with 0.75% lemon oil and some samples were not coated. All these samples were stored at +4°C in refrigerator and their pH values and total mesophilic aerobic bacteria count were determined during storage period (zero, fifth, seventh day). Results were evaluated statistically with SPSS 24.0 (P<0.05).

Key words: ascorbic acid, antioxidant activity, gelatin, chitosan, lemon oil, total phenolic compound

TEŞEKKÜR

Lisansüstü çalışmalarım boyunca her zaman deneyimlerini benimle paylaşan, sabrı, anlayışı ile destek olan değerli tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özgül ÖZDESTAN OCAK'a ve tezimle ilgili analizlerde bana yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Buğra OCAK'a, çalışmalarım için gerekli ortamı oluşturan, güven veren, teşvik eden aileme, annem Nilüfer TÜĞEN ve babam Prof. Dr. Kâmil TÜĞEN'e ve diğer tüm yakınlarıma çok teşekkür ediyorum.

Bu tez çalışmasında yapılan araştırmalar için gerekli maddi desteği sağlayan Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (18 MÜH 009 no'lu proje) ayrıca teşekkür ederim.

Aslıhan TÜĞEN

İÇİNDEKİLER

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	6
2.1 Jelatin	6
2.1.1 Jelatinin Karakterizasyonu	6
2.2 Kitosan	7
2.2.1 Kitin ve kitosanın işlenmesi	9
2.2.2 Kitin ve kitosanın özellikleri	9
2.2.3 Kitosanın kimyasal özellikleri	10
2.2.4 Kitosanın biyolojik özellikleri	11
2.2.5 Kitin ve kitosan uygulamaları	12
2.2.6 Kitosanın endüstriyel uygulamaları	13
2.3 Limon	17
2.3.1 Limonun sağlığa faydaları	19
2.3.2 Limon yağı	22
2.4 Yenilebilir Filmler ve Kaplamalar	29
2.5 Film Üretiminde Kullanılan Plastikleştiriciler	30
2.6 Jelatin-Kitosan Filmlerin Gıdalarda Kullanımı	31
2.7 Limon Yağı İçeren Filmlerin Gıdalarda Kullanımı	33
3. MATERYAL VE METOT	34
3.1 Materyal	34
3.1.1 Kullanılan kimyasal malzemeler	34

İÇİNDEKİLER (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1.2 Filmlerin hazırlanması	36
3.2 Yöntem	37
3.2.1 Film kalınlığı	37
3.2.2 Kopma mukavemeti ve kopma anında uzama	37
3.2.3 Film çözünürlüğü.....	38
3.2.4 Renk analizi	38
3.2.5 Işık geçirgenliği	38
3.2.6 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile askorbik asit analizi .	39
3.2.7 Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ile limon yağının karakterizasyonu	40
3.2.8 DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite analizi.....	41
3.2.9 ABTS radikali giderme aktivitesi	42
3.2.10 Metal şelatlayıcı aktivite ölçümü.....	42
3.2.11 Toplam fenolik madde miktarı analizi.....	43
3.2.12 Taramalı elektron mikroskobu.....	44
3.2.13 Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR)	44
3.2.14 Elma dilimlerinin limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film ile kaplanması	44
3.2.15 Jelatin-kitosan bazlı film ile kaplanan elma dilimlerinin depolama boyunca toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı	45
3.2.16. Jelatin-kitosan bazlı film ile kaplanan elma dilimlerinin depolama boyunca pH'sının belirlenmesi.....	46
3.2.17. İstatistiksel analiz.....	46
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	47
4.1 Film Kalınlığı	47
4.2. Kopma Mukavemeti ve Kopma Anında Uzama.....	48
4.3 Film Çözünürlüğü.....	51
4.4 Renk Analizi	53
4.5 Işık Geçirgenliği	55

İÇİNDEKİLER (devam)

Sekil

Sayfa

4.6 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) İle Askorbik Asit Analizi	59
4.7 Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi ile Limon Yağının Uçucu Bileşenlerinin Karakterizasyonu.....	61
4.8. Toplam Fenolik Madde Analizi ve DPPH Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Analizi.....	63
4.9. ABTS Radikali Giderme Aktivitesi.....	65
4.10. Metal Şelatlayıcı Aktivite Ölçümü.....	67
4.11. Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR).....	69
4.12 Taramalı Elektron Mikroskobu.....	71
4.13 Limon Yağı İçeren Jelatin-Kitosan Bazlı Film İle Kaplanan Elma Dilimlerinin Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısında ve pH Değerinde Meydana Gelen Değişimler.....	73
5. SONUÇ.....	77
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	80
ÖZGEÇMİŞ.....	94
EKLER	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Kitin, kitosan ve selülozun kimyasal yapısı	8
2.2. Deniz kabukları	9
2.3. İlaç ilave edilmiş kitosan mikropartiküllerinin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü	12
2.4. Limon meyvesi ve ağacı	18
2.5. D-limonen'in kimyasal yapısı	28
2.6. Askorbik asitin kimyasal yapısı	29
3.1. Askorbik asit standartına ait kalibrasyon grafiği	40
3.2. Gallik asit çözeltisine ait kalibrasyon grafiği	43
4.1. 20 ppm'lik askorbik asit standartına ait olan HPLC kromatogramı	59
4.2. %0.25 limon yağı içeren jelatin-kitosan filmine ait olan HPLC kromatogramı	60
4.3. %0.75 limon yağı içeren jelatin-kitosan filmine ait olan HPLC kromatogramı	60
4.4. Limon yağında bulunan uçucu bileşenlere ait GC-MS kromatogramı	62
4.5. Limon yağı içeren ve içermeyen film örneklerinin antioksidan aktivite değerleri (%)	69
4.6. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı filmlerin ATR-FTIR spektrumları	70
4.7. Limon yağı içeren film örneklerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri (X 250)	72

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Limon kabuğunun mineral kompozisyonu (mg/100 g)	23
2.2. Limon kabuklarının fizikokimyasal parametreleri (%)	23
2.3. Limon yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri	23
2.4. Limonun kabuk, su, sodyum karbonat ve C vitamini içeriği	25
2.5. Limondaki metal iyonu konsantrasyonları, ppm	26
2.6. GC-MS ile analiz edilen limon kabuğunun kimyasal bileşimi	27
3.1. Çalışmada kullanılan malzemelerin isimleri, temin edildikleri firma isimleri ve ürün kodları	35
3.2. Çalışmada kullanılan cihazların marka ve modeli	37
3.3. Askorbik asit miktarının HPLC cihazı ile belirlenmesinde kullanılan kromatografik koşullar	39
3.4. Çalışmada kullanılan GC/MS çalışma koşulları	41
4.1. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin ortalama kalınlıkları ve standart sapma değerleri	47
4.2. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde ortalama kopma mukavemeti ve kopma anında uzama değerleri ve standart sapmaları	49
4.3. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin ortalama çözünürlük (%) değerleri ve standart sapmaları	51
4.4. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde ortalama renk değerleri ve standart sapmaları	53
4.5. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin ortalama ışık geçirgenlik değerleri ve standart sapmaları	56
4.6. Limon yağı içeren ve içermeyen filmlerin ortalama askorbik asit konsantrasyonları (mg/kg) ve standart sapma değerleri	59
4.7. Limon yağının başlıca uçucu bileşenleri	61
4.8. Limon yağı içeren ve içermeyen filmlerin ortalama toplam fenolik madde içerikleri, % inhibisyon cinsinden antioksidan aktivite değerleri ve standart sapma değerleri	63

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.9. Limon yağı içeren ve içermeyen filmlerin ortalama ABTS radikali giderme aktivitesi (%) değerleri ve standart sapma değerleri	66
4.10. Limon yağı içeren ve içermeyen filmlerin ortalama metal şelatlayıcı aktivite (%) değerleri ve standart sapma değerleri	67
4.11. Depolama süresince kaplanmamış, kontrol çözeltisi ile kaplanmış ve limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film ile kaplanan elma örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısındaki ve pH değerlerindeki değişimler	74

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ**Simgeler****Açıklamalar** μ l

mikrolitre

dk

dakika

kob

Koloni oluşturan birim

DPPH

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl

FTIR

Fourier transform infrared

GC-MS

Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi

HPLC

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

mM

milimolar

nm

nanometre

pH

hidrojen potansiyeli

pI

izoelektrik nokta

w/v

ağırlık/hacim

SEM

Taramalı elektron mikroskobu

1. GİRİŞ

Günümüzde gıda ürünlerinin tüketilinceye kadar bozulmadan saklanmaları ekonomik boyutları da olan önemli bir araştırma konusudur. Ambalajlama ile oksidatif ve mikrobiyal bozulmaya karşı duyarlı olan gıdaların kalitesi korunabilmekte ve kolay bozulması önlenebilmektedir. Bu sayede ambalajlama ile gıda ürünlerinin raf ömrü uzatılabilmektedir. Bu amaç ile proteinler, yağlar ve polisakkaritler gıda endüstrisinde biyo-esaslı ambalaj olarak sıkça kullanılmaktadır. Sentetik film materyalleri güvenli, ekonomik ve kullanıma elverişli olmalarına rağmen biyolojik olarak bozunuma uğramadığından çevresel problemler yaratmaktadırlar (Ahmad et al., 2012). Bu nedenle, biyolojik olarak uyumlu ve biyoparçalanabilen dolayısıyla da toplam katı atık miktarını azaltan ve herhangi bir çevre sorunu yaratmayan protein, polisakkarit ve lipid gibi doğal polimerlerin film üretiminde kullanılması yaygınlaşmakta ve önem kazanmaktadır.

Film üretiminde polisakkaritler, proteinler ve lipid esaslı moleküller tek başına ya da değişik oranlarda kombine edilerek kullanılabilmektedirler. Kombine filmler daha iyi bariyer ve mekanik özelliklere sahip filmler elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Aynı zamanda, filmlere mekanik ve fonksiyonel özellik katmak için plastikleştiriciler, antimikrobiyal ve antioksidan ajanlar gibi maddeler film içerisine katılabilmektedirler (Ahmad et al., 2012). Sentetik ambalaj materyallerinin hem maliyetleri hem de çevreye verdikleri zararlar göz önünde bulundurulduğunda gelişen teknoloji ile gelecek nesiller için yeni alternatifler bulmak kaçınılmaz olmuştur.

Jelatin ülkemiz dahil pek çok ülkede gıda katkı maddesi olarak sınıflandırılmamaktadır (Anon, 2008). Buna rağmen jelatin, çeşitli gıda ürünlerinde reolojik ve tesktürel özelliklerin iyileştirilmesi için yaygın olarak kullanılan bir katkıdır (Baziwane and He, 2003). Gıda ürünlerinin yanı sıra ilaç, kozmetik, fotoğraf, boya, tarım ilaçları gibi çeşitli ürünlerin üretiminde de jelatin kullanılmaktadır (Jones et al., 1997; Djagny et al., 2001). Hammaddesi olan kolajen, hayvanlarda çok yaygın bulunan yapısal bir proteindir. Deri, kemik ve tendon gibi dokularda oldukça yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Ticari olarak üretilen jelatinin büyük bir kısmı domuz derisinden üretilmektedir (Karim and Bhat, 2008). Bununla birlikte, pek çok hayvanın kemik ve derisi jelatin üretiminde

kullanılabilmektedir. Balık ve kanatlı hayvanların işlenmesi ile açığa çıkan atıkların da jelatin üretiminde değerlendirilmesi mümkündür (Djagny et al., 2001; Baziwane and He, 2003; Yang et al., 2007). Jelatin mükemmel bir film oluşturma yeteneğine sahiptir (Ahmad et al., 2012). Jelatin filmler gıdaların ambalajlanmasında kullanılan ambalaj materyallerinin en yaygınlarından biridir. Jelatin esaslı filmler, gıda kalitesini muhafaza etmek için oksijen engelleyici, ışık ve dehidrasyondan koruma ve yağ oksidasyonunu engelleyici özelliği ile kaplama veya ambalaj olarak kullanılabilmektedir (Ahmad et al., 2012). Aynı zamanda, jelatin esaslı filmlerin yaygın olarak kullanım alanına sahip olmasının temel nedenleri, biyouyumlu ve biyoparçalanabilir bir yapıya sahip olmalarının yanında geniş bir aralıkta değişen oranlarda mekanik ve fiziksel özelliklere sahip olmalarıdır (Ahmad et al., 2012). Yenilebilir filmler, gıdanın raf ömrünü uzatmakta ve ambalajlama materyalinin ekonomik verimliliğini arttırmaktadırlar. Bu filmler, üründen suyun buharlaşmasını düzenlemenin yanı sıra, gıda sistemine oksijen, karbondioksit ve lipid transferi sağlamaktadırlar. Bunlara ilave olarak ise, gıda sisteminin mekanik özelliklerini geliştirmekte; lezzet ve aroma maddelerinin kaybını azaltmaktadırlar (Kester and Fennema, 1986; McHugh and Krochta, 1994; Lerdthanangkul and Krochta., 1996; Nisperos and Baldwin, 1996).

Kitosan, önemli derecede çok yönlü ve gelecek vadeden bir biyomateryaldir. Deasetillenmiş kitin türevi olan kitosan, oldukça kullanışlı bir biyoaktif polimerdir. Doğal olarak bol miktarda bulunan ve yenilenebilir polimer olan kitosan, biyo-çözünürlük, biyolojik uyumluluk, toksik olmama ve adsorpsiyon gibi mükemmel özelliklere sahiptir. Fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı kitosan, farmasötik ve kozmetik ürünlerden su arıtımı ve bitki korumasına kadar çok geniş ürün yelpazesinde ve uygulamalarda kullanılmaktadır. Farklı uygulamalarda, farklı özellikli (asetilasyon derecesi ve molekül ağırlığı gibi) kitosan gerekmektedir. Sıcakkanlı hayvanlar için toksik olmadığı için gıda endüstrisinde de kullanılmaktadır. Mikrokristalin kitin (MCC), gıdaları stabilize etmek için üstün kalınlaştırma, iyi emülsiyonlaştırıcı özellikler göstermekte ve gıdaları stabilize etmek için jelleştirici madde olarak kullanılmaktadır. Ayrıca pişmiş gıdalarda, diyet lifi olarak da kullanılmaktadır. MCC'nin kullanımı, diğer lif kaynaklarının sebep olduğu tat, renk ve raf ömrü gibi sorunlara çözüm getirmiştir (Dutta et al., 2004).

Uçucu yağlar, güçlü kokularıyla karakterize olup aromatik bitkilerin yaprak, meyve, kabuk ve kök kısımlarından elde edilen doğal, uçucu ürünlerdir. Genellikle oda sıcaklığında sıvı halde olan, kolaylıkla kristalleşebilen genellikle renksiz veya açık sarı renklidirler. Güzel kokulu olmalarından dolayı esans ya da eterik yağ da denilmektedir. Su ile karışmadıkları için yağ olarak tanımlanabilmektedir (Ceylan vd., 1983). Antiseptik, antioksidan, sindirim uyarıcı, antimikrobiyal ve enzimatik etkilerinin yanında gıdaların muhafazasında da kullanılmaktadır. Uçucu yağların çok büyük bir kısmı GRAS listesinde yer almaktadır (Kabara, 1991).

Limon (*Citrus limon*) Rutaceae familyasına aittir ve askorbik asit açısından çok zengin bir bitkidir. Limon kökü, ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, limon kolik (kalınbağırsak ağrısı) tedavisi için de kullanılmaktadır. İştah artırıcı, antioksidan ve immün sistemi güçlendirici özelliklere sahip olan limon, sindirime de yardım etmektedir. Limon, limonen, askorbik asit, naringin ve hesperidin açısından da zengin bir meyvedir (Gonzalez-Molina et al., 2010). Esansiyel yağlar, turunçgillerin işlenmesi esnasında oluşan yan ürünlerdendir. Önemli bir aroma ajanı olan limon yağı damıtma işlemi ile elde edilmektedir. Bazı işlemler iki basamak gerektirmektedir ve ikincisi deterpenizasyon olarak da adlandırılmaktadır. Bu işlemde, terpenler çıkarılarak yağ, suda daha çözünür hale getirilmektedir. Limon yağı, her çeşit meşrubat, alkolsüz içecek tozu ve tabletlerinde ve pastalar, hamur işleri, şekerleme, dondurma, vb. ürünlerde yaygın olarak kullanılan en önemli aroma yağlarından biridir. Limon esansiyel yağı; terpenler, oksijenatlar, ve seskiterpenler olmak üzere üç ana sınıfı temsil eden limonen, sitral, terpinen, linalol ve beta-karyofilin gibi kimyasallardan oluşan kompleks yapıdır. Temel limon yağının ana bileşeni olan limonene karşı endüstriyel talep her geçen gün artmaktadır. Bu yağın duyuşal ve fizikokimyasal özellikleri ise doğrudan aldehit içeriğiyle ilişkilidir (Gamarra et al., 2006).

Esansiyel yağ esaslı antimikrobiyal ambalajlama malzemeleri gıda uygulamaları için yüksek potansiyele sahiptir (Ahmad et al., 2012). Birçok esansiyel yağların antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi amacıyla in vitro ve gıdalar üzerinde mikroorganizmaların kullanılması ile ilgili geniş kapsamlı çalışmalar yürütülmektedir. Esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitesinin kimyasal bileşimi ve esas olarak fenolik içerikleriyle ilişkili olduğu bilinmektedir (Gomez- Estaca et al., 2010).

Gıda endüstrisinde meyve, sebze, süt ürünleri, et ve ürünleri çabuk bozulabilen gıdalardır. İşletmelerdeki kötü sanitasyon ve hijyen, birçok patojen mikroorganizmanın bu gıdalarda gelişmesine ve bu gıdaların tüketilmesi sonucunda gıda kökenli hastalıkların oluşmasına neden olabilmektedir. Raf ömrü sona ermeden gıdalarda oluşan bu problemler gıda güvenliği açısından tüketiciyi, gıda kaybı açısından da üreticiyi yakından ilgilendirmektedir. Ayrıca bu nedenlerle tüketilmeyip firmaya geri gönderilen ürünler ülkemizde toplam gıda kaybını da arttırmaktadır. Gıdalarda meydana gelen bu kayıpları azaltma yollarından biri de antimikrobiyal madde içeren yenilebilir filmlerin veya kaplamaların gıdalara uygulanma çalışmalarıdır (Ayana ve Turhan, 2010).

Yenilebilir kaplamalar; nem transferini azaltma, oksijen alımını kısıtlama, respirasyonu düşürme, etilen üretimini durdurma, uçucu maddeleri sızdırmaz hale getirme ve mikrobiyal üreme ve olası renk değişikliğini geciktirme kabiliyetine ek olarak fonksiyonel bileşenler (antioksidanlar ve antimikrobiyal ajanlar gibi) taşımaktadırlar. Çoğu araştırmacı, kaliteyi artırma ve gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmada kitosan kaplamalarını kullanmaktadır (Elsabee and Abdou, 2013).

Farklı koruma fonksiyonlarına sahip yenilebilir film sistemlerinde antimikrobiyal madde yavaş bir şekilde film tabakasından gıdaya geçmektedir. Böylelikle film içerisinde ve gıda yüzeyinde yüksek derişimde antimikrobiyal madde kalmakta ve mikroorganizmalara karşı daha uzun süre etki göstermektedir (Coma et al., 2002; Çağrı vd., 2002).

Yenilebilir kaplama malzemeleri temel olarak polisakkarit, protein ve lipid kökenli maddelerden elde edilmektedir. Bunlar çeşitli özellikleri sağlamak amacıyla başta et ve tahıl ürünleri olmak üzere gıda sanayiinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Film oluşturmak için gıdayı kuru formuna direk bulayarak ya da uygun bir sulu çözeltisine daldırılarak kaplama yapılan bu malzemelerden polisakkarit esaslı olanlara; gıamlar, nişastalar, selüloz veya türevleri, protein esaslı olanlara; kolajen, zein (mısır proteini), gluten ve kazein, lipid esaslı olanlara ise doğal mumlar veya asetogliserin örnek olarak verilebilmektedir (Debeaufort et al., 1998; Durmuş ve Evranuz, 2000). Bu malzemeler farklı özelliklere sahip oldukları için kaplamada tek başına kullanılabileceği gibi birbirleri ile farklı oranda

kariştırılarak da kullanılabilmektedirler. Bu şekilde daha etkili kaplama formülleri oluşturulabilmektedirler.

Yenilebilir kaplamalar, meyve ve sebzelerde hasat sonrasında; renk, asitler, şeker, tat ve aroma maddelerinin korunması, depo bozukluklarının azaltılması ve t  ketic i be ğenisine hitap eden bir ürün eldesi için kullanılmaktadırlar. Yine di ğer gıda ürünlerinde nem içeriklerini kontrol altında tutmak, lipid oksidasyonunu engellemek ve ayrıca depo bozukluklarını azaltmak, aroma korunmasını sa ğlamak için kullanılmaktadırlar. Hem bir ambalaj hem de bir gıda bileşeni olan yenilebilir kaplamalar, tüketildi ğinde iyi bir duyuusal izlenim bırakan, ürünleri mekanik etkilere ve çeşitli mikrobiyolojik bozulmalara karşı dirençli tutan, toksik olmayan, çevreyi kirletmeyen, ucuz ve kolay uygulanabilir maddeler olmalıdırlar (Dursun ve Erkan, 2009). Ülkemizin sahip oldu ğu hayvansal protein kaynaklarının daha iyi de ğerlendirilmesi ve ekonomiye kazandırılması için alternatif de ğerlendirme şekillerinin araştırılması gerekmektedir. Bunlardan biri de   evre dostu ve atık problemine      m getirebilecek yenilebilir film ve kaplamalardır. Bu sayede hem işleme atıkları de ğerlendirilecek hem de plastik bazlı ambalajların neden oldu ğu atık sorunu ve kanserojen riski oldukça azalacaktır. Gıdaların do ğal yapısı yine do ğal kaynaklardan elde edilen yenilebilir filmler sayesinde korunacak ve daha güvenli ürünlerin geliştirilmesi mümkün olacaktır (Zengin ve Başkurt, 2009).

Bu çalışmada, antioksidan ve antimikrobiyal özelli ğe sahip jelatin-kitosan bazlı filmlerin üretilmesi amaçlanmıştır. Bu filmlerin farklı oranlarda limon ya ğı ile zenginleştirilmesi ile bazı fiziksel, kimyasal ve mekanik özellikleri ilk kez araştırılmıştır. Literatürde jelatin-kitosan bazlı filmlerin limon ya ğı ile zenginleştirilmesi ile ilgili herhangi bir çalışma yoktur. Kontrol filmi ve %0.25-%0.50-%0.75-%1 oranlarında limon ya ğı ilave edilmiş film örneklerinin, film kalınlı ğı, film      n  rl   ğ  , kopma mukavemeti ve kopma anında uzama de ğerleri, renk de ğerleri, ışık geçirgenli ği, toplam fenolik madde, üç farklı yöntemle antioksidan aktivite ve askorbik asit analizleri yapılmıştır. Filmlerin karakterizasyonu için SEM ve FTIR analizleri de yapılmıştır. Ayrıca, optimum orandaki limon ya ğı içeren jelatin-kitosan bazlı film     ltileriyle kaplanan elma örneklerinin buzdolabında +4   C’de depolama süresince gösterdi ği mikrobiyolojik de ğişiklikler, pH de ğeri ve görünüş özelli ği incelenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak de ğerlendirilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Jelatin

Jelatin, kolajende bulunan ve yüksek molekül ağırlığına sahip suda çözünür proteinlerin heterojen karışımıdır. Bu proteinler, derinin, tendonların, bağ dokuların, kemiklerin, vb. suda kaynatılmasıyla ekstrakte edilmektedir. Diğer bir ifade ile kolajen, hayvan kolajeninin asit ya da alkali ile hidrolizi ile elde edilen denatüre proteindir. %84-90 oranında protein içerirken, yaklaşık %1 oranında mineral tuz içerir ve geri kalan kısmı sudan oluşmaktadır (Su and Wang, 2015).

Jelatin, yüksek molekül ağırlıklı polipeptid ve önemli bir hidrokolloid olup jelleşme ve kalınlaşma özelliklerinden dolayı birçok gıda ürünüde kullanılmaktadır. Diğer hidrokolloidlerden farklıdır, çünkü çoğu polisakkarittir, oysa jelatin, triptofan haricindeki tüm gerekli amino asitleri içeren sindirilebilir bir proteindir. Amino asit bileşimi çevresel koşullara özellikle de sıcaklığa bağlı olarak türler arasında farklılık göstermektedir (Mariod and Adam, 2013). Sığır kemikleri, derileri, domuz derileri, balıklar ve son zamanlarda da böcekler başlıca jelatin kaynaklarıdır. Birçok gıda ürünü, doku ve bağlama maddesi kaynağı olarak jelatin kullanılmaktadır. Örneğin, böcekten elde edilen jelatin (%5 böcek jelatini) dondurma yapımında kullanılmaktadır ve stabilize edici ajan olarak kullanılan %5 ticari jelatin ile kıyaslanmaktadır. Böcek jelatini kullanılarak üretilen dondurma ile ticari jelatin ile üretilen arasında niteliksel farkın bulunmadığı belirtilmiştir (Abdelfadeel, 2012).

2.1.1 Jelatinin Karakterizasyonu

Jelatin, amino asitlerin eşsiz dizilimine sahiptir. Deri, kemik ve tendon gibi bağdokuların ana bileşeni olan kolajenin hidrolizi yoluyla elde edilmektedir. Kolajen, birbirine bağlı protein zincirleri içermektedir. Hidroliz, kollajenin üçüncül (tersiyer) yapısını parçalayıp 20 farklı amino asitin farklı oranlarda bulunmasıyla primer yapıdaki jelatin oluşmaktadır. Jelatin içindeki amino asit bileşimi ve dizisi kaynaklar arasında farklılık göstermektedir ancak daima polar ve apolar amino asitler içermektedir. Örneğin, domuz derisi jelatininde ve kemik jelatinindeki amino asitler, balık kemiğinde (memeli kaynakları ile karşılaştırıldığında daha az glisin

içerir) bulunan sisteini içermemektedir (Zhang et al., 2011). Domuz derisine ait jelatin hariç diğer jelatinler, aspartik asit ve glutamik asit içermez. Yapısal olarak, kolajen ve jelatin molekülleri, X ve Y'nin çoğunlukla prolin (Pro) ve hidroksiprolin (Hypro) amino asitleri olduğu Gly-X-Y üçlü tekrarlı dizilerinden oluşmaktadır (Duan et al., 2011). Ana bileşen olan glisin (Gly), yan grupları hidrojen olan en küçük amino asittir. Prolin ve hidroksiprolin, sert yan prolidin halkaları ile yapısal engellere sahiptir. Belirli amino asitlerin kimyasal bileşimi ve dağılımı, jelatin zincirinin sertliğini etkilemektedir (Su and Wang, 2015). Her bir amino asit zinciri, ham materyal ve kolajenin jelatine dönüştürülme koşullarına bağlı olarak yüz binlerce Dalton molekül ağırlığına sahip olabilmektedir. pH, sıcaklık, ekstraksiyon zamanı gibi ekstraksiyon ve ön-ekstraksiyon parametreleri, molekül ağırlığı gibi jelatin özelliklerini etkilemektedir (Xu et al., 2014).

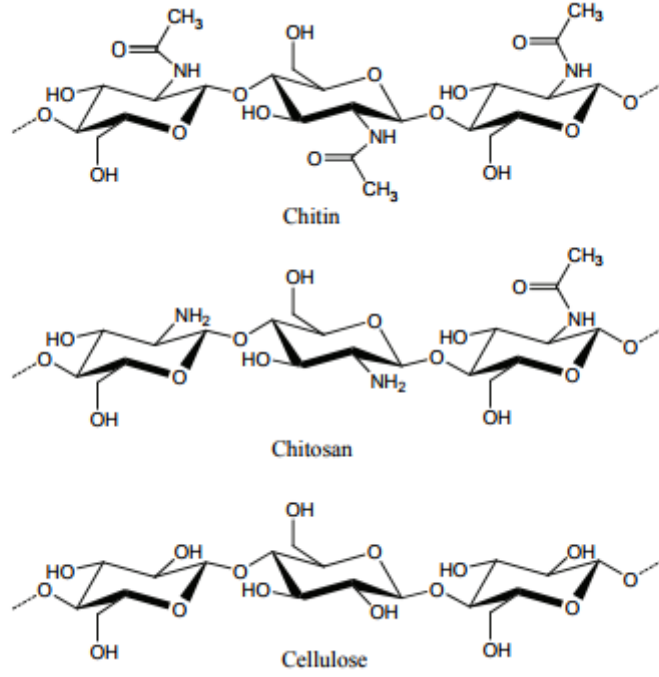
Genellikle ön işleme prosedürüne (ekstraksiyon işlemi öncesinde) bağlı olarak iki tip jelatin elde edilmektedir. Asit ile ön-işlem (tip A) amid gruplarını çok zor etkilerken, alkali ile ön-işlem (tip B) asparajin ve glutaminin amid gruplarını hedef almaktadır ve karboksil gruplarına hidroliz etmektedir, böylece birçoğunu aspartat ve glutamata dönüştürmektedir. Diğer bir ifade ile, tip A jelatin, asit ile sertleştirilmiş dokudan türetilirken, tip B jelatin ise kireç ile sertleştirilmiş dokudan türetilmektedir (Su and Wang, 2015).

