

**LİMON KABUKLARINDAN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLİ
YENİLEBİLİR FİLM ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

**PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF
ANTIMICROBIAL EDIBLE FILM FROM
LEMON PEEL**

EBRU DOĞANGÜN BAHTİMUR

Prof. Dr. DENİZ TANYOLAÇ

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
KİMYA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2018

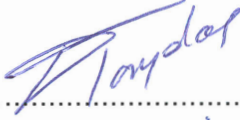
EBRU DOĞANGÜN BAHTİMUR'un hazırladığı “**Limon Kabuklarından Antimikrobiyal Özellikli Yenilebilir Film Üretimi Ve Karakterizasyonu**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'** nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zümriye AKSU
Başkan



.....

Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ
Danışman



.....

Doç. Dr. İ. Cengiz KOÇUM
Üye



.....

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

- Tezimin/Raporumun 01.09.2020 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

03 / 07 / 2018

(Ebru)

Ebru DOĞANGÜN BAHTİMUR

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

18.06.2018

EBRU DOĞANGÜN BAHTİMUR



Hayatımın İYİKİLERİNE...

Canım Eşim' e ve Biricik Oğlum'a Çınarım'a...

ÖZET

LİMON KABUKLARINDAN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLİ YENİLEBİLİR FİLM ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

EBRU DOĞANGÜN BAHTİMUR

Yüksek Lisans, Kimya Mühendisliği

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ

Haziran 2018, 63 sayfa

Sunulan tez çalışmasında, atık limon kabukları ile ozonize zeytinyağının literatürde ilk kez birlikte kullanımıyla doğada kendiliğinden bozunabilen, yenilebilir, güçlü antimikrobiyal özellikli, çevre dostu ve düşük maliyetli literatürde özgün değeri olan alternatif ambalaj malzemesinin hazırlanması amaçlanmaktadır.

Çalışmada, farklı ortam parametreleri (sıcaklık, parçacık boyutu, süre) ve bileşen konsantrasyonlarının (pektin, ozonize zeytinyağı, gliserol, CaCl_2) elde edilen pektin ve hazırlanan yenilebilir filmlerin yapısına olan etkilerinin belirlenmesi amacıyla Termal Gravimetrik Analiz (TGA), Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ve Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometresi (FTIR) kullanılarak yapısal karakterizasyon gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın ilk aşamasında, asidik ortamda, farklı sıcaklık (50 ve 85 °C), farklı partikül boyutu (150, 300 ve 500 μm) ve farklı ekstraksiyon sürelerinde (60, 90 ve 120 dakika) gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile atık limon kabuklarından pektin eldesi gerçekleştirilmiş ve en yüksek pektin verimine pektinin esterleşme derecesinin % 61 olarak hesaplandığı 150 μm parçacık boyutunda, 85 °C sıcaklık ve 90 dakikalık ekstraksiyon süresinde ulaşılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında, atık limon kabuklarından elde edilen pektin ile hazırlanan yenilebilir filmler için en uygun gliserol, ozonize zeytinyağı ve CaCl_2 konsantrasyonunun belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılarak bu parametrelerin filmlerin görsel, mekanik, yapısal ve antimikrobiyal özelliklerine etkileri

incelenmiştir. Mekanik