Endüstriyel ölçekte, jelatin, özellikle kemik, domuz ve sığır kalıntıları olmak üzere deri ve et endüstrisinin yan ürünlerinden yapılmaktadır. Bunlara ek olarak, mühür balığı ve köpekbalığı da önemli kolajen kaynaklarıdır. Jelatin, uzun yıllardır farmasötik, kozmetik ve gıda ürünlerinde güvenli olarak kullanılmaktadır. Amerika Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından güvenli materyal olarak kabul edilmektedir (Elzoghby et al., 2012).

2.2 Kitosan

Kitin, yeryüzünde selülozdan sonra en yaygın bulunan ikinci doğal polisakkarittir ve $\beta(1\rightarrow4)$ -bağlı 2-acetamido-2-deoksi- β -D-glukozdan (N-asetilglukozamin) oluşmaktadır. Benzer şekilde, kitinin temel türevi olan kitosan, $\alpha(1\rightarrow4)$ -bağlı 2-amino-2-deoksi- β -D-glukopiranozun doğrusal bir polimeridir ve N-deasetilleme yolu ile kolaylıkla türetilmektedir; çok çeşitli deasetilasyon derecesine

sahiptir ve dolayısıyla N-asetilglukozamin ve glukozaminin ko-polimeridir. Yıllık kitin üretiminin selüloz üretimi kadar olduğu tahmin edilmektedir. Çok çeşitli alanlarda yüksek potansiyelli yeni bir fonksiyonel biyomalzeme olarak büyük ilgi görmektedir ve kitin kimyasındaki son gelişmeler büyük önem taşımaktadır (Dutta et al., 2004). Şekil 2.1.'de kitin, kitosan ve selülozun kimyasal yapısı görülmektedir (Alvarenga, 2011).



Şekil 2.1. Kitin, kitosan ve selülozun kimyasal yapısı (Alvarenga, 2011).

Kitin, omurgasızların içyapısının yanı sıra dış iskelet bölgesinde bulunan beyaz, sert, esnek olmayan azotlu bir polisakkarittir. Bu doğal polimerlerin atıkları, kıyı bölgelerinde önemli bir yüzey kirliliği yaratmaktadır. Kabuklu hayvanların kabuğundan gıda endüstrisinde atık olarak üretilen kitosan, ekonomik açıdan önem teşkil etmektedir. Kabuklar, şimdiye kadar sentezlenmemiş bir karotenoid olan ve özellikle somon balığı olmak üzere su ürünleri yetiştiriciliğinde bir balık yemi katkı maddesi olarak pazarlanan astaksantin içermektedir (Alvarenga, 2011).

Doğal olarak bol miktarda bulunan ve yenilenebilir polimerler olan kitin ve kitosan, biyolojik bozunabilirlik, biyolojik uyumluluk, adsorpsiyon ve toksik olmama gibi özelliklere sahiptir. Kitosan sadece bazı asitlerin sulu solüsyonlarında çözünmektedir (Dutta et al., 2004).

2.2.1 Kitin ve kitosanın işlenmesi

Kitin ve kitosan, yengeç ve karides konserve endüstrisinin atıklarıdır. Ticari kitin ve kitosan, sentetik selüloza göre, yüksek oranda azot (%6.89) içerdiği için büyük önem taşımaktadır. Kitin eldesi, deniz kabuklarından temel olarak proteinlerin uzaklaştırılmasını ve yengeç kabuklarında yüksek konsantrasyonlarda bulunan kalsiyum karbonatın çözünmesini içermektedir. Meydana gelen kitin, 120 °C’de 1-3 saat boyunca deasetillenmektedir. Bu uygulama ile %70 deasetillenmiş kitosan üretilmektedir. Şekil 2.2.’de deniz kabukları görülmektedir.

Kabuklardan kitosan üretimi için gereken dört adım aşağıda sıralanmıştır.

- ✓ Deproteinizasyon
- ✓ Demineralizasyon
- ✓ Renk açma (dekolorizasyon)
- ✓ Deasetilasyon



Şekil 2.2. Deniz kabukları (Dutta et al., 2004).

Deniz kabukları >>> Boyut küçültme >>> Protein ayrıştırma >>> (NaOH) >>> Yıkama Demineralizasyon (HCl) >>> Yıkama ve kurutma >>> Renk bozma işlemi >>> Kitin >>> Deasetilasyon (NaOH) >>> Yıkama ve kurutma >>> Kitosan (Dutta et al., 2004).

2.2.2 Kitin ve kitosanın özellikleri

Selüloz, dekstrin, pektin, alginik asit, agar, agaroz, karragenan gibi polisakkaritler doğal ve asidik iken, kitin ve kitosan, yüksek derecede bazik özellik gösteren polisakkaritlerdendir. Çeşitli ortamlarda çözünürlük, vizkozite,

polielektrolit davranışı, polioksisit oluşumu, film oluşturma yeteneği, metal şelatlama gibi özellikler göstermektedirler (Rinaudo, 2006).

Deasetilasyon derecesine bağlı olarak, kitin, çoğunlukla, kitosanda bulunan birincil alifatik amino grupları biçiminde, %5 ile %8 (w/v) azot içermektedir. Kitosan, tipik olarak aminlere özgü reaksiyonlara maruz kalmaktadır ve bunlar arasında N-asetilasyon ve Schiff reaksiyonları en önemlileridir (Dutta et al., 2004).

2.2.3 Kitosanın kimyasal özellikleri

Kitosan, esas olarak N-asetil-D glukozamin kalıntılarına bağlı beta-1,4 D-glukozaminden (GlcNAc) oluşan katyonik, biyolojik olarak parçalanabilir, biyoyumlu ve biyoaktif amino polisakkarittir. Üretim sürecindeki birçok faktör, ürünün özelliklerini etkilediği için saflık, viskozite, deasetilasyon, molekül ağırlığı ve polimorf yapı gibi kitosan ürünlerinin kalitesi ve özellikleri değişmektedir (Li et al., 1992).

Kitosanın kimyasal özellikleri:

- ✓ Doğrusal polietilenimin (polimin),
- ✓ Reaktif amino grupları içerir,
- ✓ Reaktif hidroksil grupları içerir,
- ✓ Birçok metal iyonunu şelatlar (Pillai et al., 2009).

Deasetilasyon derecesi, kitosanın en önemli kimyasal özelliklerinden biridir. Bu özellik, kitosanın polisakkaritteki serbest amino gruplarının içeriğini belirlemektedir. Kitosanın molekül ağırlığı; kromatografi, ışık saçılması ve vizkometri gibi yöntemlerle belirlenebilmektedir. Kitosanın çözeltideki viskozitesi ise; polimer deasetilasyon derecesi, molekül ağırlığı, konsantrasyon, iyonik güç, pH ve sıcaklık gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Li et al., 1992).

Kitosan, suda, alkali ve organik çözücülerde çözünmez, ancak çözeltinin pH değeri 6'dan az olduğunda birçok organik asit çözeltisinde çözünür (Dutta et al., 2004).

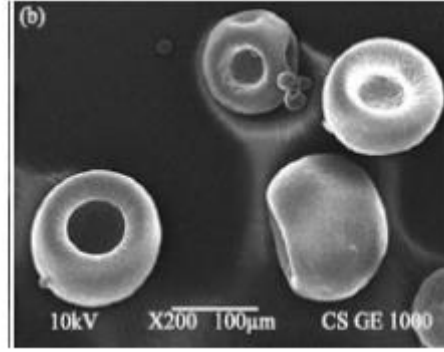
Kitosan, yüksek yoğunluklu amino gruplarına bağlı olarak proteinler, katılar, boyalar ve polimerler gibi negatif yüklü maddelerle etkileşime girebilen iyi bir pıhtılaştırıcı madde ve topaklaştırıcıdır. Kitosan molekülünün amino grubundaki nitrojen, elektron donörü olarak görev yapar ve metal iyonları ile seçici bir şekilde şelatlaştırmaktan sorumludur (Li et al., 1992; Dutta et al., 2004).

2.2.4 Kitosanın biyolojik özellikleri

Biyolojik özellikleri:

- Biyouyumlu
 - ✓ Doğal polimer,
 - ✓ Normal vücut bileşenlerine biyolojik olarak parçalanabilir,
 - ✓ Güvenli ve toksik olmayan,
- Memeli ve mikrobiyal hücrelere bağlanır,
- Dişeti bağ dokusunda rejeneratif etki gösterir,
- Kemik oluşumundan sorumlu osteoblast oluşumunu hızlandırır,
- Hemostatik,
- Fungistatik,
- Sperm öldürücü,
- Anti-tümör,
- Anti-kolesteremik,
- Kemik oluşumunu hızlandırır,
- Merkezi sinir sistemi depresanıdır,
- İmmün sistem güçlendiricidir (Guerra et al., 2011).

Şekil 2.3.'de kitosan partiküllerinin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri görülmektedir (Alvarenga, 2011).



Şekil 2.3. İlaç ilave edilmiş kitosan mikropartiküllerinin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü (Alvarenga, 2011).

Kitinden türevlenen kitosan; hemostatik, antimikrobiyal ve immunostimulan gibi ilgi çekici ve umut verici biyolojik aktiviteler sergilemektedir. Kimyasal olmayan yöntemlerle modifiye edilmiş kitosan, sadece asidik pH'da çözünür. Bu nedenle, pH ve asit çözücüler antibakteriyel aktivitesini etkilemektedir (Dutta et al., 2004).

Toksik olmayan, immunostimulatör ve biyo-uyumlu olarak tanımlanmasının yanı sıra, kitosan, güçlü bir antimikrobiyaldir. Mikrobiyal hücreleri topaklaştırır ve antimikrobiyal potansiyelini daha da güçlendirerek biyofilm oluşumunu engellemektedir (Dutta et al., 2004).

Kitosan, gözenekli yapılar oluşturma özelliğinden dolayı kemik defektlerinin tedavisinde kullanılan materyallerin üretiminde kullanılabilmektedir. Kitosan bazlı kemik grefti, mükemmel mekanik mukavemet özelliği ve düşük maliyeti ile biyolojik olarak uyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir, osteokondüktif, osteoindüktif özellikler göstermektedir ve yapısal olarak kemiğe benzemektedir. Son zamanlarda ise kitosan, ilaç dağıtımı için matriks molekülü olarak kullanılmasından dolayı popülerlik kazanmıştır ve diş hekimliği alanında da yeni bir kullanım alanı bulmuştur (Ahsan et al., 2017; Stepniewski et al., 2017).

2.2.5 Kitin ve kitosan uygulamaları

Kitine olan ilgi, insan vücudundaki sıvılarda bulunan lizozim enziminin davranış ve kimyasal özelliklerinin incelenmesinden kaynaklanmaktadır. Lizozim, bazı bakterileri hücre duvarlarındaki kitinöz materyalini parçalayarak eritmektedir (Dutta et al., 2004). Son otuz yılda, kitin ve kitin türevleri için çok çeşitli tıbbi

uygulamalar rapor edilmiştir. Kitosanın yara iyileşmesinde fibroplaziyi (iğ dokulaşma) inhibe etmek ve doku kültüründe doku büyümesini ve farklılaşmasını teşvik etmek için kullanılabileceği öne sürülmüştür (Le et al., 1997).

Kitinin zayıf çözünürlüğü, kullanımında, özelliklerinin ve yapısının incelenmesinde başlıca kısıtlayıcı faktördür. Bu kısıtlamalara rağmen, kitin ve modifiye edilmiş kitinlerin el yapımı lifler için hammadde olması gibi çeşitli uygulamaları literatürde rapor edilmiştir (Lim et al., 2003). Kitin ve kitosandan yapılmış lifler; emilebilen dikiş malzemeleri ve yara sargı bezleri için çok kullanışlıdır. Kitin ve kitosan liflerin, tıbbi uygulamaların yanı sıra, atık su arıtımında şelatlama yolu ile kitosan ile ağır metal iyonlarının uzaklaştırılması büyük ilgi görmektedir (Lim et al., 2003).

2.2.6 Kitosanın endüstriyel uygulamaları

Kitosan, fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı, farmasötik ve kozmetik ürünlerden su arıtımı ve bitki koruma alanlarına kadar çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Farklı uygulamalarda, kitosanın asetilasyon derecesi ve molekül ağırlığı gibi özellikleri etkili olmaktadır.

2.2.6.1 Kozmetik

Organik asitler, genellikle kozmetik uygulamalar için iyi çözücülerdir. Doğal bir aminopolisakkarit olan kitosan, hidrokolloidler sınıfına dahil edilebilmektedir. Bununla birlikte, polianyon olan diğer hidrokolloidlerin aksine kitosan, asit ile nötralize edildikten sonra yapışkan hale gelen tek doğal katyonik yapışkandır. Kitin ve kitosan, doğada mantar öldürücü ve fungustatik özelliklere sahiptir. Kitosan, kozmetik ürün bileşiminde bulunan biyolojik olarak aktif birçok bileşen ile uyumludur. Zararlı UV radyasyonunu veya farklı boyaları emen maddelerin kitosan amino gruplarına kolayca kovalent olarak bağlanabileceği bildirilmiştir. Kitin, kitosan ve türevleri kozmetikte üç alanda kullanılmaktadır: saç bakımı, cilt bakımı ve ağız bakımı (Dutta et al., 2004).

Kitosan ve saçlar zıt elektrik yüklerine (kitosan, pozitif yüklü iken saç negatif yüklü) sahip oldukları için birbirlerini tamamlamaktadır. Kitosan içeren berrak bir solüsyon, saç üzerinde berrak, elastik bir film oluşturarak yumuşaklığını,

pürüzsüzlüğünü ve mekanik mukavemetini arttırmaktadır. Malzeme ayrıca alkol ve su karışımlarına ilave edildiğinde jel oluşturabilmektedir. Kitosan, şampuanlar, kalıcı dalga ajanları, saç boyaları, stil losyonları, saç spreyleri ve saç toniklerinde kullanılmaktadır. Kitin ve kitosanın çeşitli türevleri saç bakımında potansiyel uygulamalara sahiptir. Bazı kitosan türevleri, köpük oluşturabilmekte ve emülsifiye edici etki yaratabilmekte ve kitin tozu doğrudan şampuanda kullanılabilir.

Kitosan ve türevlerinin cilt bakımında kullanılmalarını sağlayacak iki avantajları vardır: biri pozitif elektrik yükü diğeri ise çoğu kitosan ürününün molekül ağırlığının cildin içine nüfuz etmeyecek kadar yüksek olmasıdır. Bu yüzden, örnek olarak kitosan cilt nemlendiricisi olarak işlev görebilmektedir. Düşük maliyeti nedeniyle, bu uygulamada hyaluronik asit ile rekabet edebilmektedir. Hem kitosan hem de kitin, kremlerde, ambalaj materyalinde, losyonlarda, tırnak cilalarında, fondötenlerde, göz farında, rujda, temizlik malzemelerinde bulunmaktadır.

Hem kitin hem de kitosan, diş macunu, ağız gargaraları ve sakızlarda kullanılabilir. Nefesi tazelemekte, plak oluşumunu ve diş çürümesini engellemektedir (Dutta et al., 2004).

2.2.6.2 Su Mühendisliği

Polikasyonik özelliğinden dolayı, yumuşaklaştırıcı kimyasal olarak kullanılabilir. Ayrıca şelatlama ajanı olarak da kullanılabilir. Kitosan molekülleri, çözültide anyonik atıkları toplamaktadır ve çökelti oluşturmaktadır. Dolayısıyla, gıda işleme atığının geri dönüşümü için flokülen olarak işlev görmektedir. Kitosan/kitin karışımı uygulamasının, kontamine içme suyundan arsenik uzaklaştırmasını sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca, kitosanın petrol ve petrol ürünlerinin atık sudan uzaklaştırılmasında etkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Kitin deasidifikasyon özelliği nedeniyle, kahve endüstrisinde ve şarap, bira ve meyve suları gibi içecekleri berraklaştırmak için kullanılmaktadır. Rejenere kitin, kitosan ve kitinöz membranlar, osmoz, ters osmoz, mikrofiltreleme, tuzdan arındırma, diyaliz ve hemodiyaliz gibi işlemler için yaygın şekilde

kullanılmaktadır. Flakize edilmiş kitosan yatakları, içilebilir suyun arıtılması için de kullanılabilmektedir (Barbusinski et al., 2016).

2.2.6.3 Kağıt Endüstrisi

Biyolojik olarak bozunabilen kitin ve kitosan, geri dönüştürülen kağıdı güçlendirebilmekte; ambalajın ve diğer ürünlerin çevre dostu olma özelliğini artırabilmektedir. Kitosan, bitki duvarının temel bileşeni olan selüloza çok benzediği için kağıt üretiminde kullanılmaktadır. Kitosan ile üretilen kağıt, daha pürüzsüz bir yüzeye sahiptir ve neme karşı daha dayanıklıdır. Hidroksimetil kitin ve diğer suda çözünür türevler kağıt yapımı için kullanışlıdır. Gıda ambalajı ve diğer ürünler için biyolojik olarak bozunabilen ambalajlama malzemesi olarak kullanılabilmektedirler (Vikele et al., 2017).

2.2.6.4 Tekstil Endüstrisi

Kitin ve kitosan, hem tıbbi hem de tekstil dikişlerine, ipliklerine ve liflere önemli katkı sağlamaktadır (Le et al., 1997).

2.2.6.5 Gıda İşleme

Gıda endüstrisinde kitosan kullanımı iyi bilinmektedir çünkü sıcak kanlı hayvanlar için toksik değildir. Mikrokristalin kitin (MCC), gıdaları stabilize etmek için iyi emülsiyonlaştırıcı, üstün kalınlaşma sağlayan, jelleştirme ajanı özellikleri göstermektedir. Pişmiş gıdalarda, diyet lifi olarak da kullanılmaktadır. Mikrokristalin kitin kullanıldığında lezzet, renk ve raf ömrü gibi sorunlar çözülmektedir. MCC, protein açısından zengin ekmek üretiminde, emülsiyonlaştırıcılar ve yağlar olmadan bile özel bir öneme sahip olabilmektedir. Kitin ve kitosan, tüm mikrobiyal, hayvansal veya bitki hücre immobilizasyonu için sağlam destek görevi görmektedir. Kitin, enzimlerin immobilizasyonu için kullanılmaktadır. Yüksek konsantrasyonda bulunan gıda maddeleri (gıda boyaları ve besinler gibi) için emilebilir olmayan taşıyıcı olarak kullanılabilmektedir. Hindistan'da yapılan bir çalışmada, kuş yemine %0.5 oranında kitin eklenmesi kitinsiz yemle beslenen kuşlara kıyasla besin tüketimini azalmakta ve kitinsiz yemle beslenenlere göre vücut ağırlığı %12 artmaktadır. Benzer şekilde, ABD'deki beslenme araştırmalarına göre, kurutulmuş peynir altı suyu ve kitin içeren diyetle

beslenen civcivlerin peynir altı suyunu daha etkin şekilde kullandıkları ancak kitinsiz besin tüketenlere göre daha fazla kilo alımının olduğu belirtilmiştir. Farklı çalışmalar, civcivlerin ve buzağların diyetlerine az miktarda ilave edilen kitinin belirli bağırsak bakterilerinin büyümesini hızlandığını ve süt laktozunun sindirimini sağladığını göstermiştir. Bu bakteriler, diğer organizmaların çoğalmasını engellemekte ve laktoz sindirimi için gerekli olan enzimi üretmektedir. Bu özellik, bazı insan ve hayvan gruplarının laktoz intoleransına sahip olması nedeniyle büyük önem taşımaktadır (Gagne, 1993). Gıda endüstrisinde kitosanın uygulanması esas olarak, film oluşturucu yeteneği ve geniş ölçüde gıda kaynaklı filamentli mantarlara, maya ve bakterilere karşı antimikrobiyal etkinliğinden kaynaklanmaktadır. Kitosanın antimikrobiyal mekanizmasını açıklamak için üç olası mekanizma verilmiştir. Birinci hipotez; kitosanın antimikrobiyal özelliğinin pozitif yüklü kitosan molekülleri ile negatif yüklü mikrobiyal hücre zarları arasındaki etkileşimlere bağlı olarak hücre geçirgenliğinde bir değişime yol açmasıdır. Bu etkileşim, proteinli ve diğer hücre içi bileşenlerin sızıntısına yol açar. Diğer mekanizmalar; mRNA'nın ve protein sentezinin engellenmesine yol açan; mikrobiyal DNA ile difüze hidroliz ürünlerinin etkileşimidir. Nihai olarak metallerin ve mikro besin maddelerinin/iz elementlerinin (bakır, çinko, kobalt, flor ve iyot gibi vücutta 1 g'dan daha az bulunan elementler) kitosan ile şelat oluşturması sonucunda temel besin maddelerinden yoksun bırakılması mikrobiyal açlığa ve ölüme yol açmaktadır (Munoz and Corrales, 2017).

2.2.6.6 Tarım

Kitin ile işleme tabi tutulan tohumların (buğday) büyümeyi hızlandırıcı ve arttırıcı etkilerinin olduğu bulunmuştur. Saksı topraklarına kitin eklenmesi, kök parazit enfeksiyonlarında azalmaya ve mantar patojenlerinin baskılanmasına neden olmaktadır (Sharp, 2013).

2.2.6.7 Fotoğrafçılık

Renkli fotoğrafçılıkta, kitosan, jelatin içindeki asit boyalar için fiksasyon ajanı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, difüzyonun iyileştirilmesi için yardımcı olarak görev almaktadır ve fotoğrafçılığın geliştirilmesinde önemli bir adım olmuştur (Kumar, 2000).

2.3 Limon

Citrus (narenciye) familyası, *Rutaceae* ya da *Rue* ailesine ait olup 140 cins ve 1300 türden oluşmaktadır. *Citrus sinensis* (portakal), *Citrus paradisi* (greyfurt), *Citrus limon* (limon), *Citrus reticulata* (mandalina), *Citrus grandis* (pomelo), *Citrus aurantium* (turunç), *Citrus medica* (ağaç kavunu), *Citrus aurantifolia* (yeşil limon), sitrus'un bazı önemli meyveleridir (Kamal et al., 2011). Şifalı bir meyve olan limon, antikanser aktiviteleri olan alkaloidleri içerdiği için ayrı bir öneme sahiptir. Limonun farklı kısımlarının (yaprak, kök, çiçek) ham özütlerinde, klinik olarak anlamlı bakteri suşlarına karşı antibakteriyel potansiyel olduğu bildirilmiştir (Dhanavade et al., 2011). Sitrus flavonoidleri, antibakteriyel, antifungal, antidiyabetik, antikanser, antiviral olmak üzere çok çeşitli biyolojik aktivite göstermektedir. Flavonoidler, doğrudan antioksidan ve serbest radikal temizleyiciler olarak işlev görmektedir. Enzimatik reaksiyonları düzenleme ve hücre proliferasyonunu inhibe etme gibi özelliklere de sahiptir (Mohanapriya et al., 2013). Bunlara ek olarak, bitkilerde virüsler, bakteriler ve mantarlar gibi istilacı patojenlere karşı savunma rolü oynamaktadırlar. Flavonoidler, bitkilerde genellikle glikolize edilmiş şekillerde bulunmaktadır. Şeker kısmı biyoyararlanımı belirleyen önemli bir faktördür. Sitrus kabuğu, flavonoid glikozidler, kumarinler ve uçucu yağlar bakımından çok zengindir. Sitrus lifi, C vitamini (askorbik asit) ve polifenoller gibi biyoaktif bileşenleri de içermektedir (Mohanapriya et al., 2013).

Bilimsel Sınıflandırma:

- Alem: Bitkiler, Kapalı tohumlular, Tek çenekli bitkiler
- Takım: Sapindales
- Aile: *Rutaceae*
- Cins: *Sitrus* (Narenciye)
- Tür: *Sitrus limon*
- Binom adı: *Sitrus x limon*

Botanik Dağılım: Limon, 3.048 m ile 6.096 m yüksekliğe ulaşan küçük, dikenli ağaçlar üzerinde yetişmektedir. Limon, beş yapraklı beyaz kokulu bir çiçeğe sahiptir. Limon, Bush limonu, Eureka, Lizbon, Ponderosa, Vahşi Pembe, Verna, Villafranka, Yen Ben ve Yuzu gibi çeşitlerden oluşmaktadır. Limon meyvesinin

renk aralığı yeşilimsi sarıdan parlak sarıya kadar uzanmaktadır. Şekil 2.4.'de limon meyvesi ve ağaçları görülmektedir (Mohanapriya et al., 2013).



Şekil 2.4. Limon meyvesi ve ağacı (Mohanapriya et al., 2013)

Coğrafik Dağılımı: Limon, Asya'ya özgü yaprak dökmeyen ağacın meyvesidir. Bu meyve, hem mutfakta hem de mutfak dışı amaçlar için kullanılmaktadır. Dünyada önde gelen limon üretici ülkeler: Hindistan, Meksika, Arjantin, Brezilya, İspanya, Çin Halk Cumhuriyeti, Amerika Birleşik Devletleri, Türkiye, İran ve İtalya'dır (Mohanapriya et al., 2013).

Besinsel Değeri: Aşağıda 100 g kabuksuz çiğ limonun besin değerleri verilmiştir.

- Enerji- 121 kJ (29 kcal)
- Karbonhidratlar- 9.32 g
- Şeker- 2.50 g
- Diyet lifi- 2.80 g
- Yağ- 0.30 g
- Protein- 1.10 g
- Tiamin (B1 vit.)- 0.040 mg (%3)
- Riboflavin (B2 vit.)- 0.020 mg (%1)
- Niasin (B3 vit.)- 0.100 mg (%1)
- Pantotenik asit (B5)- 0.190 mg (%4)
- Folat (B9 vit.)- 11 µg (%3)
- C vitamini- 53 mg (%88)
- Kalsiyum- 26 mg (%3)

- Demir- 0.60 mg (%5)
- Magnezyum- 8 mg (%2)
- Fosfor- 16 mg (%2)
- Potasyum- 138 mg (%3)
- Çinko- 0.06 mg (%1) (Paul and Shaba, 2004).

2.3.1 Limonun sağlığa faydaları

Limonun sağlığa faydaları arasında kilo kaybı, cilt bakımı, iyi sindirim, kabızlıktan kurtulma, göz bakımı, skorbüt hastalığının, hemoroidin, peptik ülserin, solunum bozukluklarının, gutun, diş eti rahatsızlıklarının ve üriner rahatsızlıkların tedavisi yer almaktadır. Tıbbi kullanımlar söz konusu olduğunda aklımıza gelen ilk meyve belki de limondur. Bu ekşi narenciye pek çok ilacın yapamadığını yapmaktadır (Mohanapriya et al., 2013).

Skorbüt Hastalığı

Limon, C vitamini eksikliğinden kaynaklanan, öksürük ve soğuk algınlığı enfeksiyonları; çatlamış dudak ve dudak köşeleri; dilde ve ağızda ülserler; süngerimsi, şişmiş, diş eti kanamaları ile karakterize skorbüt hastalığının tedavisinde sıkça kullanılmaktadır. Eskiden askerlere ve denizcilere, skorbüt hastalığından korunmaları için limon verilmekteydi. Şimdilerde bile, fırın, boyahane, maden ocakları, çimento fabrikaları gibi kötü koşullarda çalışan işçilere limon verilmektedir (Clemens, 2013).

Cilt Bakımı

Limon suyu ve yağları oral yoldan ya da dışarıdan tüketildiğinde cilt için çok faydalıdır. Her ikisi de sınıf-1 antioksidanlar, antibiyotik ve dezenfektanlar olan C vitamini ve flavonoidlerin varlığına bağlı olarak cildi gençleştirmekte, parlamasını engellemekte, enfeksiyonlardan korumakta ve vücut kokusunu azaltmaktadır. Cilde dışarıdan uygulandığında içindeki asitler, ölü hücrelerin atılmasını sağlamakta; kaşıntı, kızarıklık ve morarmaları iyileştirmektedir (Mohanapriya et al., 2013).

Sindirim

Limonun ağzı sulandıran dayanılmaz bir kokusu vardır ve böylece primer sindirime yardım etmektedir. İçinde bulunan asitler ise geri kalan sindirime yardımcı olmaktadır. Yiyeceklerin makromoleküllerini parçalarken, limondan ekstrakte edilen yağlarda bulunan flavonoidler ise sindirim sistemini uyarmakta, mide özsuğu, safra ve asitlerin salınımını arttırmakta ve peristaltik hareketi uyarmaktadır (Bsoul and Terezhalmı, 2004; Mohanapriya et al., 2013).

Kabızlık

Öncelikle, limonda bol miktarda bulunan asit, boşaltım sistemine yardım etmektedir. Ardından kabızlığı hafifletmeye yardımcı olmaktadır. Tuz ile aşırı dozda limon suyu da hiçbir yan etkisi olmaksızın mükemmel bir pürğatif (bağırsak boşaltıcı) olarak iş görmekte, böylece kabızlığa iyi gelmektedir (Mohanapriya et al., 2013).

Peptik ülser

Limon, C vitamininin yanı sıra peptik ve ağız ülserlerinin iyileşmesine yardımcı olmakta, antioksidan, antikanserojen, antibiyotik ve detoksifikasyon özelliklerine sahip olan flavonoidler içermektedir (Bsoul and Terezhalmı, 2004).

Solumum Bozuklukları

Limondan ekstrakte edilen ve flavonidler içeren yağ, kaempferol varlığı nedeniyle vaporizer, inhaler gibi anti konjestif ilaçlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir limonun kabuğunu çizip solumak tıkanıklık ve mide bulantısı konusunda derhal rahatlama sağlamaktadır (Mohanapriya et al., 2013).

Göz Bakımı

C vitamininin antioksidan özelliğı, gözleri yaşlanmaya bağı makular dejenerasyonundan (sarı nokta hastalığı) korumaktadır. Flavonoidler ise gözleri enfeksiyondan korumaktadır (Mohanapriya et al., 2013).

Gut

Gut'un iki nedeni bulunmaktadır. Birinci neden, vücutta serbest radikallerin birikmesi iken; ikincisi ise ürik asit başta olmak üzere toksinlerin birikmesidir. Limon, antioksidanlar ve detoksifikatörler (C vitamini ve flavonoidler) açısından önemli bir kaynak olduğu için bu iki sorunu çözmektedir (Bsoul and Terezhalmay, 2004).

Dişeti Rahatsızlıkları

Dişeti problemlerinin başlıca sebepleri, C vitamini eksikliği (kanama ve süngerimsi dişeti) ve mikrobiyal üremedir. Bazen, ülserler ve kemiklerden gelen yaralar, sert cisimler de bu problemlere sebep olmaktadır. C vitamini, dişeti kanamalarını tedavi ederken, flavonoidler, mikrobiyal çoğalmayı inhibe etmektedir. Ayrıca, flavonoidler ve potasyum ise ülserleri ve yaraları iyileştirmektedir (Bsoul and Terezhalmay, 2004).

Hemoroid

Limon, sindirim ve boşaltım sistemindeki ülseri ve yaraları iyileştirmeye yardımcı olmaktadır. Limon, kabızlıktan ve hemoroidten kurtarmaktadır (Bode, 1996).

Kilo Kaybı

İçi limon suyu ile dolu bir bardak ılık su, önemli bir antioksidandır ve kilo kaybını sağlamaktadır. Limondaki sitrik asit, önemli bir yağ yakıcıdır (Bsoul and Terezhalmay, 2004).

Üriner Bozukluklar

Limonun yüksek miktarda potasyum içermesi, toksik maddelerin uzaklaştırılmasında çok etkilidir. Böbreklerde ve mesanede biriken çökeltiler ve dezenfektan özellikleri üriner sistemdeki enfeksiyonların iyileşmesine yardımcı olmaktadır. Bunlara ek olarak, prostat büyümesini durdurur (40 yaşın üzerindeki erkeklerde yaygın olarak görülür) ve üriner sistemde kalsiyum birikimi nedeniyle idrarın tıkanmasını engellemektedir (Bode, 1996; Bsoul and Terezhalmay, 2004).

Limon, iyi bir iştah açıcı ve hazmettiricidir. Arterit (kireçlenme, eklem iltihabı), romatizma, prostat ve kolon kanseri, kolera, ateroskleroz, diyabet, yorgunluk, kalp hastalıkları ve hatta çok yüksek ateşin tedavisine yardım etmektedir. Bunun en güzel yanı ise hiçbir yan etkinin olmamasıdır (Mohanapriya et al., 2013).

2.3.2 Limon yağı

Limon kabuğu, limon suyu işlenmesinin bir yan ürünüdür ve yüksek bir potansiyel kullanıma sahiptir. Limon kabuğu, flavedo ve albedo denilen iki farklı dokudan oluşmaktadır. Flavedo, rengi yeşilden sarıya değişen kabuğun dış katmanıdır. Zengin bir esansiyel yağ kaynağıdır. Eski zamanlardan beri lezzet ve koku endüstrisinde kullanılmaktadır. Albedo, limon kabuğunun ana bileşenidir ve flavedo altında bulunan süngerimsi ve selülozik bir katmandır. Albedo kalınlığı, çeşitlilik ve olgunlaşma derecesi gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Albedo, yüksek diyet lifi içeriğine sahiptir ve et ürünlerine eklenirse sığır eti hamburgeri, sucuk, ve kuru kürlenmiş sosisler gibi daha sağlıklı ürünlerin hazırlanmasını sağlamaktadır (Janati et al., 2012).

Zirai-endüstriyel atık olarak kabul edilen limon kabukları, sekonder metabolitler ve uçucu yağlar için çok önemli bir kaynaktır (Kamal et al., 2011). Limon yağı, parfümlü kozmetik ürünlere hoş koku vermesi için eklenmektedir. Bu ürünleri birçoğu, güneşe maruz kalan deride kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Klinik ve deneysel çalışmalar, limon yağının fototoksik olduğunu göstermiştir. Limon yağının oluşturduğu fototoksisite, doğal olarak ortaya çıkan furokumarinler ile ilişkilendirilmiştir. Bu furokumarinlerden ikisi, 5-metoksiporalen ve oksipösedanin, limon yağı içindeki muhtemel fototoksinler olarak tanımlanmıştır ve fotokarsinojenik özelliklere sahiptir (Lv et al., 2015). Çizelge 2.1.'de limon kabuğunun mineral kompozisyonu verilmiştir (Janati et al., 2012). Çizelge 2.2.'de ise limon kabuğunun fizikokimyasal parametreleri görülmektedir (Janati et al., 2012).

Çizelge 2.1. Limon kabuğunun mineral kompozisyonu (mg/100 g) (Janati et al., 2012)

Element	Konsantrasyon (ortalama±SD)
Sodyum (Na)	755.50±0.058
Potasyum (K)	8600.00±0.028
Kalsiyum (Ca)	8452.50±0.050
Bakır (Cu)	4.94±0.012
Demir (Fe)	147.65±0.068
Magnezyum (Mg)	1429.50±0.008
Çinko (Zn)	13.94±0.007
Fosfor (P)	6656.25±0.17

Çizelge 2.2. Limon kabuklarının fizikokimyasal parametreleri (%) (Janati et al., 2012)

Parametre	Yüzde Bileşim (% w/w)
Protein	9.42
Lif	15.18
Sodyum karbonat	6.26
Yağ	4.98

Çizelge 2.3.'de limon yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri özetlenmektedir (Naganuma et al., 1985).

Çizelge 2.3. Limon yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri (Naganuma et al., 1985)

Özellik	Limon Yağı
Renk	Soluk sarıdan yeşilimsi sarıya kadar
Koku	Taze sitrus, yoğun
Özgül ağırlık	0.849-0.855
Kırılma indisi	1.474-1.467
Optik çevirme	+57 to +65.6
Stabilite	Hava ve ışığa duyarlı
Çözünürlük	
Su	Çözünmez
Etanol	Çözünür
Propilen glikol	Çözünür

Limon yağı eldesi için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Limon yağı çıkarma işlemi, olgun meyvelerin dış kabuklarına el ile ya da makine ile basarak gerçekleşir. Bu yağlar, Brown Oil Extractor gibi entegre meyve suyu yağı prosedürü kullanılarak daha ekonomik şekilde üretilmektedir. Belirtilen yağ verimi limon için yaklaşık %4'tür. Bu yağlar, limonun doğrudan damıtılması ile de üretilmektedir. Çözünürlüğü arttırmak ve karbonatlı içeceklerin lezzetlendirilmesinde kullanılabilmesi için, limon yağı damıtılarak terpenler uzaklaştırılmaktadır (Naganuma et al., 1985).

Limon meyve ağırlığının yaklaşık %50'si posa, tohum ve kabuktan oluşmaktadır ki bunlar melas, pektinler, lif, tohum yağı, fermentasyon ürünleri ve esansiyel yağlar katma değerli yan ürünlere işlenebilmektedir. *Rutaceae* ailesinin tüm türlerinde yağ salgı bezlerinin bulunduğu gösterilmiştir (Palazzolo et al., 2013).

Limon kabuğu esansiyel yağları, kumarinler, flavonoidler, karotenler, terpenler, linalool gibi biyoaktif bileşenler açısından çok zengin bir kaynaktır (Kamal et al., 2011).

Esansiyel yağlar, parfüm, ilaç ve gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan aromatik bileşiklerdir. Esansiyel yağlar, 200'den fazla farklı bileşiğin karışımından oluşmaktadır. Bu bileşikler, esasen monoterpen ve seskiterpen hidrokarbonlardan ve esterler, alkoller, aldehitler ve ketonlar gibi oksijenli türevlerinden oluşmaktadır (Lv et al., 2015). Esansiyel yağlar, genellikle aromatik bitkiler tarafından üretilmektedir. Esansiyel yağların özgül ağırlığı çoğunlukla sudan küçüktür ve az sayıdaki esansiyel yağların suya göre daha yüksek özgül ağırlığı vardır. Esansiyel yağlar, su ile karışmaz ancak, kokularını sulu tabakaya aktarabilirler. Bu bileşikler, dietil eter, hekzan, etil asetat gibi organik çözücülerin çoğunda çözünmektedir. Esansiyel yağlar, hava ve ısı varlığında evapore olmaktadır; bu yüzden, uçucu yağlar ve etersi yağlar diye adlandırılmaktadırlar (Kamaliroosta et al., 2016). Esansiyel yağlar, farklı konsantrasyonlarda yaklaşık 20-60 bileşen içerebilen lipofilik maddelerin komplike doğal karışımlarıdır. Bu yağlar, iki ya da üç ana bileşen (limonen, psymene ve ocimene) ile karakterizedir ve bu bileşenler yüksek konsantrasyonlarda (%20-70) bulunmaktadır (Palazzolo et al., 2013).

Limon yağında 55 uçucu bileşen; gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS), gaz kromatografisi-olfaktometri (GCO), nükleer manyetik rezonans (NMR), yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC), ince tabaka kromatografisi (TLC) yöntemleri ile tanımlanmıştır. Limon kabuğu yağı, çoğunlukla terpenler ve oksijenli bileşenler içeren kompleks karışımlar ile karakterize edilmektedir. Uçucu bileşenler, yağ kütlesinin %90'ından fazlasını oluştururken, uçucu olmayan bileşenler çok küçük miktarlarda bulunmaktadır. L-limonen, limon yağında bulunan ana bileşendir ve olgunlaşmanın fonksiyonel endeksi olarak kullanılan bir monoterpendir (Lv et al., 2015). Limoneni beta-pinen izlemektedir. Terpen hidrokarbonlar, özellikle monoterpenler, limon kabuğu yağı içerisinde en bol bulunan bileşenler olmasına rağmen sadece lezzete katkıda bulunmaktadır. Bu terpenoid hidrokarbonlar genelde lezzet ve koku bileşenlerinin konsantrasyonunu artırmak için deterpenasyon ile uzaklaştırılmaktadır. Buna ek olarak, doymamış hidrokarbonlar (terpenler), ısı ve ışığa karşı kararsızdırlar ve hızlıca oksitlenerek aromayı bozmaktadırlar (Shahidi and Zhong, 2005).

Sudan'da yapılan bir çalışmada, limonun mineral içeriği atomik absorpsiyon spektrokopisi (ABS) ve atomik emisyon spektrometresi (AES) kullanılarak hem kalitatif hem de kantitatif açıdan analiz edilmiştir. Limon kabuğu esansiyel yağında en fazla bulunan bileşen limonen (%84.5) olarak belirlenmiştir. Limoneni ise sabinen, beta-mirsen, alfa-terpineol, 1,3-tetradekadien ve linalool izlemiştir (Mohammed et al., 2013). Çizelge 2.4.'de limonun kabuk, su, sodyum karbonat ve C vitamin içeriği görülmektedir. Çizelge 2.5.'de ise limondaki metal iyonu konsantrasyonları verilmiştir (Mohammed et al., 2013).

Çizelge 2.4. Limonun kabuk, su, sodyum karbonat ve C vitamini içeriği (Mohammed et al., 2013)

Parametre	Sonuç	Birim
Kabuk	18.35	%
Su	23.75	%
Sodyum karbonat	2.04	%
C vitamin	70.0	mg/100 g

Çizelge 2.5. Limondaki metal iyonu konsantrasyonları, ppm (Mohammed et al., 2013)

Metal iyonu	Konsantrasyon (ppm)
K ⁺	1440
Ca ²⁺	1030
Na ⁺	11.48
Mg ²⁺	20.80
Fe ²⁺	4.49
Zn ²⁺	1.14
Mn ²⁺	0.80
Cu ²⁺	0.24
Ni ²⁺	0.07
Co ²⁺	0.011
Ag ⁺	0.003
Cd ²⁺	Tespit edilemedi
Pb ²⁺	Tespit edilemedi

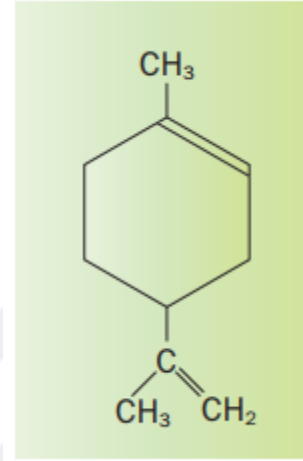
Naringin ve hesperidin, limon suyunda fizyolojik özelliklere sahip olan başlıca flavonoidlerdendir (Gorinstein et al., 2006). Limon, genellikle %90 terpen, %5 oksijenli bileşikler ve %1'den az ise uçucu olmayan bileşiklerden oluşmaktadır. Limon, C vitamini, folik asit, potasyum, pektin, karotenoidler, esansiyel yağlar ve polifenolik bileşikler açısından çok zengindir. Son yıllarda ise, 4'-geraniloksiferulik (GOFA), boropinik asit gibi fitokimyasallar; kanser kemo önleyici, antienflamatuvar, nöroprotektif, anti-helikobakter pilori gibi etkilere sahip farmakolojik ajanlar olarak keşfedilmiştir. Limon flavonoidleri, glikozidler (hesperidin ve naringin) ve O-metil aglikon flovonları (nobiletin ve tangeretin) olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır (Rafiq et al., 2016).

D-limonen, en bol bulunan terpendir ve antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Özellikle gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etki göstermekte ve koruyucu olarak sodyum benzoatın etkinliğini arttırmaktadır. Farklı çalışmalarda, limon esansiyel yağı içerisinde bulunan 30'dan fazla bileşen kütle spektrometresi ile tanımlanmıştır. Limonen, limon kabuğu yağının ana bileşenidir ve limonda %40-95 konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Khan et al., 2016). Çizelge 2.6.'da limon kabuğunun kimyasal bileşimi görülmektedir (Khan et al., 2016).

Çizelge 2.6. GC-MS ile analiz edilen limon kabuğunun kimyasal bileşimi (Khan et al., 2016)

Aktif bileşenler	Yüzde Bileşim (%)
D-limonen	78.3
Bergamol	6.21
β -pinen	5.6
Linalool	5.15
α -pinen	1.58
1,8-sineol	0.76
α -terpineol	0.51
Neral	0.28
Geranial	0.21
β -Bisabolol	0.10
β -Bisabolen	0.10
β -Mirsen	0.08
Sabinen	0.08
Sitronelal	0.07
α -Terpinol asetat	0.06
Kamfen	0.06
α -Bisabolol	0.05
Bicyclogermaceren	0.03
Farnesol	0.03
Terpinen-4-ol	0.03
Trans-nerodilol	0.03
β Farnesen	0.03
Nonanal	0.01
Fitol	0.01
Hinesol	0.01
α -phellandren	0.01
Borneol	0.01
Mirsenil asetat	0.01
β -Santalen	0.01

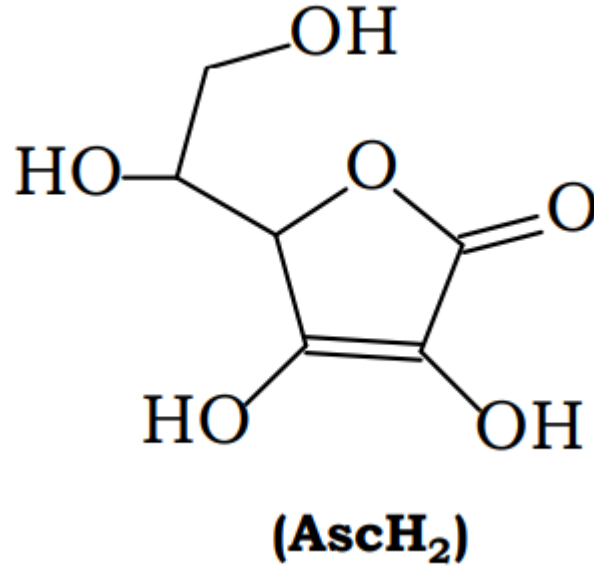
D-limonen (1-metil-4-(1-metiletenil)-sikloheksan), limon benzeri kokuya sahip olan monosiklik monoterpendir. Limonen, hoş kokusu nedeniyle parfüm, gıda, sabun, sakız ve içeceklerde lezzet ve koku katkı maddesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Limonenin ana metabolitleri; perillik asit, dihidroperillik asit ve limonen-1,2-diol'dür. Diğer metabolitler ise; limonen-8,9-diol ve perillik asit izomerdir. Şekil 2.5.'de limonenin kimyasal yapısı verilmiştir (Sun, 2007).



Şekil 2.5. D-limonen'in kimyasal yapısı (Sun, 2007).

D-limonen'in, mide ekşimesi ve gastroözofageal reflü (mideden yemek borusuna mide sıvısı kaçması) düzenlemesinde etkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, *in vitro* çalışmalarda, D-limonen'in insan safra taşlarını 2 saat içinde çözdüğü gösterilmiştir. Hayvan çalışmaları, D-limonen'in pulmoner adenom, karaciğer kanseri ve ön mide tümörlerinin gelişimini inhibe ettiğini göstermiştir. D-limonen ayrıca karsinogenleri daha az toksik formlara metabolize eden ve kimyasal kanserojenlerin DNA ile etkileşimini önleyen sitokrom P450 enzimlerini indüklemektedir (Sun, 2007).

Askorbik asit (C vitamini), birçok biyolojik fonksiyon için gerekli olan ve suda çözünen mikro besindir. Askorbik asit, kolajenin post-translasyonel hidroksilasyonunda, karnitin biyosentezinde, nörotransmitter olan dopaminin noradrenaline dönüşmesinde, peptit amidasyonunda ve tirozin metabolizmasında görev alan birçok enzim için kofaktör işlevi görmektedir. Bunlara ek olarak, C vitamini, önemli bir demir alım düzenleyicisidir (Hacısevki, 2009). Şekil 2.6.'da askorbik asitin kimyasal yapısı gösterilmiştir (Barrita and Sanchez, 2013).



Şekil 2.6. Askorbik asitin kimyasal yapısı (Barrita and Sanchez, 2013).

2.4 Yenilebilir Filmler ve Kaplamalar

Çeşitli meyvelerdeki mum benzeri yenilebilir filmler ve kaplamalar, nem kaybını önlemek ve estetik amaçlı parlak bir meyve yüzeyi oluşturmak için yüzyıllardan beri kullanılmaktadır. Yenilebilir film terimi, gıda uygulamaları ile sadece son 50 yılda ilgili hale gelmiştir.

Tüketilen gıdaların çoğu doğadan (ağaçtan, asmadan...) gelmektedir ve hemen yenilebilmektedir. Bununla birlikte, ulaşım dağıtım sistemlerinin, depolama ihtiyacının artması ve süpermarketlerin ortaya çıkması ile gıdalar sadece tarlada, bahçede, çiftlikte ve işleme tesislerine yakın yerlerde tüketilmemektedir. Bir gıda ürününün tüketici masasına ulaşması zaman almaktadır. Ürünlerin taşınması, teslimi ve depolanması ile ilgili zaman alıcı adımlar esnasında, ürünler, görünümünü, lezzetini ve besinsel değerini kaybetmeye başlamaktadır. Herhangi bir özel koruma sağlanmazsa, hasar hemen meydana gelebileceği gibi saatler ya da haftalar içinde de oluşabilmektedir (Pavlath and Orts, 2009).

Raf ömrünü uzatmak, gıda kalitesini arttırmak ve ambalaj atıklarını azaltmak için yenilenebilir kaynaklardan elde edilen biyobozunabilir filmler gibi materyaller önemli araştırma konusu olmuştur. İki çeşit biyolojik olarak bozunabilen polimerler bulunmaktadır: yenilebilir ve yenilemez (Suput et al., 2015).

Yenilebilir/biyolojik olarak bozunabilir filmler, tipik olarak gıda kaynaklı maddelerden ıslak veya kuru üretim işlemi yolu ile üretilen filmlerdir. Meydana gelen yenilebilir film, gıda bileşenlerinin üzerine ya da içerisine yerleştirilebilen bağımsız bir tabaka olmalıdır. Bunun aksine, yenilebilir kaplamalar, doğrudan daldırma, püskürtme veya kaydırma ile gıda ürünlerinin yüzeylerine uygulanabilen yenilebilir malzemelerin ince katmanlarıdır (Suput et al., 2015).

Yenilebilir filmler ve kaplamalar, nem, oksijen veya karbondioksit migrasyonunu önlemek gıda maddesinin bütünlüğünü veya kullanım özelliklerini geliştirmek için kullanılabilirler. Kabul edilmek üzere, yenilebilir bir film genel olarak güvenli (GRAS) olarak tanınmalı ve ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından belirtilen sınırlar içinde kullanılmalıdır (Suput et al., 2015).

2.5 Film Üretiminde Kullanılan Plastikleştiriciler

Plastikleştiriciler, polimer endüstrisinde katkı maddeleri olarak yaygın olarak kullanılan düşük moleküler ağırlıklı uçucu olmayan bileşiklerin önemli bir sınıfıdır. Bu maddelerin birincil görevi, ikinci derece geçiş sıcaklığını ve camlaşma sıcaklığını düşürerek polimerlerin esnekliğini ve işlenebilirliğini geliştirmektir. IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği) konseyi, plastikleştiriciyi bir maddenin esnekliğini, işlenebilirliğini, gerilebilirliğini artırmak için kullanılan madde ya da malzeme olarak tanımlamıştır (Vieira et al., 2011).

Biyofilmler, genellikle biyolojik materyaller ve plastikleştiriciler kullanılarak elde edilmektedir. Dış faktörlere karşı bariyer görevi görmektedirler ve dolayısıyla ürünü korurlar ve raf ömrünü uzatırlar. Plastikleştiriciler, biyofilmlerle uyumlu olmalıdır ve kitosan filmleri ile ilgili en çok çalışılanları gliserol ve sorbitol'dür. Plastikleştiriciler, biyofilm zincirleri ile etkileşmektedir ve sonuç olarak moleküler hareketliliği ve biyofilm esnekliğini arttırmaktadır. Bunlara ilave olarak, plastikleştiricilerin hidrofilik özellikleri, plastik biyofilmlerin hidrofilisitesinde ve su buharı geçirgenliğinde artışa sebep olmaktadır. Gliserol ve sorbitol, iyi özelliklere sahip biyofilm elde etmek için uygun plastikleştiriciler olarak kabul edilmektedir (Morura et al., 2012).

2.6 Jelatin-Kitosan Filmlerin Gıdalarda Kullanımı

Kaya et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada, *Berberis crataegina* meyvesi (karamuk, kadıntuzluğu) ekstraktı ve çekirdek yağı eklenerek kitosan bazlı film üretimi ve karakterizasyonu yapılmıştır. Kitosan-meyve ekstraktının, kitosan filminden biraz daha düşük hidrofobikliği olduğu halde ($73.82^{\circ} \pm 7.42$), kitosan hidrofobikliği, kitosan kontrol filmine göre ($92.64^{\circ} \pm 4.17$) daha yüksek ($84.67^{\circ} \pm 1.50$) olarak gözlenmiştir. Kitosan-meyve ekstrakt filminin yüksek termal stabilite, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi, *Berberis crataegina*'nın meyve ekstraktının, geliştirilmiş fiziko-kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip yenilebilir film üretiminde etkili bir bileşen olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışmada, ilk kez, *Berberis crataegina*'nın meyve özütü ve tohum yağı, yenilebilir film üretimi için kitosan matrisine ilave edilmiştir. Meyve ekstraktıyla üretilen filmler, ekstraktın kırmızı rengi nedeniyle kırmızı renk olmuştur. *Berberis crataegina*'nın meyve ekstraktı filmlerinde antimikrobiyal özellik en yüksek iken sonra onu *Berberis crataegina*'nın tohum yağı ilave edilen filmler takip etmiştir. Karışım filmlerin antioksidan özellikleri, tohum yağı ve meyve ekstraktının eklenmesiyle de geliştirilmiştir.

Gomez-Estaca et al. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada ise; lavanta, kekik, biberiye, karanfil, çam bitkilerinin esansiyel yağları antimikrobiyal ajan olarak kullanılarak bazı balık türleri jelatin-kitosan filmler ile kaplanmıştır. Filmler 4 farklı şekilde (Jelatin, jelatin-kitosan, jelatin-esansiyel yağ, jelatin-kitosan-esansiyel yağ) hazırlanmıştır. Bu esansiyel yağların özellikle seçilmiş 6 mikroorganizma türünde inhibe edici özellikleri gözlenmiştir. Bunlar; *Pseudomonas fluorescens*, *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus* suşlarıdır.

Klaus et al. (2016) yaptığı araştırmada ise rendelenmiş siyah turplara *Listeria monocytogenes* ATCC19115 ve *Listeria monocytogenes* ATCC19112 türleri inoküle edilmiştir. Örnekler kekik yağı ve nane yağı eklenmiş kitosan filmler ile kaplanıp 4°C 'de 7 gün boyunca depolanmışlardır. Turplarda %1 kitosan ile hazırlanan kitosan kaplamalar en iyi antimikrobiyal sonucu çıkmıştır. Ayrıca kitosan filmlerinin test edilen tüm formülasyonları, siyah turpda *Listeria*

monocytogenes'in gelişmesi üzerinde güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Kitosan filmlerinin antimikrobiyal etkisinin, kekik yağı gibi uçucu yağların eklenmesiyle daha da belirgin olduğu anlaşılmıştır.

Mohebi and Shahbazi (2017) tarafından yapılan bir araştırmada; kır nanesi (*Ziziphora clinopodioides*) uçucu yağı (ZEO;% 0 ve 1), nar ekstraktı (PPE;% 0 ve 1) içeren selüloz nanoparçacıklı kitosan (Ch) ve jelatin (Ge) filmlerinin özellikleri araştırılmıştır (CN;% 0 ve 1 oranlarında). Soyulmuş karidesler kır nanesi (*Ziziphora clinopodioides*) esansiyel yağı ve nar kabuğu ekstraktı ilave edilmiş jelatin-kitosan bazlı filmler ile kaplanmış ve buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir. Kontrol ve film kaplanmış karidesler depolama boyunca mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal özellikleri açısından incelenmiştir. Sonuç olarak, bu filmlerin özellikle *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas spp.* ve *Enterobacteriaceae* suşları üzerinde inhibe edici özelliğı gözlenmiştir ($P<0.05$). Ayrıca bu uygulamalar karideslerin raf ömrünü en az 11 güne kadar uzatmıştır.

Pérez-Cordóba et al. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada ise, nanoemülsiyeye yağlar (kanola yağı, sarımsak yağı vb.) enkapsüle edilip jelatin-kitosan (4:1) filmlere ilave edilmiştir. Burada; N1: kanola yağı; N2: α - tokoferol/sinamaldehit; N3: α -tokoferol/sarımsak yağı; veya N4: α - tokoferol/sinamaldehit ve sarımsak yağı emülsiyonları kullanılmıştır. Bu örnekler; fiziko-kimyasal, antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri açısından karakterize edilmiştir. Film kalınlıkları 10 farklı rastgele noktadan ölçülmüş ve 0.001 mm'ye yakın bulunmuştur. Nanoemülsiyon yüklemesinin, filmlerin suya direncini arttırdığı, çözünürlüğünün azaldığı ($P<0.05$) ve filmin uzamasını arttırdığı, ayrıca şeffaflığını doğrudan etkilediğı, çekme mukavemetini düşürdüğü ve sertlik ve yüzey pürüzlülüğünü arttırdığı gözlenmiştir. Bu nedenle aktif bileşiklerin kapsüllenmesiyle elde edilen nanoemülsiyonların, fiziksel ve mekanik özelliklerini arttırdığı ve *Listeria monocytogenes*'e karşı antibakteriyal özelliğı gözlenmiştir. Nanoemülsiyonlar ile yüklenen filmlerin, gıdaların raf ömrünü uzatmak için gıda ambalajlamada potansiyel bir uygulama alanına sahip olduğu anlaşılmıştır.

Alves et al. (2018) tarafından yapılan çalışmada, somon balığı (*Salmo salar*) örnekleri, üzüm çekirdeğı ekstraktı ve karvakrol kapsülleri (CMF) ile oluşturulmuş kitosan filmlerle kaplanmış ve depolanma süreleri incelenmiştir. 5°C'de depolanan

somon örneklerinde bakteri sayılarında düşüş ve 4-7 gün arasında raf ömrü artışı gözlenmiştir. Bu yöntemin diğer et ürünleri için de yapılabileceği kanısına varılmıştır.

2.7 Limon Yağı İçeren Filmlerin Gıdalarda Kullanımı

Günümüzde, esansiyel yağlar, tüketicilerin artan ilgisi nedeniyle gıdalarında korunmasında giderek daha fazla kullanılmaktadır. Uçucu yağlar, bitki materyalinden elde edilen doğal yağlı sıvılardır. Bu doğal maddeler ve onların bileşenleri, antimikrobiyal ve antioksidan özellikler göstermektedir. Limon esansiyel yağı ise, limonen ve c-terpinen gibi uçucu bileşikler bakımından zengin olan limondan elde edilen yağdır. Limonen, gıda katkı maddesi ve aroma maddesi olarak kullanılmaktadır (Perdones et al., 2016). Limon'un yağ formunda gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerindeki engelleyici etkisi kabul edilmiştir. Bu nedenle, birçok araştırmacı, daha az işlenmiş gıdalarda raf ömrünü uzatmak için esansiyel yağlara başvurmaktadır. Rahmawati et al. (2017), yaptıkları çalışmada tofu ve çilek üzerinde limon yağı ile birleştirilen nişasta ve sodyum aljinat bazlı yenilebilir film uygulamasının tofu ve çileğin mikrobiyal bozunmasının geciktirilmesinde etkili olduğunu göstermişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre, yenilebilir filmlerde uygulanacak minimum inhibisyon konsantrasyonunun tofu için %0.6 ve çilek için %1 limon yağı olduğu gösterilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Bu tez çalışması, limon yağı içermeyen ve farklı oranda limon yağı ilave edilmiş (%0.25-%0.50-%0.75-%1) jelatin-kitosan (%60-%40) bazlı yenilebilir filmlerin üretimini kapsamaktadır. Farklı oranlarda limon yağı içeren filmlerin ve limon yağı içermeyen kontrol örneklerinin film kalınlığı, renk, ışık geçirgenliği, toplam fenolik madde miktarı vb. gibi mekanik, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesini sağlayan metotların uygulanmasında kullanılan malzemelerin isimleri, temin edildikleri firma isimleri ve ürün kodları aşağıda verilmiştir.

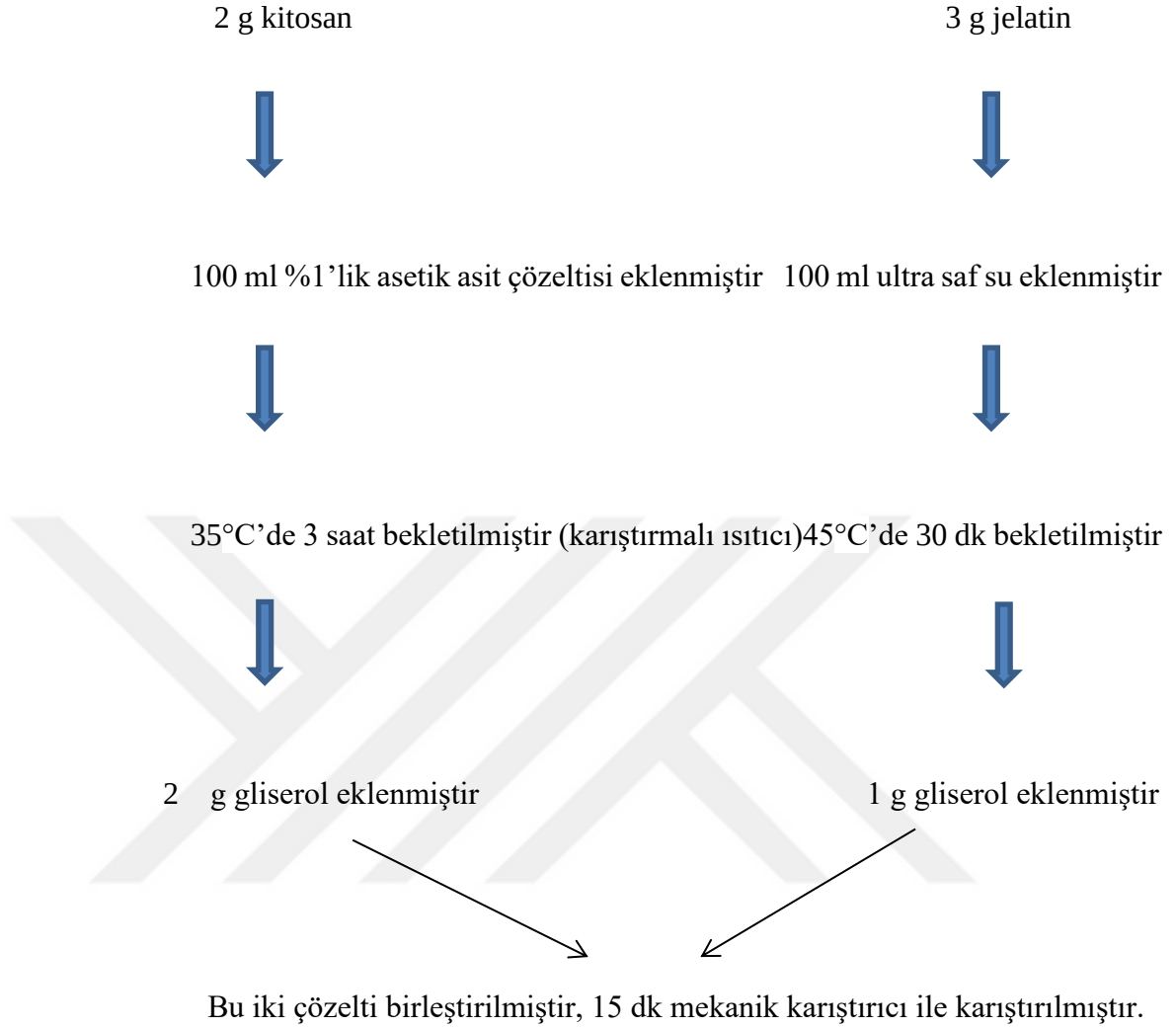
3.1.1 Kullanılan kimyasal malzemeler

Farklı oranlarda limon yağı içeren filmlerin ve limon yağı içermeyen kontrol örneklerinin film kalınlığı, kopma mukavemeti ve kopma anında uzama, renk, ışık geçirgenliği, toplam fenolik madde analizi, antioksidan aktivite analizleri, askorbik asit (C vitamini) analizi vb. gibi özelliklerinin belirlenmesini sağlayan metodların uygulanmasında kullanılan kimyasal malzemelerin isimleri, temin edildikleri firma isimleri ve ürün kodları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan malzemelerin isimleri, temin edildikleri firma isimleri ve ürün kodları.

Ürün	Firma İsimleri ve Ürün Kodları
Jelatin	Sigma-Aldrich 104078
Distile su	Human Corporation Zeneer Power I Cihazı
Gliserol	Sigma-Aldrich 104092
Kitosan	Sigma-Aldrich 9012-76-4
Limon yağı	Sigma-Aldrich 8008-56-8
Metanol	Sigma-Aldrich 67-56-1
Agar	Sigma-Aldrich 9002-18-0
Ferrozin	Sigma-Aldrich 160601
Potasyum sülfat	Sigma-Aldrich 7778-80-5
Gallik asit standardı	Merck842649.0025
Tween 80	Sigma-Aldrich 9005-65-6
Asetik asit	Merck 1.00056.2500
Asetonitril	Merck 75-05-08
Folin-Ciocalteu reaktifi	Sigma-Aldrich F9252
DPPH	Sigma-Aldrich 1898-66-4
ABTS radikali	Sigma-Aldrich 430931-67-0

3.1.2 Filmlerin hazırlanması



- Hazırlanan petri sayısına göre 30'ar ml çözelti beherlere dökülmüştür. Behere önce 80 µl Tween 80, sonra ise limon yağı (%0.25-%0.5-%0.75-%1) ilave edilmiştir. Sonra film çözeltisi konulmuştur.
- Beherlerde 15 dk baget ile karıştırılmıştır. 30'ar ml çözeltiler petrilere dökülünce sekiz çizilip, inkübatörde 30 °C'de 1 hafta boyunca kurumaya bırakılmıştır. Karıştırma işlemlerinde karıştırılmalı ısıtıcıda balık ve mekanik karıştırıcı kullanılmıştır. Bu şekilde farklı oranlarda limon yağı ile zenginleştirilmiş %40 kitosan-%60 jelatin içeren filmler hazırlanmıştır. Ek 1'de elde edilen filmlerin görüntüleri verilmiştir.

3.2 Yöntem

Çizelge 3.2.'de çalışmada kullanılan cihazların marka ve modelleri verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan cihazların marka ve modeli

Cihaz adı	Marka ve modeli
HPLC	Agilent Technologies 1200 Series
Spektrofotometre	Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis
TAXT Plus	Stable Micro Systems
İnkübatör	Electro-Mag M420P
Etüv	Dedeoğlu
GC-MS	HP Hewlett Packard 6890 Series GC System-5973 MassSelectiveDetector
Analitik terazi	SHIMADZU ATX224
pH metre	ISO LAB pH.mv.Temp.
Santrifüj cihazı	Hettich-Zentrifugen Universal 320 R
Distile Su Cihazı	Human Corporation ZeneerPower I
Renk Ölçer	ColorFlexHunterLab
FTIR	Perkin-Elmer Spectrum 100
Taramalı Elektron Mikroskobu	Zeiss Sigma 300 VP

3.2.1 Film kalınlığı

Film kalınlığı ölçümleri Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında (Manisa, Türkiye) gerçekleştirilmiştir. Film kalınlığı ölçümüne başlamadan önce elde edilen jelatin-kitosan filmleri 50 ± 5 bağıl nemde ve 25 ± 0.5 °C sıcaklıkta şartlandırılmıştır. Film kalınlığı mikrometre kullanılarak ölçülmüştür. Her bir film örneğinin kalınlığını tespit etmek için 10 adet rastgele noktadan ölçüm alınmış ve ortalama değer kaydedilmiştir.

3.2.2 Kopma mukavemeti ve kopma anında uzama

Kopma mukavemeti ve kopma anında uzama ölçümleri Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında (Manisa, Türkiye) gerçekleştirilmiştir. 50 ± 5 bağıl nemde ve 25 ± 0.5 °C sıcaklıkta şartlandırılan

limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı filmlerin kopma mukavemeti ve kopma anındaki uzama değeri ASTM D-882-88 (2010a) standart yöntemine uygun olarak TAXT plus tekstür analyser cihazı (Stable Micro Systems, Godalming, UK) ile ölçülmüştür. Deney başına en az 5 tekrar uygulama yapılmıştır. Elde edilen film örnekleri 7 x 2.0 cm boyutlarında kesilerek 5 kg yük altında 400 mm/dk hızla kopma mukavemeti ve kopma anında uzama değerleri tespit edilmiştir. Ek 2’de kullanılan TAXT plus tekstür analyser cihazı görülmektedir.

3.2.3 Film çözünürlüğü

Elde edilen filmler 2.0 x 3.0 cm boyutlarında eşit bir şekilde kesildikten sonra silika jel içeren desikatörlerde %0 bağıl nemde 7 gün boyunca bekletilmiştir. Film örnekleri 0.0001 g hassaslıkta hassas terazide tartılarak 80 ml distile su içeren beher içerisinde çözülmüştür. Örnekler sabit bir çalkalama hızında karıştırılmalı ısıtıcıda oda sıcaklığında (25 ± 1 °C) 1 saat karıştırılmıştır. Çalkalama sonrası kalan film parçaları, Whatman No. 1 filtre kağıdı kullanılarak süzölmüştür. Etüvde 105°C’de 30 dk kurumaya bırakılmıştır. Toplam çözünür madde (% çözünürlük) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Analizler üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\% \text{ çözünürlük} = ((B_{km} - S_{km}) / (B_{km})) \times 100$$

B_{km}: Başlangıç kuru madde ağırlığı

S_{km}: Son kuru madde ağırlığı

3.2.4 Renk analizi

Renk analizi Özdestan ve Üren (2011) yöntemi esas alınarak yapılmıştır. Film örneklerinin CIE L*, a*, b* değerleri Hunter kolorimetresi kullanılarak belirlenmiştir. Cihaz, siyah ve beyaz plaka ile standardize edilmiştir. Örnekler renk kabına konularak renk değerleri okunmuştur. L*, a*, b* değerleri belirlenmiştir. Analizler dört paralel olarak yapılmıştır.

3.2.5 Işık geçirgenliği

Filmlerin ışık geçirgenliği 200, 280, 350, 400, 500, 600, 700, 800 nm dalga boylarında UV-görünür bölge spektrofotometresi kullanılarak saptanmıştır. Ek 3’de

kullanılan spektrofotometrenin görüntüsü verilmiştir. Quartz küvet ile çalışılmıştır. Bu amaçla, film örnekleri (10 mm x 40 mm) boyutlarında spektrofotometre küvetlerine yerleştirilmiş ve boş küvet referans olarak ölçüm yapılmıştır. Quartz küvet her okumadan önce temizlenmiş ve yüzeylerinin pürüzsüz olmasına dikkat edilmiştir. Elde edilen filmlerin, ışık geçirgenliği değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Işık geçirgenliği değeri (nm/mm)} = \text{absorbans/film kalınlığı}$$

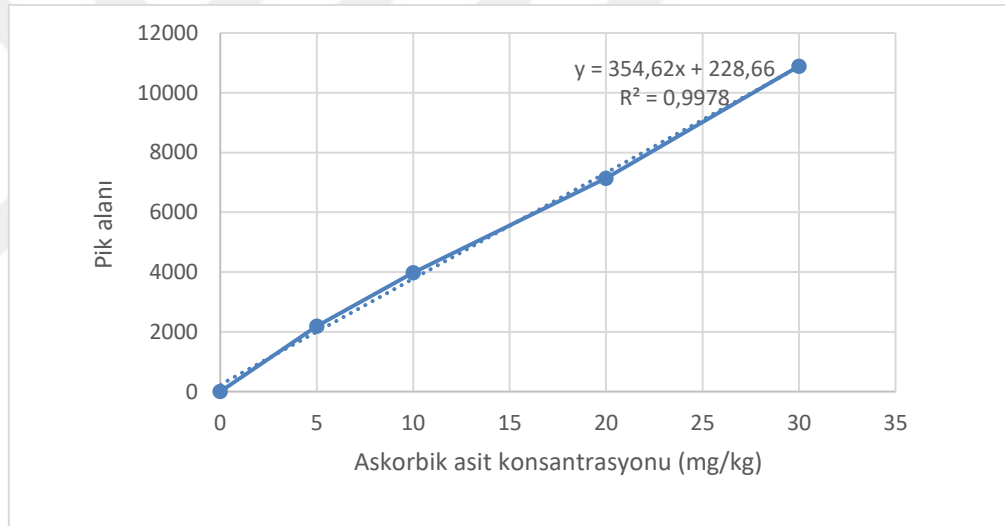
3.2.6 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile askorbik asit analizi

Bu analizde, Attia (2016) ve Octavia et al. (2017)'nin kullandıkları yöntemler temel alınmıştır. Film örneklerinde bulunan askorbik asit miktarı HPLC cihazı ile belirlenmiştir. Ek 4'de kullanılan HPLC cihazı görülmektedir. Mobil faz, standart ve örnekler hazırlanmıştır. Kontrol, %0.25-%0.5-%0.75-%1 oranlarında limon yağı içeren filmler cihazda iki paralel şekilde çalışılmıştır. Cihaz her kullanımdan önce 10 dk by-pass edilmiştir. Sonra ise 15-20 dk süreyle mobil faz ile yıkanmıştır. Yıkama vialine, %0.4'lük (w/v) okzalik asit çözeltisinden (1 ml) hazırlanmıştır. Yıkama sıvısı her iki enjeksiyonda bir yenilenmiştir. Her bir film örneğinden ikişer enjeksiyon yapılmıştır. Ayrıca standart katma denemeside yapılmış, bu amaçla 0.5 ml %1'lik limon yağ oranlı film ekstraktı + 0.5 ml 5 ppm'lik standart + 1 ml mobil faz içeren karışım hazırlanmıştır. Buradan da askorbik asitin geri kazanım yüzdesi hesaplanmıştır. Çizelge 3.3'de askorbik asit miktarının HPLC cihazı ile belirlenmesinde kullanılan kromatografik koşullar verilmiştir.

Çizelge 3.3. Askorbik asit miktarının HPLC cihazı ile belirlenmesinde kullanılan kromatografik koşullar

Cihaz	Agilent Technology 1200 Infinity model HPLC
Akış hızı	1.0 ml/dk
Enjeksiyon miktarı	10 µl
Kolon	ACE-121-2546, ACE 5 C ₁₈ , 10 µm; 25 cm × 4.6 mm
Kolon sıcaklığı	22 °C
Dedektör	DAD dedektör, λ= 257 nm
Mobil faz	%1'lik asetik asit çözeltisi (%75) ve asetonitril (%25)

- Mobil fazının hazırlanması: %1'lik asetik asit çözeltisine saf asetonitril ilave edilmiştir (%25-75 oranında).
- Standart çözeltilerin hazırlanması: Standart çözeltiler günlük olarak hazırlanmıştır. 0.1 g askorbik asit 5 ml metanolde çözülmüş, 100 ml'ye mobil faz ile seyreltilmiştir. Böylece 100 ppm'lik stok çözelti hazırlanmıştır. Bundan faydalanılarak 5, 10, 20, 30 ppm'lik standartlar hazırlanmıştır. Bu standart çözeltiler kullanılarak askorbik asite ait kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 3.1).
- Örneklerin hazırlanması: Örnekler günlük olarak hazırlanmıştır. 1 g film örneğine, 12.5 ml asetik asit çözelti (%1'lik) ve 12.5 ml okzalik asit çözeltisi (%4'lük) eklenmiştir. 15 dk karıştırılmalı ısıtıcıda karıştırılmıştır. 10 dk 4000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Filtre kağıdından süzölmüştür. Süzöntüden 1 ml vialle aktarılmıştır. Seyreltme amaçlı 1 ml'de mobil faz ilave edilmiştir.



Şekil 3.1. Askorbik asit standartına ait kalibrasyon grafiği

3.2.7 Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ile limon yağının karakterizasyonu

Limon yağının karakterizasyonu Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında bulunan GC/MS cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Ek 5'de kullanılan GC-MS cihazının görüntüsü verilmiştir. Yapılan ön denemelerde fırın sıcaklık programı ve cihaz analiz koşulları için gerekli en uygun koşullar (sıcaklık ve süre) belirlenmiştir. Bu amaçla kullanılan GC/MS çalışma koşulları aşağıdaki belirtilen şekilde gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan GC/MS çalışma koşulları

Cihaz	HP Hewlett Packard 5973 Mass Selective Detector 6890 Series GC System
Kolon	HP-5MS %5 fenilmetilsiloksan (30 m uzunluk, 0.25 mm iççap, 0.25 µm film kalınlığı)
Enjeksiyon sıcaklığı	240 °C
Enjeksiyon modu	Bölünmesiz (splitless), kalma süresi 2 dk
Enjeksiyon miktarı	1 µl
Sıcaklık programı	45°C-2.00 dk tutma, 4°C/dk artış ile -250°C-2 dk tutma
Arayüzey sıcaklığı	280 °C
İyon kaynağı sıcaklığı	230 °C
Taşıyıcı gaz	Helyum, 0.9 ml/dk
Kütle aralığı	40-300 akb
MS Kütüphanesi	NIST, WILEY kütüphaneleri

3.2.8 DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite analizi

Film örneklerinin antioksidan kapasitesinin ölçümü Durdewic et al. (2014)'e göre yapılmıştır. 1 g film örneği 12.5 ml metanol ile homojenize edilerek 40 °C'deki su banyosunda 60 dk boyunca bekletilmiş ve her 15 dk'da bir çalkalanmıştır. 2000 devir/dk hızla 5 dk santrifüj edilen örnekler süzölmüştür. Elde edilen ekstraktan 10 µl alınarak üzerine 1990 µl günlük olarak hazırlanan 100 mikromolar DPPH reaktifinden eklenmiştir. Elde edilen karışım vortekslenmiş ve 20 dk karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin 515 nm dalga boyundaki absorbansları spektrofotometrede belirlenmiştir. Kör çözelti olarak saf metanol kullanılmıştır. Kontrol çözeltisi için ise, 10 µl örnek ekstraktı yerine aynı miktarda saf su kullanılmıştır. Analizler üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar % inhibisyon cinsinden verilmiştir.

$$\%inhibisyon = ((A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}) * 100$$

$A_{kontrol}$: Kontrol çözeltisinin absorbansı

$A_{örnek}$: Örneğin absorbansı

3.2.9 ABTS radikali giderme aktivitesi

Jelatin-kitosan çözeltisi ve limon yağı içeren karışımların ABTS radikal (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonicacid)) giderme aktiviteleri Re et al. (1999)'a göre yapılmıştır. Ölçümde kullanılan ABTS radikali stok çözeltisi 7 mM ABTS ve 2.45 mM K₂SO₄'den oluşmaktadır. ABTS radikalının oluşumu için karanlıkta 16 saat bekletilmiştir. Bu çözelti 734 nm'de 0.7 ± 0.03 absorbans verecek şekilde su ile seyreltilmiş ve her tekrarda taze olarak hazırlanmıştır. Elde edilen ekstraktan 100 µl alınarak üzerine 1990 µl günlük olarak hazırlanan ABTS radikali eklenmiştir. Kör çözelti olarak saf su kullanılmıştır. Her bir örnekten üç paralel şeklinde hazırlanmış, vortekslenmiş, 37 °C'de karanlıkta 30 dakika bekletildikten sonra 734 nm'de absorbansları okunmuştur. Kör ve örneklerin absorbansları okunarak % ABTS radikali giderme aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ABTS radikali giderme aktivitesi} = ((A_{\text{kör}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kör}}) \times 100$$

$A_{\text{kör}}$: Kör çözeltisinin absorbansı $A_{\text{örnek}}$: Örneğin absorbansı

3.2.10 Metal şelatlayıcı aktivite ölçümü

Farklı oranlarda limon yağı ilave edilerek elde edilen jelatin-kitosan filmlerin demir (Fe²⁺) şelatlayıcı aktivitesi ölçümü analizi yapılmıştır. Limon yağı içermeyen (kontrol) ve farklı oranlarda limon yağı içeren film ekstraktlarından 4 ml alınmış ve üzerine 50 µl 2 mM FeCl₂ ilave edilerek vorteks ile 10 saniye karıştırılmıştır. Karışımın üzerine 5 mM Ferrozin çözeltisinden 100 µl ilave edilerek tekrar vorteksleme yapılmıştır. Bu karışım karanlıkta ve oda sıcaklığında 15 dk bekletilmiştir. Karışımın absorbansı 562 nm'de spektrofotometrede gerektiğinde saf su ile seyreltme yapılarak okunmuştur. Örneklerdeki Fe²⁺ şelatlayıcı aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Gimenez et al., 2009). Tüm ölçümler üçer paralel olarak yapılmıştır.

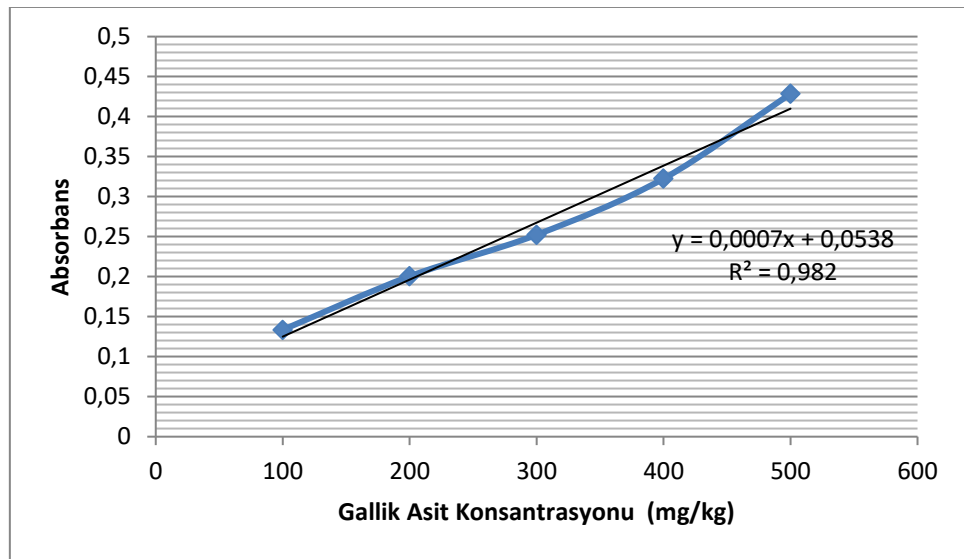
$$\text{Şelatlayıcı aktivite (\%)} = (1 - (A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}})) \times 100$$

$A_{\text{örnek}}$: Örneğin absorbansı

A_{kontrol} : Kontrol çözeltisinin absorbansı

3.2.11 Toplam fenolik madde miktarı analizi

Film örneklerinde toplam fenolik madde miktarı analizi Xu and Chang (2007) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Buna göre 1 g film örneği 30 ml metanol ile homojenize edilerek 40 °C'deki su banyosunda 60 dk boyunca bekletilmiş ve her 15 dk'da bir çalkalanmıştır. 2000 devir/dk hızla 5 dk santrifüj edilen örnekler süzölmüştür. Elde edilen ekstraktan 50 µl alınarak üzerine 3 ml su, 250 µl Folin Ciocalteu reaktifi ve 750 µl %7'lik (w/v) Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiş ve vorteks cihazında karıştırılarak 8 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra karışıma 950 µl su eklenmiş, 2 saat daha oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda 760 nm'de UV-görünür bölge spektrofotometresinde absorbansı saptanmıştır. Gallik asit standart çözeltisi kullanılarak hazırlanan kalibrasyon grafiği ile gallik asit cinsinden toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir. Stok çözelti hazırlamak amacıyla 100 mg gallik asit tartılarak metanol ile 100 ml'ye seyreltilmiştir. 1000 mg/kg'lık bu stok çözeltiden, 500 mg/kg, 400 mg/kg, 300 mg/kg, 200 mg/kg, 100 mg/kg ve 50 mg/kg konsantrasyonlarında gallik asit çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği oluşturmak üzere kullanılmıştır. Örnek ekstraktı yerine, standart çözeltiler kullanılarak, spektrofotometrede absorbanslar belirlenmiştir ve gallik asit standart çözeltilerine ait kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 3.2). Analizler üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Gallik asit çözeltilisine ait kalibrasyon grafiği.

3.2.12 Taramalı elektron mikroskobu

Elde edilen filmlerin taramalı elektron mikroskobu çalışmaları İzmir Katip Çelebi Üniversitesi'nde bulunan Zeiss Sigma 300 VP markalı cihazda gerçekleştirilmiştir. Film örnekleri, ilk olarak örnek tutucu üzerine konulmuştur. Saçılımlı kaplayıcı kullanılarak düşük vakumda 5 nm kalınlıkta altın ile kaplanmış ve ivlenme voltajı 2 Kv ile çalışılmıştır. Daha sonra elde edilen filmler taramalı elektron mikroskobuna yerleştirilerek görüntüleri çekilmiştir. Ek 6'da kullanılan taramalı elektron mikroskobu görülmektedir (Tulamandi et al., 2016).

3.2.13 Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Limon yağı içeren filmlerin kimyasal yapısının belirlenmesi için Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analizleri Ege Üniversitesi'nde yapılmıştır. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi çalışmaları, ATR ekipmanına sahip Perkin-Elmer Spectrum BX cihazında gerçekleştirilmiştir. Limon yağı içeren filmler ile limon yağı içermeyen jelatin-kitosan bazlı filmlerin 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığındaki IR spektrumları taranmış, sonuçlar Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi Spectrum Software (Perkin Elmer) yazılımında değerlendirilmiş ve literatürde verilen spektrumlarla karşılaştırılmıştır.

3.2.14 Elma dilimlerinin limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film ile kaplanması

Bu tez çalışmasında kullanılan kırmızı elma örnekleri İzmir'deki bir marketten temin edilmiştir. Kabuklu kırmızı renk elma dilimleri üçer paralel olarak; kontrol, limon yağı içermeyen film çözeltisi ve %0.75 oranında limon yağı içeren (optimum oran) film çözeltisi kullanılarak kaplanmıştır. En yüksek toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite %1 limon yağlı jelatin-kitosan bazlı filmde olmakla beraber, ürünlerin kaplanmasında kullanılması durumunda bazı duyuşal problemler yaratabileceği düşünülerek optimum koşul olarak %0.75 limon yağlı film belirlenmiştir. Ayrıca %0.75 limon yağlı filmin ışık geçirgenliği değeri de, %1 limon yağlıya göre daha düşük bulunmuştur. SEM görüntüleri de bu bulguları destekleyici yöndedir. Bu sonuçlar da optimum koşul olarak %0.75'in seçilmesinde etkili olmuştur. Kaplama işlemi püskürtülerek uygulanmıştır. Püskürtme işleminden sonra örnekler kurumaya bırakılmıştır, depolama süresince +4°C'de

buzdolabında üzeri streç filmle kaplı olarak muhafaza edilmiştir. Sıfıncı, beşinci ve yedinci günlerde mikrobiyolojik analiz ve pH analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca görünüş özelliği değerlendirilmiştir.

3.2.15 Jelatin-kitosan bazlı film ile kaplanan elma dilimlerinin depolama boyunca toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı

Dilüsyonların ve Örneklerin Hazırlanması:

- Analize alınacak numuneden aseptik koşullarda tartılarak (5'er gram elma dilimi) 9 ml pepton çözeltisi içerisine transfer edilmiş (10-1'lik dilüsyon) ve stomacherda parçalanarak homojenize edilmiştir.

- 10-1'lik dilüsyondan içerisinde 9 ml Pepton çözeltisi bulunan tüpe steril pipetle 1 mL transfer edilmiş (10-2'lik dilüsyon) ve homojen karışım sağlanmıştır. Bu işlem istenen dilüsyon oranına kadar benzer şekilde uygulanmıştır.

- Hazırlanan dilüsyonların her birinden paralel 2 steril petriye 1 ml'lik steril pipetle 1'er ml transfer edilmiştir. Daha sonra steril edilmiş ve $45\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'lik su banyosunda bekletilen PCA'dan tüm petrilere yüzeyi kaplayacak şekilde (12-15 ml) ilave edilmiştir ve homojen dağılımı sağlamak için karıştırılmıştır. Besi ortamı donduktan sonra petrilere ters çevrilerek $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 ± 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda petrilereki koloniler aşağıdaki formülasyona göre sayılarak hesaplaması yapılmıştır.

N = Her bir gram ürün başına mL veya koloni başına mikroorganizma sayısı

$\sum C$ = Tüm plaklardaki kolonilerin toplam sayısı

n_1 = İlk dilüsyonda sayılan plak sayısı

n_2 = İkinci dilüsyonda sayılan plak sayısı

d = İlk tespit edilen sayılardan elde edilen dilüsyon

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2) \times (d)]}$$

3.2.16. Jelatin-kitosan bazlı film ile kaplanan elma dilimlerinin depolama boyunca pH'sının belirlenmesi

Elma dilimlerinin; depolama sürecinin 0. 5. ve 7. günlerinde pH metre ile pH'ları belirlenmiştir.

3.2.17. İstatistiksel analiz

Sonuçlar, ANOVA varyans analizine göre değerlendirilmiştir. Karşılaştırma olarak Duncan testi uygulanmıştır. Farklar, $P < 0.05$ önemli olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar arasında korelasyon olup olmadığı Pearson korelasyon testine göre belirlenmiştir ($P < 0.05$; $P < 0.01$). Tüm istatistiksel analizler, SPSS 24.0 (SPSS Inc., Chiago, IL, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Film Kalınlığı

Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film gruplarının kalınlık değerleri 10 farklı noktada ölçülmüş ve ortalama kalınlık değerleri elde edilmiştir. Çizelge 4.1’de kontrol örneğinin ve farklı oranlarda limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin kalınlıkları verilmiştir.

Çizelge 4.1. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin ortalama kalınlıkları ve standart sapma değerleri^a

Limon yağı (%)	Film Kalınlığı (mm)
Kontrol	0.12 ^c ±0.01
%0.25	0.13 ^b ±0.01
%0.5	0.13 ^b ±0.01
%0.75	0.14 ^a ±0.02
%1	0.14 ^a ±0.02

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir. (P<0.05). Aynı harfler benzer değerleri ifade etmektedir.

Çizelge 4.1 incelendiğinde kontrol film örneğinin kalınlığı 0.12±0.01 mm, %0.25 limon yağı içeren film örneğinin kalınlığı 0.13±0.01 mm, %0.5 limon yağı içeren film örneğinin kalınlığı 0.13±0.01 mm, %0.75 limon yağı içeren film örneğinin kalınlığı 0.14±0.02 mm, %1 limon yağı içeren film örneğinin kalınlığı 0.14±0.02 mm olarak bulunmuştur. En yüksek film kalınlığı %0.75 ve %1 limon yağı içeren film örneklerinde 0.14±0.02 mm olarak, en düşük film kalınlığı ise kontrol film örneğinde 0.12±0.01 mm olarak tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde film kalınlığı sonuçları arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (P<0.05). Duncan testi sonuçlarına göre en yüksek film kalınlığı değerinin %0.75 ve %1 limon yağı içeren film örneklerinde, en düşük film kalınlığı değerinin kontrol film örneğinde görüldüğü belirlenmiştir (P<0.05).

Horn et al. (2016), yaptıkları çalışmada jelatin-kitosan bazlı filmlere %0, %1 ve %2 üzüm çekirdeği ekstraktı ilave etmişler ve film kalınlıklarını sırasıyla 0.087 ± 0.011 mm, 0.077 ± 0.011 mm ve 0.128 ± 0.026 mm olarak belirlemişlerdir.

Crizel et al. (2016), yaptıkları çalışmada jelatin bazlı filmlere 0.05 g/ml, 0.10 g/ml, 0.15 g/ml yaban mersini suyu ilave etmişler, sırasıyla film kalınlık değerlerinin 0.312 ± 0.001 mm, 0.351 ± 0.005 mm, 0.385 ± 0.007 mm olduğunu tespit etmişlerdir. 30 ml, 40 ml, 50 ml yaban mersini suyu içeren filmlerin kalınlıklarının sırasıyla 0.238 ± 0.007 mm, 0.239 ± 0.009 mm, 0.246 ± 0.008 mm olduğunu saptamışlardır.

Yao et al. (2017), yaptıkları çalışmada jelatin-kitosan bazlı filmlere %0, %0.25, %0.50, %0.75 ve %1 D-limonen ilave etmişler ve film kalınlıklarını sırasıyla 40.2 ± 2.2 μ m, 40.7 ± 0.4 μ m, 41.1 ± 1.7 μ m, 42.3 ± 2.1 μ m ve 44.8 ± 4.8 μ m olarak tespit etmişlerdir.

Gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmada limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı filmlerin 10 farklı noktasından alınan film kalınlığı değerlerinin limon yağı %0.25 ve %0.50 konsantrasyonlarında birbirine eşit iken, %0.75 ve %1 konsantrasyonlarında da birbirine eşit olduğu ve diğer filmlerden kalınlıklarının daha fazla olduğu bulunmuştur. Bununla beraber, genel anlamda, limon yağı konsantrasyonu ile film kalınlığı arasında doğru orantı olduğu söylenebilir. Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada, film kalınlığı değerlerinin 0.12-0.14 mm değerleri arasında olduğu bulunmuştur. Elde etmiş olduğumuz film kalınlığı değerleri, literatürde yapılmış çalışmalardan Horn et al. (2016) ve Yao et al. (2017)'ye göre yüksek çıkmıştır. Crizel et al. (2016)'ın sonuçlarına yakın çıkmıştır. Elde etmiş olduğumuz filmler literatürdekiler ile birebir aynı olmayıp, petri kaplarına dökülen film oluşturma çözeltilerinin hacmi de literatürdekilerden farklı olduğu için, ölçülen film kalınlığı değerlerimiz, literatürdekilerden genelde daha yüksek çıkmıştır.

4.2. Kopma Mukavemeti ve Kopma Anında Uzama

Elde edilen jelatin-kitosan bazlı filmlerin kopma mukavemeti ve kopma anında uzama değerleri Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında (Manisa, Türkiye) TAXT Plus Tekstür Analizör (SMS, Surrey,

UK) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Çizelge 4.2’de kopma mukavemeti ve kopma anında uzama sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.2. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde ortalama kopma mukavemeti ve kopma anında uzama değerleri ve standart sapmaları^a

Limon yağı (%)	Kopma Anında Uzama (%)	Kopma Mukavemeti (MPa)
Kontrol	46.05 ^e ±1.53	20.50 ^e ±2.50
%0.25	60.24 ^d ±0.86	22.29 ^d ±1.14
%0.5	65.85 ^c ±1.33	28.76 ^c ±3.88
%0.75	69.37 ^b ±1.66	33.62 ^b ±3.18
%1	75.45 ^a ±1.54	39.78 ^a ±4.69

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir (P<0.05)

Çizelge 4.2 incelendiğinde kopma anında uzama değerleri kontrol film örneğinin %46.05±1.53, %0.25 limon yağı içeren film örneğinin %60.24±0.86, %0.5 limon yağı içeren film örneğinin %65.85±1.33, %0.75 limon yağı içeren film örneğinin %69.37±1.66 ve %1 limon yağı içeren film örneğinin %75.45±1.54 olduğu belirlenmiştir. Kopma mukavemeti değerleri, kontrol film örneğinin 20.50±2.50 MPa, %0.25 limon yağı içeren film örneğinin 22.29±1.14 MPa, %0.5 limon yağı içeren film örneğinin 28.76±3.88 MPa, %0.75 limon yağı içeren film örneğinin 33.62±3.18 MPa ve %1 limon yağı içeren film örneğinin 39.78±4.69 MPa olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, filmlerde limon yağı oranı arttıkça, kopma mukavemeti ve kopma anında uzama değerleri artış göstermektedir.

Deneysel verilerin istatistiksel analizi sonucunda limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde kopma mukavemeti ve kopma anında uzama sonuçları arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (P<0.05). Duncan testi sonuçlarına göre en yüksek kopma mukavemeti ve kopma anında uzama değerinin %1 limon yağı içeren film örneğinde, en düşük kopma mukavemeti ve kopma anında uzama değerinin kontrol film örneğinde görüldüğü belirlenmiştir (P<0.05).

Hima Bindu et al. (2010), yaptıkları çalışmada kitosan (%1) ve kitosan-jelatin (1:10, 1:20, 1:30, 1:40) bazlı filmler elde etmişlerdir. Elde ettikleri verilere göre, kopma mukavemeti değerleri kitosan ve kitosan-jelatin (1:10, 1:20, 1:30, 1:40)

bazlı filmler için sırasıyla, 37.72-11.13-39.68-41.62-45.42 MPa olarak belirtilmiştir. Kopma anında uzama değerleri ise kitosan ve kitosan-jelatin (1:10, 1:20, 1:30, 1:40) bazlı filmler için sırasıyla, %2.43-%2.22-%2.33-%2.25-%5.33 olarak tespit etmişlerdir.

Yao et al. (2017), yaptıkları çalışmada %0.25, %0.50, %0.75 ve %1 D-limonen eklenen jelatin-kitosan bazlı filmlerde kopma mukavemeti değerinin sırasıyla 30.98, 27.52, 23.98, 21.48 MPa olduğunu ifade etmişlerdir. Kontrol grubunun kopma mukavemeti değerini ise 35.55 MPa olarak belirtmişlerdir. Kopma anında uzama değerleri ise %0.25, %0.50, %0.75, %1 D-limonen eklenen jelatin-kitosan bazlı filmler için sırasıyla, %3.30, %4.04, %5.21, %5.61 olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna ait olan kopma anında uzama değeri ise %2.44 olarak belirtilmiştir.

Jantrawut et al. (2017), düşük metoksilli pektin ve plastikleştiriciler kullanarak elastik ince filmler oluşturmuşlardır. Yapılan bu çalışmada, %20'lik bir konsantrasyonda plastikleştiricilerin varlığında, kopma mukavemeti değerleri gliserol, sorbitol, propilen glikol, ve polietilen glikol ile plastikleştirilmiş filmler için sırasıyla 6.01, 5.11, 8.51 ve 6.24 MPa olarak belirlenmiştir. Herhangi bir plastikleştirici kullanılmadan hazırlanan film örneği için kopma mukavemeti değeri 2.49 MPa olarak tespit edilmiştir. Ek olarak, plastikleştirici konsantrasyonunun (%20-%40), plastikleştirilmiş pektin filmlerin kopma anında uzama değeri üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. Herhangi bir plastikleştirici kullanılmadan elde edilen pektin filmin kopma anında uzamasını %13.24 olarak belirlemişlerdir. Plastikleştirici konsantrasyonunun %20'den %40'a çıkarılmasının filmin kopma anında uzamasında önemli bir artışa sebep olduğunu ifade etmişlerdir. Gliserol, sorbitol ve propilen glikol ile plastikleştirilmiş filmler için kopma anında uzama değerlerinin sırasıyla %17.56'dan %32.75'e, %21.52'den %22.31'e, %18.80'den %27.23'e yükseldiğini saptamışlardır. Diğer taraftan, kopma anında uzama değerinin polietilen glikol ile plastikleştirilmiş filmler için %18.47'den %16.95'e düştüğü gösterilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen kopma anında uzama değerlerinin, literatürdeki çalışmalardan Hima Bindu et al. (2010) ve Yao et al. (2017)'e göre daha yüksek değerler gösterdiği tespit edilmiştir. Buna, bu çalışmalarda kullanılan jelatin-

kitosan oranlarının ve plastikleştiricilerin farklı olması neden olmaktadır. Yao et al. (2017) tarafından yapılan çalışmada filmlerde limonen oranı arttıkça, kopma anında uzama değerleri artmaktadır. Bu bakımdan çalışma sonuçlarımız uyum göstermektedir. Elde ettiğimiz kopma mukavemeti değerlerinin Yao et al. (2017) ile paralel olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuçların diğer çalışmalardan farklı olmasının, film kaynaklarının ve çeşitlerinin veya kullanılan esansiyel yağın, plastikleştiricinin farklılık göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.3 Film Çözünürlüğü

Çizelge 4.3’de limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin çözünürlük değerleri (% , w/w) verilmiştir.

Çizelge 4.3. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin ortalama çözünürlük (%) değerleri ve standart sapmaları^a

Limon yağı (%)	Film Çözünürlüğü (%)
Kontrol	96.34 ^a ±0.70
%0.25	92.21 ^b ±0.20
%0.5	90.24 ^c ±0.21
%0.75	88.14 ^d ±0.15
%1	86.77 ^e ±0.17

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir (P<0.05).

Çizelge 4.3 incelendiğinde film çözünürlükleri, %0.25 limon yağı içeren film örneğinin %92.21±0.20, %0.5 limon yağı içeren film örneğinin %90.24±0.21, %0.75 limon yağı içeren film örneğinin %88.14±0.15 ve %1 limon yağı içeren film örneğinin %86.77±0.17 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunun film çözünürlüğü ise %96.43±0.70 olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, jelatin-kitosan filmlerin limon yağı oranı arttıkça, çözünürlükleri azalmaktadır.

Deneyisel verilerin istatistiksel analizi sonucunda limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde film çözünürlüğü sonuçları arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (P<0.05). Duncan testi sonuçlarına göre en yüksek film çözünürlüğü değerinin kontrol film örneğinde, en düşük film

çözünürlüğü değerinin %1 limon yağı içeren film örneğinde görüldüğü tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Pereda et al. (2011), yaptıkları çalışmada jelatin, kitosan, kompozit jelatin-kitosan ve jelatin-kitosan çift katmanlı filmler hazırlamışlardır. Jelatin, kitosan, kompozit jelatin-kitosan ve çift katmanlı jelatin-kitosan filmler için film çözünürlüklerini sırasıyla 100 ± 0.0 , 16.2 ± 0.5 , 25.3 ± 0.6 , 25.2 ± 0.7 olarak tespit etmişlerdir.

Matiacevich et al. (2013), sığır ve somon kaynaklı jelatin-kitosan bazlı filmleri elde ettikleri çalışmada, farklı kitosan oranlarında film çözünürlüklerini incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada, %0.00, %0.25, %0.50, %1 kitosan oranlarında film çözünürlüklerini sırasıyla, %100, %40, %35, %25 olarak belirtmişlerdir. Kitosan konsantrasyonu arttıkça, film çözünürlüğünün azaldığını saptamışlardır.

Bof et al. (2016), yaptıkları çalışmada farklı konsantrasyonlarda greyfurt çekirdeği ekstraktı ve limon yağı ile zenginleştirilen mısır nişastası-kitosan bazlı filmlerin, esansiyel yağ oranı arttıkça film çözünürlüğü değerlerinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir. En düşük film çözünürlüğü değerinin %20, en yüksek film çözünürlüğü değerinin %25.71 olduğunu belirlemişlerdir.

Yao et al. (2017), jelatin-kitosan bazlı filmlere D-limonen ekleyerek yaptıkları çalışmada, kontrol (D-limonen eklenmemiş) filmlerinin film çözünürlüklerini 71.12 ± 0.44 olarak tespit etmişlerdir. Diğer taraftan, %1 D-limonen eklenmiş filmlerin çözünürlüklerini ise 54.07 ± 0.63 olarak belirtmişlerdir.

Elde ettiğimiz film çözünürlük değerlerinin, literatürde yapılan çalışmalardan Bof et al. (2016) ve Yao et al. (2017)'a göre paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Pereda et al. (2011) jelatin filmlerin suda çözünürlüğü fazla iken, kitosan filmlerin çözünürlüğünün az olduğunu, jelatin-kitosan karışımlarının orta düzeyde çözünürlüğü olduğunu göstermektedir. Matiacevich et al. (2013) ise kitosan oranı arttıkça film çözünürlüğünün azaldığını göstermektedir. Bu çalışma sonuçları bizim çalışmamızın ön deneme sonuçları ile uyum göstermektedir. Çözünürlük yüzdesinin Yao et al. (2017)'den düşük olmasının nedeni farklı kaynaklardan elde

edilmiş jelatin ve kitosanların kullanılmış olması, farklı oranlarda jelatin ve kitosan kullanılmış olması ve bizim çalışmamızda limonen yerine limon yağı kullanılması olarak düşünülmektedir.

4.4 Renk Analizi

CIE sisteminde L^* değeri aydınlık değerini ifade etmektedir ve 0 ile 100 arasında dağılım göstermektedir ((0) siyah, (100) beyaz). a^* değeri kırmızılık, b^* değeri ise sarılık hakkında bilgi vermektedir ve -60 ile +60 arasında dağılım göstermektedir (a^* için; (+) kırmızı, (-) yeşil, b^* için (+) sarı, (-) mavi).

Çalışmamızda limon yağı içeren filmlerin (%) oranı arttıkça sarımsı renkte film elde edildiği tespit edilmiştir. Çizelge 4.4’de film örneklerinin renk değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.4. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde ortalama renk değerleri ve standart sapmaları^a

Limon yağı (%)	L^*	a^*	b^*
Kontrol	$15.67^e \pm 0.14$	$-0.64^c \pm 0.05$	$3.16^e \pm 0.01$
0.25	$21.96^d \pm 0.83$	$-0.49^b \pm 0.28$	$4.45^d \pm 1.91$
0.5	$25.29^c \pm 0.40$	$-0.20^a \pm 0.12$	$5.40^c \pm 0.19$
0.75	$26.68^b \pm 0.41$	$-0.99^d \pm 0.02$	$5.70^b \pm 0.14$
1	$27.54^a \pm 0.17$	$-0.20^a \pm 0.23$	$6.51^a \pm 0.04$

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.4 incelendiğinde L^* (aydınlık) değerinin kontrol film örneğinde 15.67 ± 0.14 , %0.25 limon yağı içeren film örneğinde 21.96 ± 0.83 , %0.5 limon yağı içeren film örneğinde 25.29 ± 0.40 , %0.75 limon yağı içeren film örneğinde 26.68 ± 0.41 , %1 limon yağı içeren film örneğinde 27.54 ± 0.17 olduğu görülmüştür. a^* (kırmızılık) değerinin kontrol film örneğinde -0.64 ± 0.05 , %0.25 limon yağı içeren film örneğinde -0.49 ± 0.28 , %0.50 limon yağı içeren film örneğinde -0.20 ± 0.12 , %0.75 limon yağı içeren film örneğinde -0.99 ± 0.02 , %1 limon yağı içeren film örneğinde -0.20 ± 0.23 olduğu belirlenmiştir. b^* (sarımsılık) değerinin kontrol

film örneğinde 3.16 ± 0.01 , %0.25 limon yağı içeren film örneğinde 4.45 ± 1.91 , %0.5 limon yağı içeren film örneğinde 5.40 ± 0.19 , %0.75 limon yağı içeren film örneğinde 5.70 ± 0.14 , %1 limon yağı içeren film örneğinde 6.51 ± 0.04 olduğu tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde renk değerleri arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Duncan testi sonuçlarına göre film örnekleri incelendiğinde en yüksek L^* değerine sahip film örneğinin %1'lik limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film örneği olduğu tespit edilmiştir. Limon yağı ilavesi film örneklerinin aydınlık değerinde anlamlı bir artışa neden olmuştur. İlave edilen limon yağı miktarı arttıkça L^* değeri artış göstermiştir. a^* değeri incelendiğinde tüm gruplarda negatif yönde olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlar genel olarak limon yağının a^* değerinde (yeşil renkte) arttırıcı etki yaptığını göstermektedir. b^* değeri incelendiğinde ise limon yağı ilave edildikçe sarımsı renkte bir artış olduğu saptanmıştır.

Matiacevich et al. (2013), sığır ve somon kaynaklı jelatin-kitosan bazlı filmleri elde ettikleri çalışmada, farklı kitosan yüzdelilerindeki filmlerin renk analizini yapmışlardır. Bu çalışmada elde ettikleri ortalama L^* değeri 76 ± 2 , a^* değeri 10.2 ± 0.2 , b^* değeri ise 10 ± 2 'dir. Ayrıca gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılığın olmadığı belirtilmiştir.

Tongnuanchan et al. (2015), yaptıkları çalışmada jelatin bazlı filmlere artan konsantrasyonlarda hurma yağı ilave etmişlerdir. Elde ettikleri filmlerin L^* (aydınlık) değerinin sırasıyla, 91.32 ± 0.01 , 90.65 ± 0.05 , 90.89 ± 0.01 , 90.48 ± 0.07 , 90.36 ± 0.10 olduğunu gözlemlemişlerdir. a^* (kırmızılık) değerinin sırasıyla -1.19 ± 0.04 , -1.37 ± 0.28 , -1.40 ± 0.04 , -1.41 ± 0.04 , -1.23 ± 0.04 olduğunu tespit etmişlerdir. b^* (sarımsılık) değerinin sırasıyla 1.58 ± 0.08 , 4.81 ± 0.32 , 5.87 ± 0.06 , 7.91 ± 0.13 , 8.96 ± 0.10 olduğunu belirlemişlerdir.

Suput et al. (2015), yaptıkları çalışmada kekik ve siyah kimyon esansiyel yağlarının ilavesi ile elde ettikleri nişasta bazlı yenilebilir filmlerin mekanik ve optik özelliklerini araştırmışlardır. L^* değerinin kontrol filminde en belirgin olduğunu (95.32), esansiyel yağ ilavesiyle azaldığını belirtmişlerdir. Bütün örnekler

ve kontrol filmleri için, a^* değerinin negatif olduğu ve örneklerin yeşilimsi olduğu ifade edilmiştir. Diğer taraftan ise, b^* değerinin bütün örnekler ve kontrol için pozitif olduğu ve siyah kimyon esansiyel yağı ilavesiyle maksimum düzeye çıktığı belirtilmiştir. Esansiyel yağın ilavesine (her ikisi için de) bağlı olarak, yeşilimsi renk azalırken sarımsı rengin arttığı ifade edilmiştir.

Elde ettiğimiz renk değerlerinin, literatür çalışmalarından Matiacevich et al. (2013), Tongnuanchan et al. (2015) ve Suput et al. (2015)'a göre L^* değerinin düşük olduğu; a^* değerinin Matiacevich et al. (2013) ve Tongnuanchan et al. (2015)'e göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan b^* değerinin ise Matiacevich et al. (2013), Tongnuanchan et al. (2015) ve Suput et al. (2015)'e göre düşük olduğu görülmüştür. Sayısal değer olarak farklı olmakla beraber, esansiyel yağ ilavesi arttıkça L^* değerinin ve b^* değerinin artış göstermesi Tongnuanchan et al. (2015)'in sonuçları ile uyum göstermektedir. a^* değerlerinin negatif olması ve örneklerin yeşilimsi renk göstermesi Tongnuanchan et al. (2015) ve Suput et al. (2015)'in sonuçları ile uyum göstermektedir. Yine esansiyel yağ oranı arttıkça b^* değerinin artış göstermesi Suput et al. (2015)'in sonuçları ile uyum göstermektedir. En yüksek L^* ve b^* değerlerine sahip örneğin %1 limon yağı içeren film, en düşük a^* değerine sahip örneğin ise %0.75 limon yağı içeren film olduğu tespit edilmiştir. Literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında L^* (aydınlık) ve b^* değerlerinin düşük veya yüksek olmasının sebebinin cihazların ışın kaynağının farklı olmasından ya da kullanılan film kaynaklarının ve eklenen esansiyel yağların farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.5 Işık Geçirgenliği

Çizelge 4.5'de limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin ışık geçirgenlik değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.5. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin ortalama ışık geçirgenlik değerleri ve standart sapmaları^a

Limon yağı (%)	200 nm	280 nm	350 nm	400 nm	500 nm	600 nm	700 nm	800 nm	Işık geçirgenliği değeri (nm/mm)
Kontrol	31.44 ^a ±0.02	25.41 ^b ±0.02	10.82 ^e ±0.01	5.30 ^e ±0.02	2.68 ^e ±0.01	2.08 ^e ±1.30	1.75 ^e ±2.02	1.63 ^e ±0.002	10.14 ^d ±0.002
%0.25	26.19 ^c ±0.02	21.17 ^c ±0.02	20.20 ^a ±0.01	14.35 ^a ±0.02	7.82 ^a ±0.01	6.07 ^a ±1.35	5.03 ^a ±2.00	4.42 ^b ±0.002	13.16 ^a ±0.001
%0.5	23.86 ^d ±0.01	17.99 ^d ±0.05	11.64 ^d ±0.02	8.09 ^c ±0.05	5.98 ^c ±0.03	5.09 ^b ±0.05	4.44 ^b ±2.31	4.06 ^c ±0.003	10.14 ^c ±0.002
%0.75	11.24 ^e ±0.02	13.61 ^e ±0.02	12.46 ^c ±0.02	7.92 ^d ±0.05	4.66 ^d ±1.50	3.87 ^d ±0.03	3.34 ^d ±2.00	3.34 ^d ±0.003	7.55 ^e ±0.003
%1	26.32 ^b ±0.02	26.32 ^a ±0.03	19.08 ^b ±0.03	10.57 ^b ±0.03	6.97 ^b ±1.50	4.87 ^c ±0.05	4.05 ^c ±2.10	5.33 ^a ± 0.002	12.90 ^b ±0.005

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir (P<0.05).

Çizelge 4.5 incelendiğinde ışık geçirgenlik değerleri kontrol film örneği için 200 nm’de 31.44 ± 0.02 , 280 nm’de 25.41 ± 0.02 , 350 nm’de 10.82 ± 0.01 , 400 nm’de 5.30 ± 0.02 , 500 nm’de 2.68 ± 0.01 , 600 nm’de 2.08 ± 1.30 , 700 nm’de 1.75 ± 2.02 , 800 nm’de 1.63 ± 0.002 ve ortalama ışık geçirgenliği değeri ise 10.14 ± 0.002 nm/mm olarak tespit edilmiştir. %0.25 limon yağı içeren film örneğinin ışık geçirgenliği 200 nm’de 26.19 ± 0.02 , 280 nm’de 21.17 ± 0.02 , 350 nm’de 20.20 ± 0.01 , 400 nm’de 14.35 ± 0.02 , 500 nm’de 7.82 ± 0.01 , 600 nm’de 6.07 ± 1.35 , 700 nm’de 5.03 ± 2.00 , 800 nm’de 4.42 ± 0.002 ve ortalama ışık geçirgenliği değeri ise 13.16 ± 0.001 nm/mm olarak belirlenmiştir. %0.5 limon yağı içeren film örneği için ışık geçirgenliği 200 nm’de 23.86 ± 0.01 , 280 nm’de 17.98 ± 0.05 , 350 nm’de 11.64 ± 0.02 , 400 nm’de 8.09 ± 0.05 , 500 nm’de 5.98 ± 0.03 , 600 nm’de 5.09 ± 0.05 , 700 nm’de 4.44 ± 2.31 , 800 nm’de 4.06 ± 0.003 ve ortalama ışık geçirgenliği değeri ise 10.14 ± 0.002 nm/mm olarak tespit edilmiştir. %0.75 limon yağı içeren film örneğinin ışık geçirgenliği 200 nm’de 11.24 ± 0.02 , 280 nm’de 13.61 ± 0.02 , 350 nm’de 12.46 ± 0.02 , 400 nm’de 7.92 ± 0.05 , 500 nm’de 4.66 ± 1.50 , 600 nm’de 3.87 ± 0.03 , 700 nm’de 3.34 ± 2.00 , 800 nm’de 3.34 ± 0.003 ve ortalama ışık geçirgenliği değeri ise 7.55 ± 0.003 nm/mm olarak belirlenmiştir. %1 limon yağı içeren film örneğinin ışık geçirgenliği 200 nm’de 26.32 ± 0.02 , 280 nm’de 26.32 ± 0.03 , 350 nm’de 19.08 ± 0.03 , 400 nm’de 10.57 ± 0.03 , 500 nm’de 6.97 ± 1.50 , 600 nm’de 4.87 ± 0.05 , 700 nm’de 4.05 ± 2.10 , 800 nm’de 5.33 ± 0.10 ve ortalama ışık geçirgenliği değeri ise 12.90 ± 0.005 nm/mm olarak tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde ışık geçirgenliği sonuçları arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Duncan testi sonuçlarına göre en yüksek ışık geçirgenliği değerinin %0.25 limon yağı içeren film örneğinde, en düşük ışık geçirgenliği değerinin %0.75 limon yağı içeren film örneğinde görüldüğü tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Kavoosi et al. (2014), farklı konsantrasyonlarda %2, %4, %6, %8 “*Zataria multiflora*” esansiyel yağı ilave edilen jelatin bazlı filmlerde ışık geçirgenliği değerlerini sırasıyla, 7.4 ± 1.2 nm/mm, 11.7 ± 1.3 nm/mm, 14.5 ± 2 nm/mm, 16.0 ± 1.8 nm/mm, 17.6 ± 2.3 nm/mm olarak tespit etmişlerdir.

Bakry et al. (2017), jelatin-karboksilmetil selüloz-kitosan bazlı filmlere sorbitol ilave ettikleri çalışmada, ışık geçirgenlik değerlerini 280, 500 ve 800 nm’de ölçmüşlerdir. Işık geçirgenlik değerleri 280 nm’de %0.03 ile %0.15 arasında değişirken, 500 nm’de %10.18 ile %22.70 aralığında ve 800 nm’de ise %15.17 ile %30.28 aralığında değişmektedir. Sorbitol konsantrasyonu arttıkça ışık geçirgenlik değerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Yao et al. (2017), jelatin-kitosan bazlı filmlere D-limonen ekleyerek yaptıkları çalışmada, kontrol (D-limonen eklenmemiş) film örneği için ışık geçirgenlik değerleri 280 nm’de %54.07, 350 nm’de %80.17, 400 nm’de %83.57, 500 nm’de %85.17, 600 nm’de %86.40, 700 nm’de %86.70 ve 800 nm’de %86.07 olarak tespit etmişlerdir. %0.25 D-limonen ilave edilmiş film örneği için ışık geçirgenlik değerleri 280 nm’de %38.97, 350 nm’de %70.94, 400 nm’de %75.90, 500 nm’de %80.03, 600 nm’de %82.50, 700 nm’de %83.93 ve 800 nm’de %85.03 olarak belirlenmiştir. %0.5 D-limonen ilave edilmiş film örneği için ışık geçirgenlik değerleri 280 nm’de %23.17, 350 nm’de %51.20, 400 nm’de %57.87, 500 nm’de %63.9, 600 nm’de %67.70, 700 nm’de %70.40 ve 800 nm’de %72.57 olarak tespit edilmiştir. %0.75 D-limonen ilave edilmiş film örneği için ışık geçirgenlik değerleri 280 nm’de %19.03, 350 nm’de %59.07, 400 nm’de %42.80, 500 nm’de %48.13, 600 nm’de %52.80, 700 nm’de %56.97 ve 800 nm’de %60.90 olarak rapor edilmiştir. %1 D-limonen ilave edilmiş film örneği için ışık geçirgenlik değerleri 280 nm’de %17.07, 350 nm’de %35.27, 400 nm’de %38.40, 500 nm’de %41.97, 600 nm’de %44.83, 700 nm’de %47.47 ve 800 nm’de %50.00 olarak belirlenmiştir.

Elde ettiğimiz ışık geçirgenliği değerlerinin, literatür çalışmalarından Kavoosi et al. (2014), Yao et al. (2017) ve Bakry et al. (2017)’a göre farklılık gösterdiği ve düşük olduğu tespit edilmiştir. Kavoosi et al. (2014)’e göre ışık geçirgenliği esansiyel yağ oranı arttıkça artmaktadır. Fakat Yao et al. (2017)’a göre D-limonen oranı arttıkça ışık geçirgenliği azalmaktadır. Diğer taraftan, yaptığımız bu çalışmada limon yağı ilave ettikçe sonuçların farklılık gösterdiği ancak en yüksek ışık geçirgenliğinin %0.25 limon yağlı film örneğinde, en düşük ışık geçirgenliğinin %0.75 limon yağlı film örneğinde olduğu belirlenmiştir. Genelde limon yağı oranı arttıkça ışık geçirgenliğinin azalması beklenirken, %1 limon yağlı filmde artma olmasının sebebi olarak, limon yağ oranının fazla

olmasından dolayı filmde homojen dağılımının olmaması düşünülmektedir. Bu öngörümüz taramalı elektron mikroskobu sonucu elde ettiğimiz film görüntülerinin sonuçları ile uyum göstermektedir.

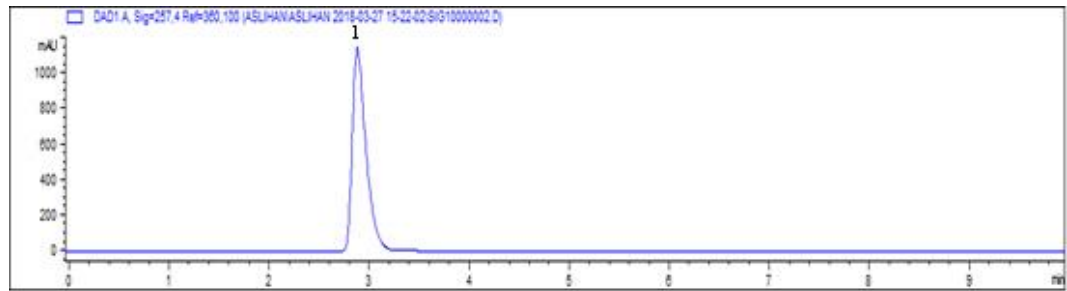
4.6 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) İle Askorbik Asit Analizi

Çizelge 4.6’da kontrol örneğinin ve limon yağı içeren örneklerin askorbik asit konsantrasyonları verilmiştir. Şekil 4.1’de 20 ppm’lik askorbik asit standartına ait olan HPLC kromatogramı verilmiştir. Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’de ise sırasıyla %0.25 limon yağı ve %0.75 limon yağı içeren jelatin-kitosan filmlere ait HPLC kromatogramları görülmektedir.

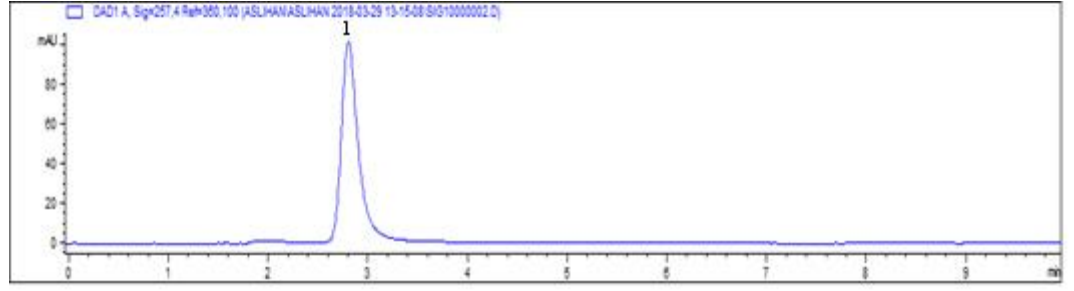
Çizelge 4.6. Limon yağı içeren ve içermeyen filmlerin ortalama askorbik asit konsantrasyonları (mg/kg) ve standart sapma değerleri^a

Limon yağı (%)	Askorbik asit (C vitamini) (mg/kg)
Kontrol	Tespit edilmedi
%0.25	43.5 ^d ±0.50
%0.5	102.8 ^c ±2.26
%0.75	125.4 ^b ±4.49
%1	146.9 ^a ±7.25

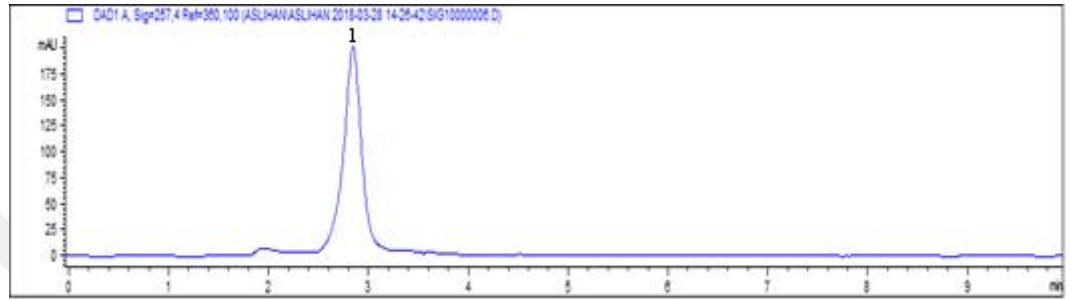
^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir (P<0.05).



Şekil 4.1. 20 ppm’lik askorbik asit standartına ait olan HPLC kromatogramı (1: askorbik asit)



Şekil 4.2. %0.25 limon yağı içeren jelatin-kitosan filmine ait olan HPLC kromatogramı (1: askorbik asit)



Şekil 4.3. %0.75 limon yağı içeren jelatin-kitosan filmine ait olan HPLC kromatogramı (1: askorbik asit)

Çizelge 4.6 incelendiğinde askorbik asit konsantrasyonları verilmiştir. Buna göre askorbik asit konsantrasyonunun 43.5-146.9 mg/kg arasında olduğu tespit edilmiştir. Yapılan standart katma denemesi sonucunda askorbik asit için geri kazanım değeri %92 olarak hesaplanmıştır.

Deneysel verilere dayanarak gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örnekleri arasında askorbik asit konsantrasyonu açısından anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Duncan testi sonucuna göre, en yüksek askorbik asit konsantrasyonu değeri %1 limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film örneğinde görülürken, en düşük askorbik asit konsantrasyonu değeri ise %0.25 limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film örneğinde tespit edilmiştir. Kontrol örneğinde askorbik asit belirlenememiştir.

Pearson korelasyon testi sonucuna göre, askorbik asit içeriği ile DPPH, ABTS, metal şelatlayıcı aktivite analizleri sonuçları arasında pozitif yönlü bir

korelasyon belirlenmiştir ($P<0.01$). Yani filmlerde askorbik asit içeriği arttıkça, antioksidan aktivite artış göstermektedir.

Lopez-Mata et al. (2013), kitosan bazlı filmlere karvakrol (CAR) ilavesi yaptıkları çalışmada, antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri incelemişlerdir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile karvakrol analizini gerçekleştirmişlerdir. Filmdeki karvakrol oranı arttıkça antimikrobiyal ve antioksidan aktivitenin arttığını belirlemişlerdir.

Najwa and Azrina (2017), yaptıkları çalışmada portakal, greyfurt, limon, yeşil limon, kaffir yeşil limonu ve misket limonunda yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile askorbik asit analizi yapmışlardır. Buna göre askorbik asit konsantrasyonunun 16.78 ile 43.61 mg/kg arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre, limon yağı konsantrasyonu arttıkça askorbik asit miktarının arttığı belirlenmiştir. Ayrıca askorbik asit miktarı arttıkça antioksidan aktivitede artış göstermektedir.

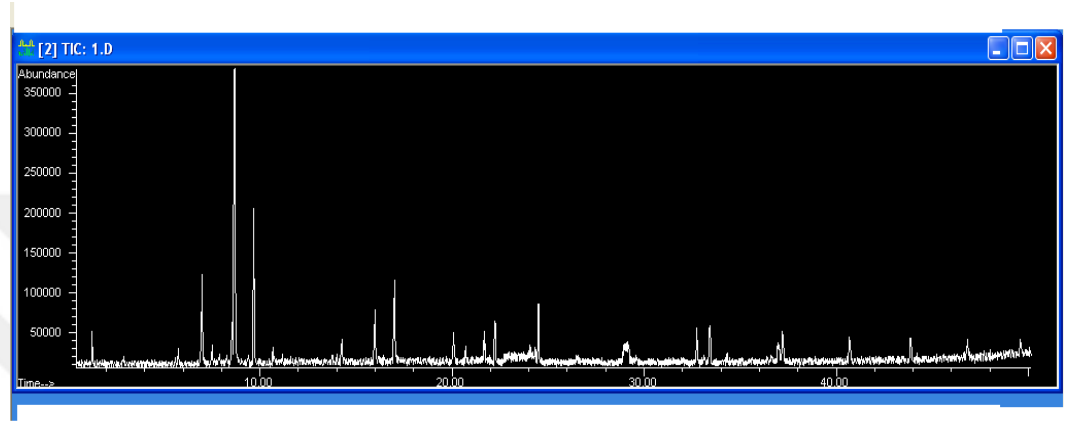
4.7 Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi ile Limon Yağının Uçucu Bileşenlerinin Karakterizasyonu

Çizelge 4.7’de limon yağının başlıca uçucu bileşenleri verilmiştir.

Çizelge 4.7. Limon yağının başlıca uçucu bileşenleri

Alıkonma zamanı	Alan (%)	Bileşenler
6.98	4.86	Sabinen
8.55	2.45	Benzen
8.67	49.81	Limonen
8.69	1.33	Siklohekzen
9.50	10.13	α -pinen
9.69	10.90	Gama-terpinen
10.67	0.67	α -terpilonen
14.28	1.33	3-siklohekzen-1 metanol
17.00	7.24	Z-sitral 2,6-oktadienal
20.10	2.22	Nerylasetat 2,6 oktadien

Çizelge 4.7 incelendiğinde GC-MS ile limon yağının karakterizasyonu yapılmıştır. Buna göre limon yağının başlıca bileşenleri, alanları (%) incelendiğinde, sabinen, %4.86, benzen %2.45, limonen, %49.81, siklohekzen, %1.33, α -pinen, %10.13, gama-terpinen, %10.90, α -terpilonen, %0.67, 3-siklohekzen-1 metanol, % 1.33, Z-sitral 2,6-oktadienal, %7.24, Nerylacetate 2,6 Oktadien, %2.22 olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.4’de limon yağında bulunan uçucu bileşenlere ait GC-MS kromatogramı görülmektedir.



Şekil 4.4. Limon yağında bulunan uçucu bileşenlere ait GC-MS kromatogramı.

Mondello et al. (2004), yaptıkları çalışmada limon yağının karakterizasyonunu GC-MS ile yapmışlardır. Karakterizasyon sonucu limon yağının ana bileşenlerini p-simen+limonen (%66.40), beta-pinen (%12.56), terpinen (%9.16) olarak ifade etmişlerdir.

Cosge et al. (2009), yaptıkları çalışmada Türkiye’de yetişen limon otunun (*Melissa officinalis*) esansiyel yağ içeriğini ve kimyasal bileşimini GC-MS ile karakterize etmişlerdir. Limon otunun esansiyel yağ içeriğindeki ana bileşenleri; sitronelal (%36.62-43.78 aralığında), sitral (%10.10-17.40 aralığında), timol (%0.40-11.94 aralığında), beta-karyofilen (%5.91-7.27 aralığında), limonen (%0.06) olarak saptamışlardır.

Alparslan et al. (2017), yaptıkları çalışmada derin su pembe karidesini (*Parapenaeus longirostris*), jelatin ve portakal kabuğu esansiyel yağı ile kaplamışlardır ve portakal kabuğu esansiyel yağının uçucu kimyasal bileşenlerini GC-MS ile tespit etmişlerdir. Toplamda 19 bileşenin tanımlandığını ve ana bileşenin limonen (%77.3) olduğunu belirtmişlerdir. Diğer bileşenler ise alfa-pinen (%2.4), sabinen (%0.2), beta-pinen (%0.04), oktanol (%0.96), mirsen (%1.78),

fellandien (%0.09), 3-karen (%0.50), 4-karen (%0.07), terpinen (%1.01), 1,3,6-oktatrien, 3-7-dimetil(Z) (%0.08), terpineol (%2.74), 1-oktanol (%0.14), 1,6-oktadien-3-ol, 3,7-dimetil (%2.05), dekanal (%0.26), valensen (%3.28) olarak ifade edilmiştir.

Elde ettiğimiz GC-MS sonuçları ile limon yağının başlıca bileşenleri, sabinen, benzen, limonen, siklohekzen, α -pinen, gama-terpinen, α -terpilonen, 3-siklohekzen-1 metanol, Z-sitral 2,6-oktadienal, Nerylacetate 2,6 Oktadien olarak tespit edilmiştir. Literatür ile karşılaştırma yapıldığında benzer bileşenler bulunmakla birlikte farklı bileşenlerin de bulunmasının ve limonen miktarının literatürdekinden farklı olmasının nedeni olarak limon yağının elde edildiği kaynağın farklı olması düşünülmüştür.

4.8. Toplam Fenolik Madde Analizi ve DPPH Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Analizi

Çizelge 4.8’de kontrol örneğinin ve limon yağı içeren filmlerin toplam fenolik madde içerikleri ve DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.8. Limon yağı içeren ve içermeyen filmlerin ortalama toplam fenolik madde içerikleri, % inhibisyon cinsinden antioksidan aktivite değerleri ve standart sapma değerleri^a

Analizler	Limon yağı (%)	Sonuçlar
Toplam fenolik madde (gallik asit cinsinden) (mg/kg)	Kontrol	5.12 ^e ±0.005
	%0.25	120.3 ^d ±0.110
	%0.5	149.8 ^c ±0.470
	%0.75	180.7 ^b ±0.086
	%1	276.0 ^a ±1.300
Antioksidan aktivite (% inhibisyon)	Kontrol	10.84 ^e ±0.010
	%0.25	13.12 ^d ±0.010
	%0.5	22.00 ^c ±0.050
	%0.75	50.60 ^b ±0.064
	%1	60.20 ^a ±0.152

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir (P<0.05).

Çizelge 4.8 incelendiğinde toplam fenolik madde miktarı (mg/kg) kontrol örneğinin 5.12 ± 0.005 mg/kg, %0.25 limon yağı içeren film örneğinin 120.3 ± 0.110 mg/kg, %0.5 limon yağı içeren film örneğinin 149.8 ± 0.470 mg/kg, %0.75 limon yağı içeren film örneğinin 180.7 ± 0.086 mg/kg, %1 limon yağı içeren film örneğinin 276.0 ± 1.300 mg/kg olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite değerleri (% inhibisyon) kontrol film örneğinin 10.84 ± 0.010 , %0.25 limon yağı içeren film örneğinin 13.12 ± 0.010 , %0.5 limon yağı içeren film örneğinin 22.00 ± 0.050 , %0.75 limon yağı içeren film örneğinin 50.06 ± 0.064 , %1 limon yağı içeren film örneğinin 60.20 ± 0.152 olduğu belirlenmiştir.

Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde toplam fenolik madde içerikleri arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Duncan testi sonuçlarına göre limon yağı miktarı arttıkça toplam fenolik madde içeriğinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir ($P < 0.05$). Analizlerin gerçekleştiği tüm örneklerde %1 oranında limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film örneği en yüksek fenolik madde içeriğine sahiptir. Kontrol grubu örneğinin fenolik madde içeriğinin limon yağı ilavesi ile ciddi derecede arttığını söylemek mümkündür. Bu durum limon yağının fenolik maddelerce zenginliğini göstermektedir. Bütün örneklerde konsantrasyona bağlı olarak toplam fenolik madde içeriğinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($P < 0.05$).

Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde antioksidan aktivite içerikleri arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Duncan testi sonuçlarına göre limon yağı miktarı arttıkça antioksidan aktivite değerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir ($P < 0.05$). Analizlerin gerçekleştiği tüm örneklerde %1 oranında limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film örneği en yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir.

Siripatrawan and Harte (2010), kitosan bazlı filmlere farklı konsantrasyonlarda yeşil çay ekstraktı ilave ederek filmlerin antioksidan aktivite değerlerini (% inhibisyon cinsinden) incelediğinde, %2 yeşil çay ekstraktı içeren film örneğinin %29, %5 yeşil çay ekstraktı içeren film örneğinin %38, %10 yeşil çay ekstraktı içeren film örneğinin %43, %20 yeşil çay ekstraktı içeren film örneğinin %51 olduğunu bulmuşlardır. Toplam fenolik madde içerikleri

incelendiğinde, %2 yeşil çay ekstraktı içeren film örneğinin 6.75 mg gallik asit/g, %5 yeşil çay ekstraktı içeren film örneğinin 9.65 mg gallik asit/g, %10 yeşil çay ekstraktı içeren film örneğinin 17 mg gallik asit/g, %20 yeşil çay ekstraktı içeren film örneğinin 34 mg gallik asit/g olduğunu gözlemlemişlerdir.

Pires et al. (2011), yaptıkları çalışmada 0.025, 0.05, 0.1 ve 0.25 ml kekik yağı içeren film örneklerinin antioksidan aktivite değerlerinin % inhibisyon cinsinden sırasıyla, %18, %20, %22 ve %43 olduğunu tespit etmişlerdir.

Gallego et al. (2016), yaptıkları çalışmada jelatin bazlı filmlere farklı konsantrasyonlarda *Caesalpinia decapetala* esansiyel yağın (%0.3, %0.7, %1) ilave etmişler ve toplam fenolik madde içeriklerinin (mg gallik asit/g film) sırasıyla, 61, 85, 150 mg/g olduğunu tespit etmişlerdir. *Caesalpinia spinosa* esansiyel yağın %0.07, %0.1, %0.2 oranlarında ilave ettiklerinde toplam fenolik madde içeriklerinin sırasıyla, 145, 370, 515 mg/g olduğunu belirlemişlerdir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre, esansiyel yağ oranı arttıkça film örneklerinin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi artış göstermektedir. Elde ettiğimiz DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite (%) değerleri, literatür ile karşılaştırıldığında Siripatrawan and Harte (2010) ve Pires et al. (2011)'a göre sonuçların paralel olduğu tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde içerikleri (gallik asit cinsinden) (mg/kg) literatür ile karşılaştırıldığında, esansiyel yağ oranı arttıkça toplam fenolik madde içeriğinin artması bakımından uyum sağlamaktadır. Ancak bulduğumuz sonuçlar, literatürdekilerden küçüktür. Bu da kullanılan esansiyel yağların farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

4.9. ABTS Radikali Giderme Aktivitesi

ABTS radikal giderme aktivitesi tayini örneklerin proton veya elektron verme yeteneğinin renkli ABTS çözeltisinin rengini açması esasına dayanmaktadır. Reaksiyon karışımının renginin açılması veya absorbansının düşmesi örneğin antioksidan veya serbest radikal giderme aktivitesi ile doğru orantılıdır. Çizelge 4.9'da limon yağı içeren filmlerin ve kontrol örneğinin ABTS radikali giderme aktivitesi (%) değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.9. Limon yağı içeren ve içermeyen filmlerin ortalama ABTS radikali giderme aktivitesi (%) değerleri ve standart sapma değerleri^a

Limon yağı (%)	ABTS radikali giderme aktivitesi değeri (%)
Kontrol	13.81 ^e ±0.100
%0.25	21.43 ^d ±0.015
%0.5	52.62 ^c ±0.200
%0.75	61.85 ^b ±0.100
%1	73.70 ^a ±0.090

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir (P<0.05).

Çizelge 4.9 incelendiğinde, ABTS radikali giderme aktivite değerleri kontrol film örneğinin %13.81±0.100, %0.25 limon yağı içeren film örneğinin %21.43±0.015, %0.5 limon yağı içeren film örneğinin %52.62±0.200, %0.75 limon yağı içeren film örneğinin %61.85±0.100, %1 limon yağı içeren film örneğinin %73.70±0.090 olarak tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde ABTS radikali giderme aktivite sonuçları arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (P<0.05). Duncan testi sonuçlarına göre en yüksek ABTS radikali giderme aktivite değeri %1 limon yağı içeren film örneğinde, en düşük ABTS radikali giderme aktivite değerinin kontrol film örneğinde görüldüğü tespit edilmiştir(P<0.05).

Kavoosi et al. (2013), yaptıkları çalışmada jelatin filmlere farklı konsantrasyonlarda %0, %1, %2, %3, %4 ve %5 karvakrol ilave ederek ABTS radikal giderme aktivitelerinin sırasıyla %0.12, %0.86, %1.86, %3.46 ve %5.86, %7.22 olduğunu belirtmişlerdir.

Kavoosi et al. (2014), yaptıkları çalışmada jelatin bazlı filmlere farklı konsantrasyonlarda “*Zataria multiflora*” esansiyel yağı ilave ederek antioksidan aktivite değerlerini incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgulara göre ABTS radikali giderme aktivite değerleri, kontrol filmde 0.84±0.11 mg/g film, %2 esansiyel yağ içeren jelatin bazlı filmde 2.6±0.38 mg/g film, %4 esansiyel yağ içeren jelatin bazlı filmde 3.5±0.67 mg/g film , %6 esansiyel yağ içeren jelatin bazlı filmde 4.4±0.60

mg/g film ve %8 esansiyel yağı içeren jelatin bazlı filmde 5.5 ± 0.51 mg/g film olduğunu gözlemlemişlerdir.

Somayeh et al. (2014), yaptıkları çalışmada jelatin bazlı filmlere farklı konsantrasyonlarda %2, %4, %6, %8 *Trachyspermum ammi* esansiyel yağı ilave ederek antioksidan aktivite değerlerini analiz etmişlerdir ve ABTS radikal giderme aktivitelerinin sırasıyla %1, %2, %3, %4 olduğunu tespit etmişlerdir.

Elde ettiğimiz ABTS radikali giderme aktivite değerleri, literatür ile karşılaştırıldığında paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Film örneklerinde limon yağı oranı arttıkça, ABTS radikali giderme aktivitesi değerleri artış göstermektedir.

4.10. Metal Şelatlayıcı Aktivite Ölçümü

Çizelge 4.10'da kontrol örneğinin ve limon yağı içeren filmlerin metal şelatlayıcı aktivite ölçümü (%) değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.10. Limon yağı içeren ve içermeyen filmlerin ortalama metal şelatlayıcı aktivite (%) değerleri ve standart sapma değerleri^a

Limon yağı (%)	Metal şelatlayıcı aktivite (%)
Kontrol	$7.55^e \pm 0.098$
%0.25	$52.04^d \pm 1.698$
%0.5	$67.80^c \pm 0.174$
%0.75	$78.04^b \pm 0.200$
%1	$79.99^a \pm 0.500$

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.10 incelendiğinde metal şelatlayıcı aktivite değerleri kontrol film örneğinin 7.55 ± 0.098 , %0.25 limon yağı içeren film örneğinin 52.04 ± 1.698 , %0.50 limon yağı içeren film örneğinin 67.80 ± 0.174 , %0.75 limon yağı içeren film örneğinin 78.04 ± 0.200 , %1 limon yağı içeren film örneğinin 79.99 ± 0.500 olduğu tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde metal şelatlayıcı aktivite ölçüm sonuçları arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Duncan testi

sonuçlarına göre en yüksek metal şelatlayıcı aktivite değeri %1 limon yağı içeren film örneğinde, en düşük metal şelatlayıcı aktivite değerinin kontrol film örneğinde görüldüğü tespit edilmiştir ($P<0.05$).

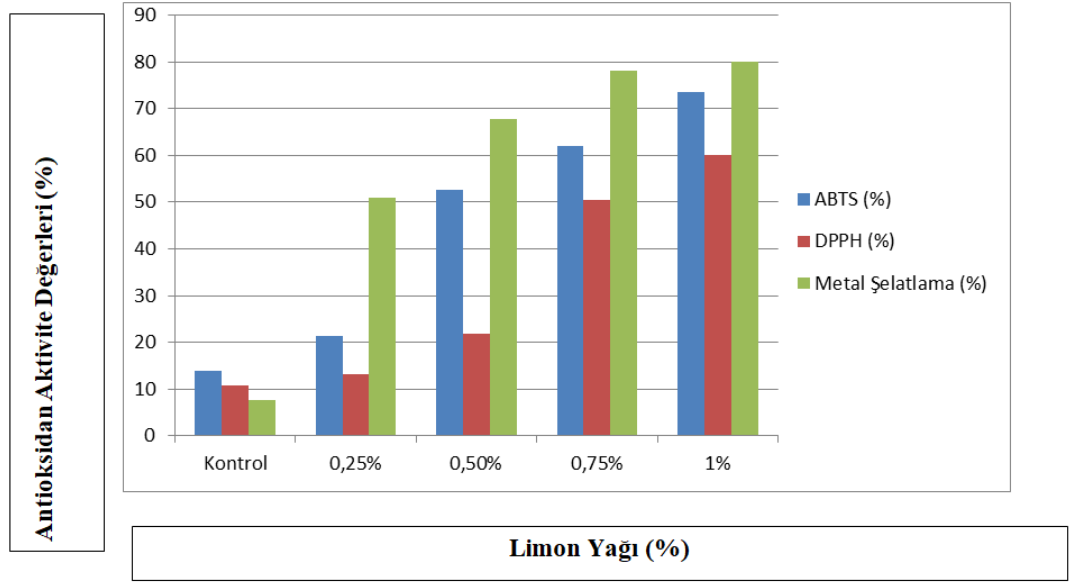
Chung et al. (2002), yaptıkları çalışmada *Bacillus subtilis* tarafından fermente edilen farklı konsantrasyonlarda kırmızı biber ekstraktının (0.1, 0.5, 1, 2, 2.5 ve 5 mg/ml) metal şelatlama aktivite değerlerinin sırasıyla, %10, %25, %40, %63, %78 ve %81 olduğunu belirlemişlerdir.

Genskowsky et al. (2015), yaptıkları çalışmada kitosan bazlı filmlere maqui berry (*Aristotelia chilensis* Mol. Stuntz) ekstraktları ekleyerek antioksidan özellikleri ve metal şelatlayıcı aktivite değerlerini incelemişlerdir. Elde ettikleri bulgulara göre, %0, %0.5, %1 maqui berry ekstraktı ilave edilmiş filmlerin metal şelatlayıcı aktivite değerleri sırasıyla %107, %109, %111 olarak belirlenmiştir.

Razali et al. (2015), parçalanmış cobia (*Rachycentron canadum*) balığı derisi jelatin hidrolizatı ile yaptıkları çalışmada antioksidan özellikleri ve metal şelatlayıcı aktivite değerlerini analiz etmişlerdir. Farklı molekül ağırlığındaki parçalanmış cobia balığı derisi jelatin hidrolizatlarının farklı metal şelatlayıcı aktivite gösterdiği belirtilmiştir. 3, 5, 10 kDa molekül ağırlığına sahip parçalanmış cobia balığı derisi jelatin hidrolizatlarının sırasıyla %55, %90, %65 metal şelatlayıcı aktivite değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Elde ettiğimiz metal şelatlayıcı aktivite ölçümü değerlerinin, literatür ile karşılaştırıldığında paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Chung et al. (2002) ve Genskowsky et al. (2015)'e göre sonuçların benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Şekil 4.5'de film örneklerinin 3 farklı yöntemle elde edilen antioksidan aktivite yüzdeleri görülmektedir.



Şekil 4.5. Limon yağı içeren ve içermeyen film örneklerinin antioksidan aktivite değerleri (%).

Pearson korelasyon testine göre örneklerin toplam fenolik madde içeriği ile DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite değerleri, ABTS radikali giderme aktivitesi, metal şelatlayıcı aktivite ölçümü arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon elde edilmiştir ($P < 0.05$).

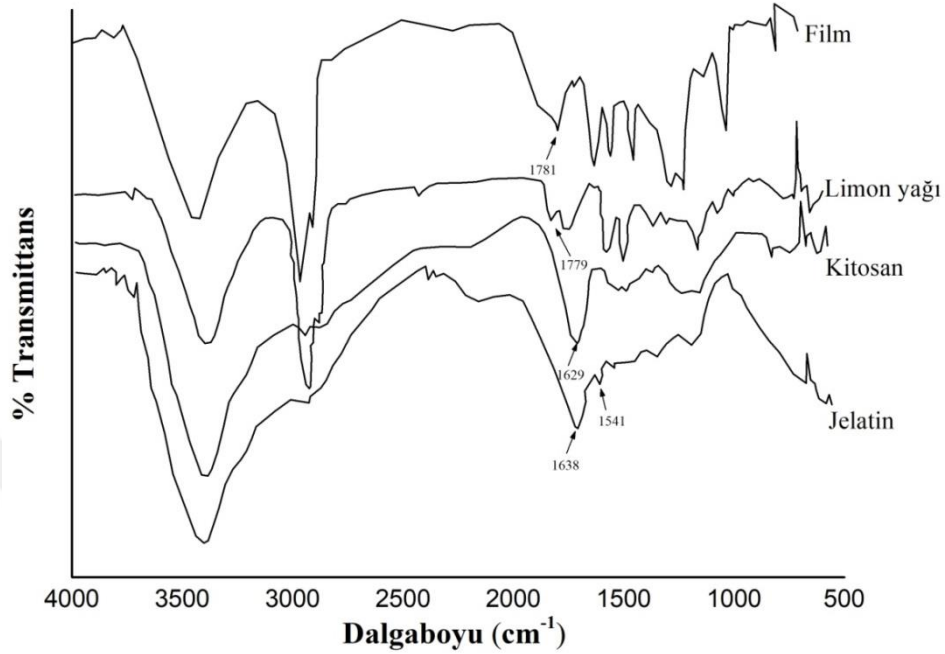
4.11. Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Gerçekleştirdiğimiz tez çalışma kapsamında jelatin, kitosan, limon yağı ile limon yağı içeren filmlerin FTIR spektrumları Şekil 4.2’de verilmiştir. FTIR spektrumları, fonksiyonel grupların ve film örneklerinin yapısal değişikliklerinin, moleküler düzeyde incelenmesi için kullanılmıştır.

Tüm jelatin/kitosan film örneklerinde, amid bölgesinde spektrumda küçük farklılıklar gösteren pikler tespit edilmiştir. Şekil 4.6’daki jelatin belirgin pikleri amid I (1638 cm^{-1}) ve amid II (1541 cm^{-1}) olarak saptanmıştır. Benzer şekilde kitosanın karakteristik 1629 cm^{-1} ’deki amid I piki olarak belirlenmiştir.

FTIR çalışmasından elde edilen spektrumda, limon yağının güçlü absorpsiyon pikinin 1779 cm^{-1} dalga boyunda olduğu tespit edilmiştir. Limon yağı içeren jelatin/kitosan filmlerinin FTIR spektrumu incelendiğinde ise limon yağının

17781 cm^{-1} 'de pik verdiği dolayısı ile limon yağının jelatin-kitosan filmlerinde bulunduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı filmlerin ATR-FTIR spektrumları.

Yao et al. (2017), jelatin-kitosan bazlı filmlere D-limonen ekleyerek yaptıkları çalışmada, FTIR analizi yapmışlardır. FTIR analizi sonucuna göre kontrol filminin majör pik değerleri 3296.07 cm^{-1} , 2921.01 cm^{-1} , 1659.85 cm^{-1} , 1241.64 cm^{-1} olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, D-limonen ilave edilmiş jelatin-kitosan bazlı filmlerin de kontrol filmlerine benzer olan spektrum bölgesinde karakteristik bantlara sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

Mohammadi et al. (2018), yumurta kabuğu membran jelatini ve kitosan bazlı kompozit filmlerin fizikomekanik ve yapısal özelliklerini araştırmışlardır. Yaptıkları FTIR analizi sonuçlarına göre yumurta kabuğu membran jelatini bazlı filmlerin gösterdiği ana bantların 1636 cm^{-1} , 1550 cm^{-1} , 1239.2 cm^{-1} , 1239 cm^{-1} olduğunu belirtmişlerdir. Kitosan ilavesiyle elde edilen kompozit filmlerin ise 1640–1552 cm^{-1} aralığında pik gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Tongnuanchan et al. (2016), hurma yağı ve fesleğen yağı içeren jelatin bazlı filmlerin FTIR spektrumlarını incelediklerinde, elde edilen piklerin 1632 cm^{-1} ,

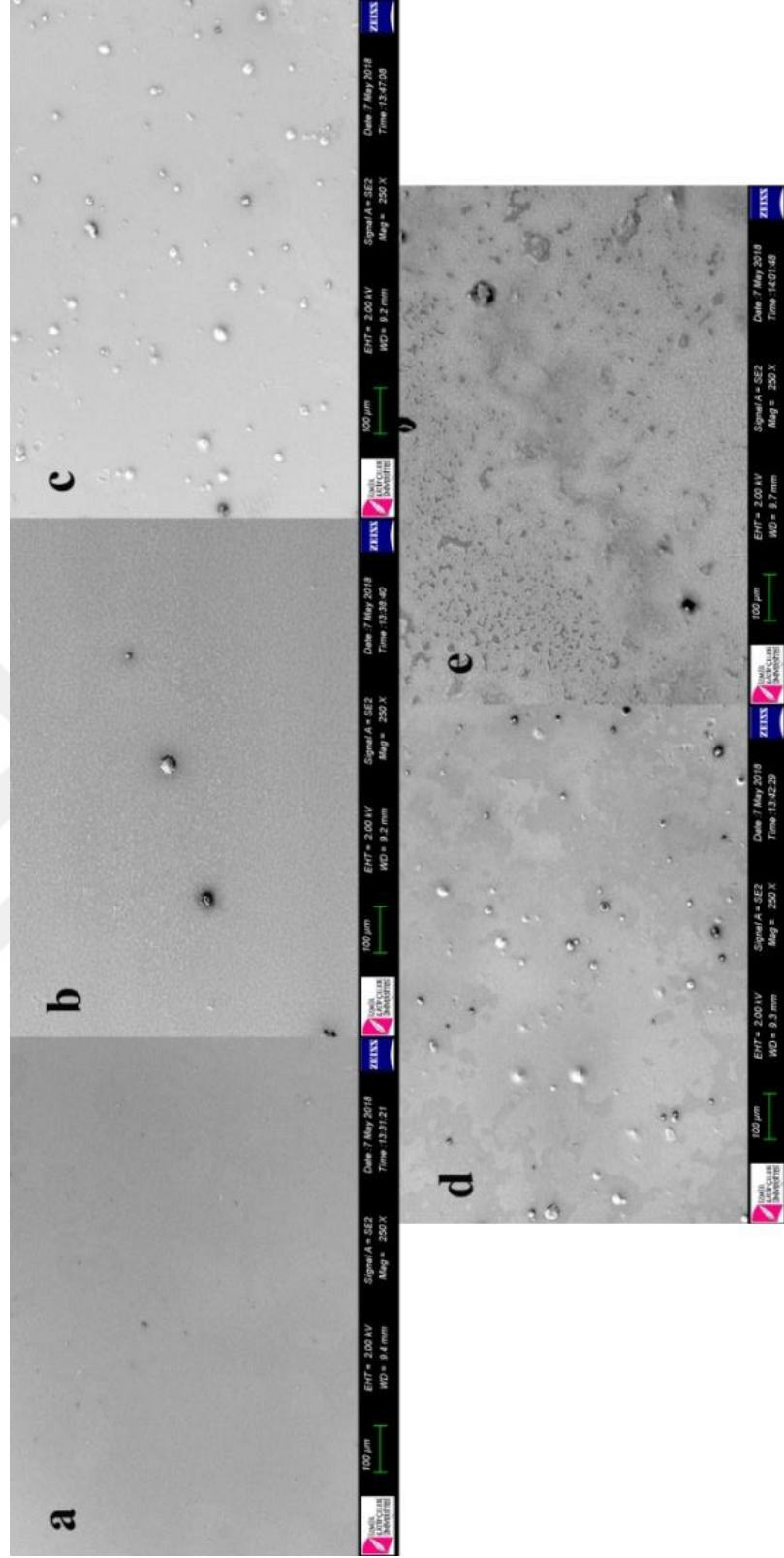
1636 cm^{-1} , 1542 cm^{-1} , 1544 cm^{-1} , 1238 cm^{-1} ve 1239 cm^{-1} olduğunu gözlemlemiştir.

Bu çalışma sonucunda FTIR analizi verilerinin yukarıda verilen literatür çalışmalarından elde edilen sonuçlarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

4.12 Taramalı Elektron Mikroskopu

Çalışma kapsamında elde edilen filmlerin, 282 büyütmedeki taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüleri belirlenmiştir. Şekil 4.3'de farklı konsantrasyonlarda (%0.25, %0.5, %0.75 ve %1) limon yağı içeren film örneklerinin taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüsü verilmiştir.

Şekil 4.7 incelendiğinde, filmlerin şeklinin pürüzsüz ve homojen dağılım gösterdiği ve herhangi bir faz ayrışımı olmadığı belirlenmiştir. Limon esansiyel yağının jelatin-kitosan filmlerine dahil edilmesi ile elde edilen filmlerin mikro yapısında değişiklikler gözlemlenmiştir. Jelatin-kitosan filmlerdeki gözeneklerin arttığı, çökmüş yağ damlacıklarının meydana geldiği veya başka bir deyişle, hidrofobik özelliklerinden dolayı kurutma aşaması sırasında sulu fazdan limon esansiyel yağının özellikle %1'lik konsantrasyonda ayrıldığı saptanmıştır. Elde ettiğimiz bu bulguların aşağıda verilen literatür sonuçlarına paralellik gösterdiği saptanmıştır.



Şekil 4.7. Limon yağı içeren film örneklerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri (X 250) (a: kontrol filmi; b: % 0.25 limon yağı içeren jelatin-kitosan filmi; c: % 0.50 limon yağı içeren jelatin-kitosan filmi; d: % 0.75 limon yağı içeren jelatin-kitosan filmi; e: % 1 limon yağı içeren jelatin-kitosan filmi).

Yao et al. (2017), D-limonen ekledikleri balık jelatin-kitosan bazlı filmler ile yaptıkları çalışmada, filmlerin mekanik ve antibakteriyel özelliklerini incelemişlerdir. Taramalı elektron mikroskobu bulgularına göre, D-limonen'den bağımsız olarak tüm jelatin-kitosan filmlerin kompakt, pürüzsüz, iyi düzenlenmiş ve muntazam bir yüzeye sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Choi et al. (2018), yaptıkları çalışmada, zerdeçal (*Curcuma longa*) ve jelatin içeren biyobozunur filmlerin mekanik ve bariyer özelliklerini araştırmışlardır. Elde edilen filmlerin yüzey morfoloji özellikleri ise taramalı elektron mikroskobu ile analiz edilmiştir. Elde ettikleri bulgulara göre, tüm filmlerin pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğunu ancak bazı gözenek ve agregasyonun olduğunu gözlemlemişlerdir.

Mohammadi et al. (2018), yumurta kabuğundan elde edilen jelatin ve kitosan bazlı kompozit filmler ile yaptıkları çalışmada filmlerin fizikokimyasal ve yapısal özelliklerini incelemişlerdir. Kompozit filmlerin morfolojik özelliklerini analiz etmek için kullandıkları taramalı elektron mikroskobu sonuçlarına göre filmlerin birbirine bağlı, pürüzsüz ve homojen dağılımı gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Elde ettiğimiz taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri literatür ile karşılaştırıldığında, filmlerin birbirine bağlı, pürüzsüz ve homojen dağılım gösterdiği ve sonuçların paralel olduğu saptanmıştır.

4.13 Limon Yağı İçeren Jelatin-Kitosan Bazlı Film İle Kaplanan Elma Dilimlerinin Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısında ve pH Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Buzdolabında +4°C'de depolama süresi boyunca (0.-5.-7.günler) kaplanmamış, kontrol film çözeltisi ve %0.75 oranında limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film çözeltisi ile kaplanan elma dilimlerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında ve pH değerinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film ile kaplanan elma örneklerinin ve kontrol grubunun depolama süresince toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları ile pH değerleri incelenerek aralarındaki farklılıklar istatistiksel olarak tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi ile analiz edilmiştir. Kontrol örneklerinin toplam

mezofilik aerobik bakteri sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. Ancak % 0.75 limon yağı içeren filmler ile kaplanan meyve dilimlerinin 0. gün, 5. gün ve 7. gün toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları tespit edilememiştir. Depolama süresince kontrol çözeltisi ile kaplanan örneklerin toplam mezofilik aerobik bakteri sayılarında anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film ile kaplanan elma örneklerinin pH değerleri arasında ise istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.11. Depolama süresince kaplanmamış, kontrol çözeltisi ile kaplanmış ve limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film ile kaplanan elma örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısındaki ve pH değerlerindeki değişimler^a

Örnekler	Depolama süresi	Toplam mezofilik aerobik bakteri (kob/g)	pH değerleri
Kaplanmamış elma dilimleri	0.Gün	$(2.1 \cdot 10^2)^c \pm 2.828$	$4.15^c \pm 0.02$
	5.Gün	$(3.5 \cdot 10^2)^b \pm 7.071$	$4.29^a \pm 0.01$
	7.Gün	$(2.7 \cdot 10^3)^a \pm 14.147$	$4.26^b \pm 0.01$
Kontrol çözeltisi kaplanmış elma dilimleri	0.Gün	$(9.0 \cdot 10^1)^c \pm 7.071$	$4.34^c \pm 0.02$
	5.Gün	$(1.0 \cdot 10^2)^b \pm 1.414$	$4.45^a \pm 0.02$
	7.Gün	$(1.5 \cdot 10^2)^a \pm 0.866$	$4.43^b \pm 0.01$
%0.75 Limon yağı içeren filmler ile kaplanmış elma dilimleri	0.Gün	<10	$4.49^b \pm 0.05$
	5.Gün	<10	$4.35^c \pm 0.02$
	7.Gün	<10	$4.58^a \pm 0.02$

^aAynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre örnek grupları arasındaki farklılıkları belirtmektedir. ($P<0.05$).

Bu çalışmada %0.75 limon yağı ile kaplanan elma dilimlerinde depolamanın başından itibaren toplam mezofilik aerobik bakteri tespit edilememiştir. Bu da limon yağı ilavesinin güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca sadece jelatin-kitosan çözeltisi ile kaplanmış elmalarda, hiç kaplanmamış elmalara göre mikrobiyal yük depolamanın başından sonuna dek daha düşük bulunmuştur. Ancak kontrol çözeltisi ile kaplanmış elma dilimlerinin mikrobiyal yükleri, %0.75 limon yağı içeren film çözeltisi ile kaplanmış örneklere göre daha yüksek bulunmuştur. Bu da jelatin-kitosan film çözeltisi ile kaplamanın

antimikrobiyal etki göstermesine rağmen, limon yağının bu anlamda çok daha etkin olduğunu göstermektedir.

Alak et al. (2010), yaptıkları çalışmada Atlantik palamutunu (*Sarda sarda*) kitosan ile kaplayarak mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerini araştırmışlardır. Yaptıkları istatistik analizi sonuçlarına göre, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının kontrol grubunda kitosan grubuna göre daha yüksek olduğunu ve depolama süresince en yüksek toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının on beşinci günde gözlemlendiğini ifade etmişlerdir. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının kontrol grubunda 5.65 log cfu/g ve kitosan grubunda ise 4.01 log cfu/g olduğunu belirtmişlerdir. pH değerini ise depolamanın 0., 3., 6., 9., 12. ve 15. gününde sırasıyla 5.99, 5.98, 6.02, 6.18, 6.23 ve 6.44 olarak tespit etmişlerdir.

Yao et al. (2017), D-limonen ekledikleri jelatin-kitosan bazlı filmler ile yaptıkları çalışmada, filmlerin mekanik ve antibakteriyel özelliklerini incelemişlerdir. %0.50 D-limonen içeren filmin *E. coli* için 14.7 ± 1.1 mm, %0.75 D-limonen içeren filmin *E. coli* için 16.3 ± 0.6 mm ve %1 D-limonen içeren filmin *E. coli* için 22.0 ± 1.2 mm inhibisyon bölgesi oluşturduğu belirtilmiştir. Filmlerin içerdiği D-limonen konsantrasyonu arttıkça bakteri sayısı azalmakta ve inhibisyon bölgesi artmaktadır.

Izci et al. (2018), yaptıkları çalışmada çipura (*Sparus aurata*) filetosunu kitosan ile kaplayarak raf ömrü özelliklerini araştırmışlardır. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, depolama süresince tüm gruplarda bakteri sayısının arttığını belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada, kontrol için depolamanın beşinci günü limit aşımı gerçekleşirken kitosan ile kaplı olanlarda depolamanın on beşinci günü limit değerinin aşıldığı belirtilmiştir. Başlangıçta, pH değerinin 6.12 olduğu ve depolama sırasında tüm örneklerin pH değerinin dalgalanma gösterdiği ifade edilmiştir.

Elde ettiğimiz mikrobiyolojik ve pH analizi sonuçları, literatür ile karşılaştırıldığında, depolama süresince toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının kontrol grubuna göre daha az olması ve pH değerinin ise artış göstermesi bakımından uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film çözeltileri ile kaplanan elmaların buzdolabında +4°C'da depolama süresince farklı günlerde

gösterdiği değişiklikler gözlemlenmiştir. Herhangi bir çözelti ile kaplanmayan elma dilimlerinin hızlı bir şekilde kararma gösterdiği gözlemlenmiştir. Diğer taraftan, jelatin-kitosan film çözeltisi ve limon yağı içeren jelatin-kitosan film çözeltisi ile kaplanan elma dilimlerinin daha yavaş karardığı ve %0.75 limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film ile kaplı olan elma dilimlerinin en yavaş kararma gösterdiği tespit edilmiştir. Ek 7’de elma örneklerinin depolamanın 0.-5.-7. günlerindeki görüntüleri verilmiştir.



5. SONUÇ

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında son yıllarda gıda alanında oldukça fazla yer alan fonksiyonel özellikteki jelatin-kitosan bazlı filmlerin limon yağı ile zenginleştirilerek fiziksel ve kimyasal özellikleri incelenmiştir. Jelatin ve kitosandan oluşturulan filme limon yağı ilave edilerek antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin artırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada farklı oranlarda limon yağı ile zenginleştirilen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde, film kalınlığı, film çözünürlüğü, kopma mukavemeti ve kopma anında uzama değeri, toplam fenolik madde, üç farklı yöntemle antioksidan aktivite, renk, ışık geçirgenliği, GC-MS ile limon yağının uçucu bileşenlerinin karakterizasyonu, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile askorbik asit analizi, FTIR, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile film görüntüleri analizleri yapılmıştır.

En yüksek film kalınlığı %0.75 ve %1 limon yağı içeren film örneklerinde 0.14 ± 0.02 mm, en düşük film kalınlığı kontrol film örneğinde 0.12 ± 0.01 mm olarak belirlenmiştir. Kopma anında uzama değerleri %46.05 ile %75.45 arasında bulunmuştur. Kopma mukavemeti ise 20.50 MPa ve 39.78 MPa arasında belirlenmiştir. Film çözünürlüğü %86.77 ile %96.34 arasında bulunmuştur. Örneklerin ortalama L^* değerleri 15.67 ile 27.54 arasında, a^* değerleri -0.20 ile -0.99 arasında, b^* değerleri 3.16 ile 6.51 arasında tespit edilmiştir. Filmlerin ortalama ışık geçirgenlikleri 7.55 ile 13.16 nm/mm aralığında tespit edilmiştir. Bu çalışmada, GC- MS ile limon yağının uçucu bileşenlerinin karakterizasyonu yapılmıştır. Buna göre limon yağının başlıca uçucu bileşenleri ve oranları sabinen %4.86, benzen %2.45, limonen %49.81, siklohekzen %1.33, α -pinen %10.13, gama-terpinen %10.90, α -terpilonen %0.67, 3-siklohekzen-1 metanol %1.33, Z-sitral 2,6-oktadienal %7.24, Nerylacetate 2,6 Oktadien %2.22 olarak tespit edilmiştir. FTIR çalışmasından elde edilen spektrumda, limon yağının güçlü absorpsiyon pikinin 1779 cm^{-1} dalga boyunda olduğu tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri filmlerin birbirine bağlı, pürüzsüz ve homojen dağılım gösterdiğini ve herhangi bir faz ayrışımı olmadığını ifade etmektedir. Limon esansiyel yağının jelatin-kitosan filmlerine dahil edilmesi ile elde edilen filmlerin mikro yapısında değişiklikler gözlemlenmiştir. Jelatin-kitosan filmlerdeki gözeneklerin arttığı, çökmüş yağ damlacıklarının meydana geldiği görülmektedir.

Farklı oranlarda limon yağı eklenerek elde edilen filmlerin antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriğinde artış gözlenmiştir. Toplam fenolik madde içeriği açısından limon yağı oldukça zengin bir kaynaktır. Limon yağı ilave edilen tüm jelatin-kitosan bazlı filmlerde DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivitesi, ABTS radikali giderme aktivitesi, metal şelatlama aktivite ölçümü ve toplam fenolik madde içeriklerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Toplam fenolik madde içeriği ile DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite, ABTS radikali giderme aktivitesi, metal şelatlama aktivite ölçümü arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmiş ve jelatin-kitosan bazlı filmlerin limon yağı ilavesi ile antioksidan aktivite değerinde artış gözlemlenmiştir ($P<0.05$).

Gıdaların antioksidan aktivitesi gıdanın kalitesi, raf ömrü ve halk sağlığı açısından önem arz etmektedir. Limon yağı içeren ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin, DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite değerlerinin %10.84 ve %60.20 arasında olduğu tespit edilmiştir. Film örneklerinde en fazla tespit edilen antioksidan aktivite değerinin %1 limon yağı içeren film örneğine ait olduğu belirlenmiştir. Film örneklerinin toplam fenolik madde içeriği 5.12 mg/kg ve 276.0 mg/kg arasında değişmektedir.

Limon yağı ile zenginleştirilen jelatin-kitosan bazlı film örneklerinin metal şelatlama aktivite değeri ve ABTS radikali giderme aktivite değerleri ile kontrol örneklerinin metal şelatlayıcı aktivite ölçümü ve ABTS radikali giderme aktivite değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($P<0.05$). Limon yağı içeren film örneklerinde metal şelatlayıcı aktivite ve ABTS radikali giderme aktivite değerinin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. %0.25, %0.50, %0.75 ve %1 limon yağı içeren jelatin-kitosan bazlı film örneklerinde konsantrasyonla doğru orantılı olarak antioksidan aktivite değerinde anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. ABTS radikali giderme aktivite değerleri %13.81 ile %73.70 aralığında tespit edilmiştir. Kontrol film örneğine ait metal şelatlama değeri % 7.55 iken, % 0.25, %0.50, %0.75 ve %1 limon yağı ilave edilen filmlerin ortalama metal şelatlayıcı aktivite ölçümü değerlerinin sırasıyla %52.04, %67.80, %78.04 ve %79.99 olduğu bulunmuştur. Film örneklerinin askorbik asit içerikleri yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemi ile belirlenmiştir. Örneklerin askorbik asit konsantrasyonunun 45.5 ile 146.9 mg/kg aralığında olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, jelatin-kitosan filmlerde limon yağı oranı arttıkça, film

kalınlığı, kopma mukavemeti, kopma anında uzama değeri, L* ve b* renk değerleri, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite, askorbik asit içeriği artış göstermiştir. Film çözünürlüğü ise artan limon yağı oranına karşılık azalmaktadır. Işık geçirgenliği limon yağı oranı %0.75 oranına ulaşıncaya dek azalmış, %1'lik limon yağı konsantrasyonunda ise artmıştır. Bu sonuç SEM görüntülerinin sonuçları ile uyum göstermektedir.

Limon yağı içeren (%0.75) ve içermeyen jelatin-kitosan bazlı film çözeltileri ile kaplanan elma dilimlerinin buzdolabında +4°C'da depolama süresince farklı günlerde (0.-5.-7. günler) toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı, pH değerleri ve görünüş özellikleri değerlendirilmiştir. %0.75 limon yağı ilaveli jelatin-kitosan film çözeltisi ile kaplanmış elma dilimlerinin mikrobiyolojik açıdan en iyi sonuçları verdiği tespit edilmiştir.

Bundan sonraki yapılacak çalışmalarda farklı ürün gruplarının limon yağı ilave edilmiş jelatin-kitosan bazlı filmlerle kaplanması, ürünlerin bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve raf ömrü çalışmalarının yapılması gerekmektedir. Elde ettiğimiz tüm sonuçlar kıyaslandığında, %0.75 limon yağı ilave edilen jelatin-kitosan bazlı film optimum koşul olarak düşünülmektedir. En yüksek toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite %1 limon yağlı jelatin-kitosan bazlı filmde olmakla beraber, ürünlerin kaplanmasında kullanılması durumunda bazı duyuşsal problemler yaratabileceği düşünülerek optimum koşul olarak %0.75 limon yağlı film önerilmektedir. Ayrıca %0.75 limon yağlı filmin ışık geçirgenliği değeri de, %1 limon yağlıya göre daha düşük bulunmuştur. Bu sonuçta optimum koşul olarak %0.75'in seçilmesinde etkili olmuştur. Limon yağı ilavesi sonucu film örneklerinde artan fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerlerinin ileride konuyla ilgili yapılacak çalışmalara yol gösterici nitelikte olacağı düşünülmektedir. Farklı esansiyel yağlar ve film kombinasyonları uygulanarak, antioksidan aktivitelerini arttırmak da mümkün olabilir. Sadece esansiyel yağ kullanımı değil, antioksidan aktiviteyi arttıran ve etkileyen koşullar geniş bir aralıkta değerlendirilerek, gıda endüstrisi için uygulama alanları belirlenerek, kontrollü koşullar altında, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite açısından zenginleştirilmiş ürünlerin elde edilmesi mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdelfadeel, H.F.A.,** 2012, Extraction and Characterization of Gelatin from Melon Bug (*Aspongubus viduatus*) and Sorghum Bug (*Agonoscelis pubescens*) for Application in to Ice Cream Making. Msc. Thesis, Sudan University of Science and Technology, Khartoum, Sudan.
- Ahmad, M., Benjakul, S. Prodpran, T., and Agustini, T.,** 2012, Physico-Mechanical and Antimicrobial Properties of Gelatin Film From the Skin of Unicorn Leather Jacket Incorporated with Essential Oils, Food Hydrocolloids, 28, 189-199p.
- Ahsan, S.M., Thomas, M., Reddy, K.K., Sooraparaju, S.G., Asthana, A., and Bhatnagar, I.,** 2017, International Journal of Biological Macromolecules, 110, 97-109p.
- Alak, G., Hisar, S., Hisar, O., Kaban, G., Kaya, M.,** 2010, Microbiological and Chemical Properties of Bonito Fish (*Sarda sarda*) Fillets Packaged with Chitosan Film, Modified Atmosphere and Vacuum, Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16 (Suppl-A): S73-S80p.
- Alparslan, Y., Metin, C., Yapıcı, H., Baygar, T., Günlü, A., Baygar, T.,** 2017, Combined Effect of Orange Peel Essential Oil and Gelatin Coating on the Quality and Shelf Life of Shrimps, Journal of Food Safety and Food Quality, 68(3), 53-80p.
- Alvarenga, E.S.,** 2011, Characterization and Properties of Chitosan, Biotechnology of Biopolymers, 978, 91-108p.
- Alves, V. , Rico, B.R. , Cruza, R., Vicente, A., Khmelinskiib, I., and Vieira, M.C.,** 2018., Preparation and Characterization of a Chitosan Film with Grape Seed Extract Carvacrol Microcapsule Sand Its Effectt on the Shelf-life of Refrigerated Salmon (*Salmo salar*), Food Science and Technology, 89, 525-534.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ayana, B., ve Turhan, K.,** 2010, Gıda Ambalajlanmasında Antimikrobiyal Madde içeren Yenilebilir Filmler/Kaplamalar ve Uygulamaları, Gıda, 35(2), 151-158p.
- Bakry, N.F., Isa, M.I.N., and Sarbon, N.M.,** 2017, Effect of Sorbitol at Different Concentrations on the Functional Properties of Gelatin/Carboxymethyl cellulose (CMC)/Chitosan Composite Films, International Food Research Journal, 24(4), 1753-1762p.
- Barbusinski, K., Salwiczek, S., and Paszewska, A.,** 2016, The Use of Chitosan for Removing Selected Pollutants from Water and Wastewater-short Review, Architecture Civil Engineering Environment, 2, 107-115p.
- Barrita, J.L.S., and Sanchez, M.S.S.,** 2013, Antioxidant Role of Ascorbic Acid and His Protective Effects on Chronic Diseases, Intech, Chapter 18, 449-484p.
- Baziwane, D., and He, Q.,** 2003, Gelatin: The Paramount Food Additive. Food Review International, 19, 423-435p.
- Bode, A.M.,** 1996, Metabolism of Vitamin C in Health and Disease, Advances in Pharmacology, 38, 21-47p.
- Bof, M., Jimenez, A., Locasa, D., Garcia, M., Chiralt, A.,** 2016, Grape Fruit Seed Extract and Lemon Essential Oil as Active Agents in Corn Starch-Chitosan Blend Films, Food Bioprocess Technology, 9, 2033-2045p.
- Boran, G.,** 2011, Bir Gıda Katkısı Olarak Jelatin: Yapısı, Özellikleri, Üretimi, Kullanımı ve Kalitesi, Gıda, 36(2), 97-104p.
- Bsoul, S.A., Terezhalmay, G.T.,** 2004, Vitamin C in Health and Disease, The Journal of Contemporary Dental Practice, 15(2), 1-13p.
- Cagri, A., Ustunol, Z., and Ryser, E.T.,** 2002, Inhibition of Three Pathogens on Bologna and Summer Sausage Using Antimicrobial Edible Films, Journal of Food Science, 67(6), 2317-2324p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ceylan, A.**, 1983, Tıbbi Bitkiler-II, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No: 481, Bornova-İzmir.
- Choi, I., Lee, S.F., Chang, Y., Lacroix, M., Han, J.**, 2018, Effect of Oxidized Phenolic Compounds on Cross-linking and Properties of Biodegradable Active Packaging Film Composed of Turmeric and Gelatin, LWT - Food Science and Technology, 93, 427–433p.
- Chung, Y., Chang, C., Chao, W., Lin, C., Chou, S.**, 2002, Antioxidative Activity and Safety of the %50 Ethanolic Extract from Red Bean Fermented by *Bacillus subtilis*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 2454-2458p.
- Clemens, Z.**, 2013, Vitamin C and Disease: Insights from the Evolutionary Perspective, Journal of Evolution and Health, 1(13), 1-22p.
- Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F. and Deschamps, A.**, 2002, Edible Antimicrobial Films Based on Chitosan Matrix, Journal of Food Science, 67, 1162-1169p.
- Cosge, B., İpek, A., Gurbuz, B.**, 2009, GC/MS Analysis of Herbage Essential Oil from Lemon Balms (*Melissa officinalis* L.) Grown in Turkey, Journal of Applied Biological Sciences, 3(2), 149-152p.
- Crizel, T., Costa, T., Rios, A., Flores, S.**, 2016, Valorization of Food-Grade Industrial Water in the Obtaining Active Biodegradable Films for Packaging, Industrial Crops and Products, 87, 218-228p.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A., and Voilley, A.**, 1988, Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packaging: A Review, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 38(4), 299-313p.
- Dhanavade, M.J., Chidamber, B.J., Ghosh, J.S., and Sonawane, K.D.**, 2011, Study Antimicrobial Activity of Lemon (*Citrus lemon* L.) Peel Extract, British Journal of Pharmacology and Toxicology, 2, 119-122p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Djagny, K.B., Wang, Z., and Xu, S.,** 2001, Gelatin: A Valuable Protein for Food and Pharmaceutical Industries: Review, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 41 (6), 481- 492.
- Duan, H., Umar, S., Xiong, R., and Chen, J.,** 2011, New Strategy for Expression of Recombinant Hydroxylated Human-derived Gelatin in *Pichia Pastoris* KM71, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 7127-7134p.
- Durdewic, J., Vasic, S., Radojevic, I., Delic, G., and Comic, L.,** 2014, Antibacterial, Antibiofilm, and Antioxidant Activity of *Potamogeton nodosus* Poir. Extracts, Kragujevac Journal of Science, 36, 137-144p.
- Durmuş, E.F., ve Evranuz, Ö.,** 2002, Yenilebilir Filmler ve Kaplamalar, Gıda Dergisi, Dünya Yayıncılık, 7(1), 96p.
- Dursun, S., ve Erkan, N.,** 2009, Yenilebilir Protein Filmler ve Su Ürünlerinde Kullanımı, Journal of Fisheries Sciences, 3(4), 352-373p.
- Dutta, P.K., Dutta J., and Tripathi, V.S.,** 2004, Chitin and chitosan: Chemistry, Properties and Applications, Journal of Scientific and Industrial Research, 63, 20-31p.
- Elsabee, M.Z., and Abdou, E.S.,** 2013, Chitosan Based Edible Flms and Coatings: A Review, Materials Science and Engineering, C 33,1819-1841p.
- Elzhoghby, A.O., Samy, W.M., and Elgindy, N.A.,** 2012, Protein-based Nanocarriers as Promising Drug and Gene Delivery Systems, Journal of Controlled Release, 161, 38-49p.
- Gagne, N.,** 1993, Production of Chitin and Chitosan from Crustacean Waste and Their Use as a Food Processing Aid, Thesis of Master of Science, Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gallego, M., Gordon, M., Segovia, F., Pablos, M.,** 2016, Gelatine-Based Antioxidant Packaging Containing *Caesalpinia decapetala* and Tara as a Coating for Ground Beef Patties, Journal Antioxidants, 2-15p.
- Gamarra, F.M.C., Sakanaka L.S., Tambourgi E.B., and Cabral F.A.,** 2006, Influence on the Quality of Essential Lemon (*Citrus aurantifolia*) Oil by Distillation Process, Brazilian Journal of Chemical Engineering, 23, 147-151p.
- Genskowsky, E., Puente, L.A., Perez-Alvarez, J.A., Fernandez-Lopez, J., Munoz, L.A., Viuda-Martoz, M.,** 2015, Assessment of Antibacterial and Antioxidant Properties of Chitosan Edible Films Incorporated with Maqui Berry (*Aristotelia chilensis*), LWT-Food Science and Technology, 64, 1057-1062p.
- Gimenez, B., Aleman, A., Montero, P., Gomez-Guillen, M.,** 2009, Antioxidant and Functional Properties of Gelatin Hydrolysates Obtained from Skin of Sole and Squid, Food Chemistry, 114, 976-983p.
- Gomez-Esteca, J., Lopez de Lacey, A., Lopez-Caballero, M.E., Gomez-Guillen, M.C., and Montero, P.,** 2010, Biodegradable Gelatin-Chitosan Films Incorporated with Essential Oils as Antimicrobial Agents for Fish Preservation, 27 (7), 889-96p.
- Gonzalez-Molina, E., Dominguez-Perles, R., Moreno, D.A., and Garcia-Viguera, C.,** 2010, Natural Bioactive Compounds of *Citrus Limon* for Food and Health, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 51, 327-345p.
- Gorinstein, S., Huang, D., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Yamamoto, K., Soliva-Fortuny, R., Belloso, O.M., Ayala, A.M.L., and Trakhtenberg, S.,** 2006, Determination of Naringin and Hesperidin in Citrus Fruit by High-performance Liquid Chromatography. The Antioxidant Potential of Citrus Fruit, Acta Chromatographica, 17, 108-124p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Guerra, G.D., Barbani, N., Gagliardi, M., Rosellini, E., and Cristallini, C.,** 2011, Chitosan-Based Macromolecular Biomaterials for the Regeneration of Chondroskeletal and Nerve Tissue, *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 1-9p.
- Hacısevki, A.,** 2009, An Overview of Ascorbic Acid Biochemistry, *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi (J. Fac. Pharma, Ankara)*, 38, 233-255p.
- Hima Bindu, T.V.L., Vidyavathi, M., Kavitha, K., Sastry, T.P., and Suresh Kumar, R.V.,** 2010, Preparation and Evaluation of Chitosan-Gelatin Composite Films for Wound Healing Activity, *Trends in Biomaterials & Artificial Organs*, 24(3), 123-130p.
- Horn, M.M., Bertolo, M.R.V., Martins, V.C.A., and Plepis, A.M.G.,** 2016, Physical and Thermal Evaluation of Chitosan/Gelatin Films Associated with Grape Seed Extract, *SLABO*, 2016, 24-27p.
- Izci, L., Ekici, F., Günlü, A.,** 2018, Coating with Chitosan Film of Sea Bream (*Sparus aurata*) Fillets: Determining Shelf Life in Refrigerator Conditions, *Food Science and Technology*, 38(1), 54-59p.
- Janati, S.S.F., Beheshti, H.R., Feizy, J., and Fahim, N.K.,** 2012, Chemical Composition of Lemon (*citrus limon*) and Peels Its Considerations as Animal Food, *GIDA*, 37, 267-271p.
- Jantrawut, P., Chaiwarit, T., Jantanasakulwong, K., Brachais, C.H., and Chambin, O.,** 2017, Effect of Plasticizer Type on Tensile Property and In Vitro Indomethacin Release of Thin Films Based on Low-Methoxyl Pectin, 9, 289p.
- Kabara, J.J.,** 1991, Phenols and Chelators, *In Food Preservatives*, London, 200-214p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kamal, G.M., Anwar, F., Hussain, A.I., Sarri, N., and Ashraf, M.Y.,** 2011, Yield and Chemical Composition of *Citrus* Essential Oils as Affected by Drying Pretreatment of Peels, *International Food Research Journal*, 18, 1275-1282p.
- Kamaliroosta, L., Zolfaghari, M., Shafiee, S., Larijani, K., and Zojaji, M.,** 2016, Chemical Identifications of Citrus Peels Essential Oils, *Journal of Food Biosciences and Technology*, 6, 69-76p.
- Karim, AA., and Bhat, R.,** 2008, Gelatin Alternatives for the Food Industry: Recent Developments, Challenges and Prospects, *Trends in Food Science and Technology*, 19, 644-656p.
- Kaya , M., Ravikumara, P., Ilk, S., Mujtabaa., M., Akyuz, L., Labidie, J., Salaberriæ, M., Cakmak, Y.S., ve Karaman, E.S.,** 2008, Production and Characterization of Chitosan Based Edible Films from *Berberis Crataegina's* Fruit Extract and Seed Oil, *Innovative Food Science and Technology*, 45, 287-297p.
- Kavoosi, G., Dadfar, S.M.M., Purfard, A., Mehrabi, R.,** 2013, Antioxidant and Antibacterial Properties of Gelatin Films Incorporated with Carvacrol, *Journal of Food Safety*, 33, 423-432p.
- Kavoosi, G., Rahmatollahi, A., Dadfar, S., Purfard, A.,** 2014, Effects of Essential Oil on the Water Binding Capacity, Physico-Mechanical Properties, Antioxidant and Antibacterial Activity of Gelatin Films, *Food Science and Technology*, 57, 556-561p.
- Kester, J.J., and Fennema, O.R.,** 1986, Edible Films and Coatings: A Review, *Food Technology*, 40(12), 47-58p.
- Khan, A.A., Mahmood, T., Siddiqui, H.H., and Akhtar, J.,** 2016, Phytochemical and Pharmacological Properties on *Citrus Limetta* (Mosambi), *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8, 555-563p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Klaus, A., Gordana, D., Jovanovic, A., and Niksic, M.,** 2016, Antimicrobial Activity of Chitosan Coatings and Films Against *Listeria monocytogenes* on Black Radish. *Revargent Microbiology*, 48(2), 128-136p.
- Kumar, M.N.V.R.,** 2000, A Review of Chitin and Chitosan Applications, *Reactive and Functional Polymers*, 1-27p.
- Le, Y., Anand, S.C., and Horrocks, A.R.,** 1997, Recent Developments in Fibres and Materials for Wound Management, *Indian Journal of Fibre Textile Research*, 22, 337-347p.
- Lerdthanangkul, S., and Krochta, J.M.,** 1996, Edible Coating Effects on Postharvest Quality of Green Bell Peppers, *Journal of Food Science*, 61(1), 97-103p.
- Li, Q., Dunn, E.T., Grandmaison, E.W., and Goosen, M.F.A.,** 1992. Applications and Properties of Chitosan, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 7, 370-396p.
- Lim, S., and Hudson, S.M.,** 2003, Review of Chitosan and Its Derivatives as Antimicrobial Agents and Their Uses as Textile Chemicals, *Journal of Macromolecular Science*, 43(2), 223-269p.
- Lopez-Mata, M., Ruiz-Cruz, S., Silva-Beltran, N., Ornelas-Paz, J., Zamudio-Flores, P., and Burruel-Ibarra, S.,** 2013, Physicochemical, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporated with Carvacrol, *Molecules*, 18, 13735-13753p.
- Lv, X., Zhao, S., Ning, Z., Zeng, H., Shu, Y., Tao, O., Xiao, C., Lu, C., and Liu, Y.,** 2015, *Citrus* Fruits as a Treasure Trove of Active Natural Metabolites that Potentially Provide Benefits for Human Health, *Chemistry Central Journal*, 9, 1-14p.
- Mariod, A.A., and Adam, H.F.,** 2013, Review: Gelatin, Source, Extraction, and Industrial Applications, *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 12, 135-147p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Matiaevich, S., Cofre, D.C., Schebor, C., and Enrione, J.,** 2013, Physicochemical and Antimicrobial Properties of Bovine and Salmon Gelatin-chitosan Films, *Journal of Food*, 11(4), 366-378p.
- McHugh, T.H., and Krochta, J.M.,** 1994, Permability Properties of Edible Films, in *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Technomic Publishing Co., Inc.,USA, 139-189p.
- Mohammadi, R., Mohammadifar, M.A., Rouhi, M., Kariminejad, M., Mortazavian, A.M., Sadeghi, E., Hasanvand, S.,** 2018, Physico-mechanical and Structural Properties of Eggshell Membrane Gelatin-chitosan Blend Edible Films, *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 406–412p.
- Mohammed, A.M.A., Ibrahim, A.M., Omran, A.A., Mohamed, M.E., and Elsheikh, S.E.M,** 2013, Minerals Content, Essential Oils Composition and Physicochemical Properties of *Citrus jambhiri* Lush. (Rough Lemon) from Sudan, *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 9, 25-30p.
- Mohanapriya, M., Ramaswamy, L., and Rajendran, R.,** 2013, Health and Medicinal Properties of Lemon (*Citrus Limonum*), *International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*, 3, 1095-1100p.
- Mohebi, E., and Shahbazi, Y.,** 2017, Application of Chitosan and Gelatin Based Active Packaging Films for Peeled Shrimp Preservation: A Novel Functional Wrapping Design, *Food Science and Technology*, 76, 108-116p.
- Mondello, L., Casilli, A., Tranchida, P.Q., Costa, R., Dugo, P., Dugo, G.,** 2004, Fast GC for the Citrus Oils, *Journal of Chromatographic Science*, 42, 410-416 p.
- Morura, C.M., Moura, J.M., Santos, J.P., Kosinski, R.C., Dotto, G.L., and Pinto, L.A.,** 2012, Evaluation of Mechanical Properties and Water Vapor Permeability in Chitosan Biofilms Using Sorbitol and Glycerol, *Macromol Symp*, 319, 240-245p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Munoz, G.A., and Corrales, H.F.Z.,** 2017, Chitosan, Chitosan Derivatives and Their Biomedical Applications, Intech Publishing.
- Naganuma, M., Hirose, S., Nakayama, Y., Nakajima, K., and Someya, T.,** 1985, A Study of the Phototoxicity of Lemon Oil, Archives of Dermatological Researches, 278, 31-6p.
- Najwa, R., Azrina, A.,** 2017, Comparison of Vitamin C Content in Citrus Fruits by Titration and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Methods, International Food Research Journal, 24(2): 726-733p.
- Nisperos, M.O., and Baldwin, E.A.,** 1996, Edible Coatings for Whole and Minimally Processed Fruits And Vegetables, Food Australia, 48(1), 27-31p.
- Özdestan, Ö., ve Üren, A.,** 2011, Effects of Boiling Parameters on the Levels of Nitrate, Nitrite and Color Values of Wild Radish (*Raphanus raphanistrum*), Gıda, 36(4), 193-200p.
- Palazzolo, E., Laudicina, V.A., and Germana, M.A.,** 2013, Current and Potential Use of Citrus Essential Oils, Current Organic Chemistry, 17, 3042-3049p.
- Paul, D.K., and Shaba, R.K.,** 2004, Nutrients, Vitamins and Minerals Content in Common Citrus Fruits in the Northern Region of Bangladesh, Pakistan Journal of Biological Sciences, 7, 238-242p.
- Pavlat, A.E., and Orts, W.,** 2009, Edible Films and Coating: Why, What, and How?, Springer Science, Western Regional Research Center, ARS, USDA, Albany, CA, USA.
- Perdones, A., Eschrich, I., Chiralt, A., and Vargas, M.,** 2016, Effect of Chitosan-Lemon Essential Oil Coatings on Volatile Profile of Strawberries During Storage, Food Chemistry, 197, 979-986p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pereda, M., Ponce, A.G., Marcowich, N.E., Ruseckaite, R.A., and Martucci, J.F.,** 2011, Chitosan-Gelatin Composites and Bi-layer Films with Potential Antimicrobial Activity, *Food Hydrocolloids*, 25, 1372-1381p.
- Pérez-Cordóba, L., Norton, I., T., Batchelor, H.K., Gkatzionis, K., Spyropoulos, F., and Sobral, P.J.A.,** 2017, Physico-chemical, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Gelatin-Chitosan Based Films Loaded with Nanoemulsions Encapsulating Active Compounds, *Food Hydrocolloid*, 1-16p.
- Pillai, C.K.S., Paul, W., and Sharma, C.P.,** 2009, Chitin and Chitosan Polymers: Chemistry, Solubility, and Fiber Formation, *Progress in Polymer Science*, 34, 641-678p.
- Pires, C., Ramos, G., Teixeira, I., Batista, R., Mendes, L., Nunes, A. and Marques, A.,** 2011. Characterization of Biodegradable Films Prepared with Hake Proteins and Thyme Oil, *Journal of Food Engineering*, 105, 422-428p.
- Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, S.A., Bashir, N., Nazir, F., and Nayik, G.A.,** 2016, Citrus Peel as a Source of Functional Ingredient: A Review, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, in Press.
- Rahmawati, D., Chandra, M., Santoso, S., and Gunawan, M.,** 2017, Application of Lemon Peel Essential Oil with Edible Coating Agent to Prolong Shelf Life of Tofu and Strawberry, *AIP Conference Proceedings*, 1803, 020037-1-020037-5p.
- Razali, A.N., Amin, A.M., Sarbon, N.M.,** 2015, Antioxidant Activity and Functional Properties of Fractionated Cobia Skin Gelatin Hydrolysate at Different Molecular Weight, *International Food Research Journal*, 22(2), 651-660p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Re, P., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C.** 1999, Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237p.
- Rinaudo, M.,** 2006, Chitin and Chitosan: Properties and Applications, *Progress in Polymer Science*, 31, 603-632p.
- Siripatrawan, U. and Harte, B.,** 2010, Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract, *Food Hydrocolloids*, 24, 770-775p.
- Shahidi, F., and Zhong, Y.,** 2005, Citrus Oils and Essences, *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, Bailey, 49-65p.
- Sharp, R.G.,** 2013, A Review of the Applications of Chitin and Its Derivatives in Agriculture to Modify Plant-microbial Interactions and Improve Crop Yields, *Agronomy*, 3, 757-793p.
- Somayeh, J., Kavoosi, G., Shakiba, A.,** 2014, Chemical and biological Properties of *Trachyspermum ammi* Encapsulated in Gelatin Nanofilms, *International Journal of Infection*, 1(1), e18420.
- Stepniewski, M., Martnykiewicz, J., and Gosk, J.,** 2017, Chitosan and Its Composites: Properties for Use in Bone Substitution, *Polimery Medicine*, 47(1), 49-53p.
- Su, K., and Wang, C.,** 2015, Recent Advances in the Use of Gelatin in Biomedical Research, *Biotechnology Letters*, 37, 2139-45p.
- Sun, J.,** 2007, D-limonene: Safety and Clinical Applications, *Alternative Medicine Review*, 12, 259-264p.
- Suput, D.Z., Lazic, V.L., Popovic, S.Z., and Hromis, N.M.,** 2015, Edible Films and Coatings-Sources, Properties, and Application, *Food and Feed Research*, 42, 11-22p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Nilsuwan, K.,** 2015, Emulsion Film Based on Fish Skin Gelatin and Palm Oil: Physical, Structural and Thermal Properties, *Food Hydrocolloids*, 48, 248-259p.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Pisuchpen, S., Osako, K.,** 2016, Mechanical, Thermal and Heat Sealing Properties of Fish Skin Gelatin Film Containing Palm Oil and Basil Essential Oil with Different Surfactants, *Food Hydrocolloids*, 56, 93-107p.
- Tulumandi, S., Visvanathan, R., S, Rizvi, S., Singhal, R., Chattopahyay, S., Saha, N.,** 2016, A Biodegradable and Edible Packaging Film Based on Papaya Puree Gelatin, and Defatted Soy Protein, *Food Packaging and Shelf Life*, 10, 60-71p.
- Xu, B. J., Chang, S. K. C.,** 2007, A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvent, *Journal of Food Science*, 72, 159-166p.
- Xu, J., Xia, Y., Qiao, C.D., Zhu, W., Wang, Y., and Li, T.D.,** 2014, Solid State Structure of Gelatin-mono Epoxy Terminated Polydimethylsiloxane Polymer: Effect of Electrostatic and Hydrophobic Interactions, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 123, 945-950p.
- Vieira, M.G.A., Silva, M.A., and Santos, L.O.,** 2011, Natural-based Plasticizers and Biopolymer Films: A Review, *European Polymer Journal*, 47, 254-263p.
- Vikele, L., Laka, Sable, I., Rozenberga, L., Grinfelds, U., Zoldners, J., Passas, R., and Mauret, E.,** 2017, Effect of Chitosan on Properties of Paper for Packaging, *Cellulose Chemistry and Technology*, 51, 67-73p.
- Yang, H., Wang Y., Jiang M., Oh, J.H., Herring, J., and Zhou, P.,** 2007, 2-Step Optimization of the Extract ion and Subsequent Physical Properties of Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) Skin Gelatin. *Journal of Food Science*, 72 (4), 188-195p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Yao, Y., Ding, D., Shao, H., Peng, Q., and Huang, Y., 2017, Antibacterial Activity and Physical Properties of Fish Gelatin-Chitosan Edible Films Supplemented with D-limonene, International Journal of Polymer Science, 2017, 1-9.

Zengin, C., ve Başkurt, E., 2009, Hayvansal Kaynaklı Yenilebilir Film ve Kaplamalar, Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği, Muradiye/Manisa.

Zhang, F., Xu, S., and Wang, Z., 2011, Pre-treatment Optimization and Properties of Gelatin from Freshwater Fish Scales, Food and Bioproducts Processing, 89, 185-193p.

ÖZGEÇMİŞ

Aslıhan TÜĞEN 02.02.1993'de Bornova-İzmir'de doğdu. İlköğrenimini İzmir Özel Tevfik Fikret İ.Ö.O'da, Lise öğrenimini İzmir Buca 85.Yıl Anadolu Lisesi'nde tamamlamıştır. Daha sonra Manisa Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne girmiş ve lisans eğitimini burada tamamlayarak mezun olmuştur. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Bilimleri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başlamıştır. İyi derecede İngilizce ve Fransızca bilmektedir.



Yayınları:

- Tüğen, A., Ötleş, S., 2017, Hidrokolloidler ve Gıda İnteraksiyonları-1-Dünya Gıda Dergisi, 6, 84-89.
- Tüğen, A., Ötleş, S., 2017, Hidrokolloidler ve Gıda İnteraksiyonları-2-Dünya Gıda Dergisi, 7, 93-98.
- Tüğen, A., Ötleş, S., 2017, Fenolik Maddeler ve Gıda İnteraksiyonları, Plastik & Ambalaj Teknolojisi Dergisi, 233.
- Tüğen, A., Özdestan Ocak, Ö., 2018, Jelatin-Kitosan Bazlı Filmlerin Gıda Uygulamaları, Analiz 35 Dergisi, Basımda (hakem onaylı makale).
- Tüğen, A., Ocak, B., Özdestan Ocak, Ö., 2018, Use of Gelatin-Chitosan Composite Edible Films in Active Food Packaging, 4th International Ege Composite Materials Symposium (KOMPEGE), Ege University, Bornova-İzmir (poster sunum).
- Tüğen, A., Ocak, B., Özdestan Ocak, Ö., 2018, Determination of Colour Values of Gelatin-Chitosan Composite Films Enriched with Lemon Essential Oil, 4th International Ege Composite Materials Symposium (KOMPEGE), Ege University, Bornova-İzmir (poster sunum).

EKLER

Ek 1. Farklı oranlarda limon yağı içeren ve içermeyen film örnekleri

Ek 2. TAXT Plus Texture Analyser cihazı

Ek 3. Spektrofotometre cihazı

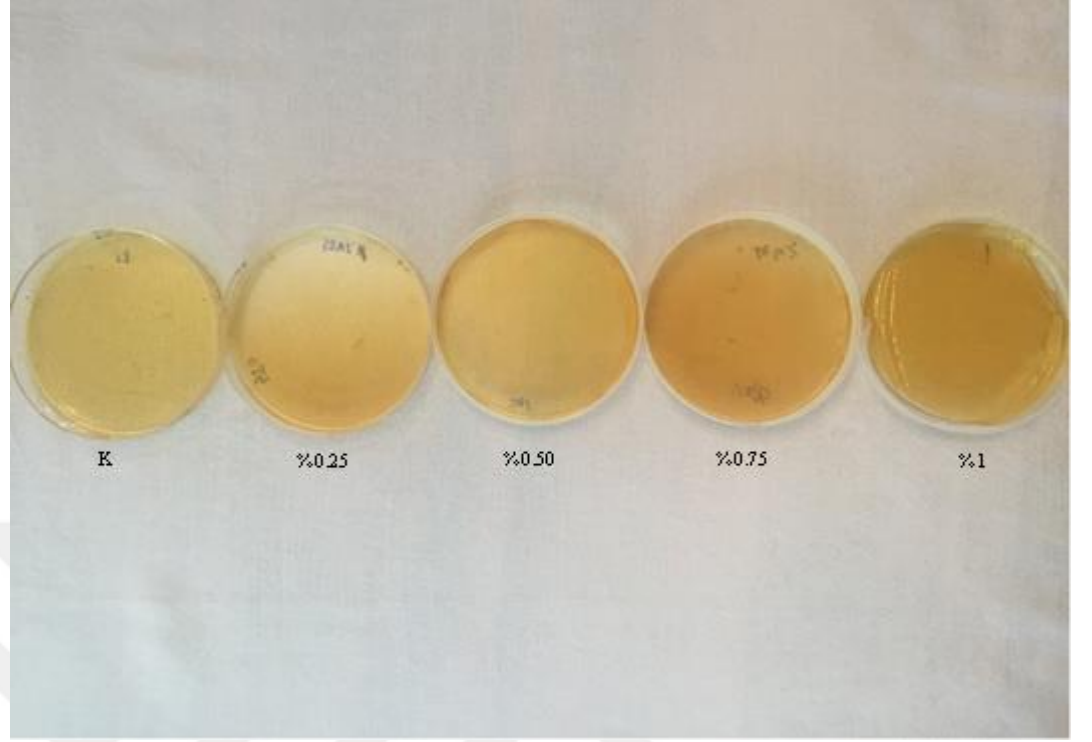
Ek 4. HPLC cihazı

Ek 5. GC-MS cihazı

Ek 6. Taramalı Elektron Mikroskobu

Ek 7. Elma dilimlerinin sırasıyla 0.-5.-7. günlerde depolama sonrası görüntüleri

Ek 1. Farklı oranlarda limon yağı içeren ve içermeyen film örnekleri



Ek 2. TAXT Plus Texture Analyser cihazı



Ek 3. Spektrofotometre cihazı



Ek 4. HPLC cihazı



Ek 5. GC-MS cihazı



Ek 6. Taramalı Elektron Mikroskobu



Ek 7. Elma dilimlerinin sırasıyla 0.-5.-7. günlerde depolama sonrası görüntüleri

0.Gün



5.Gün



7.Gün

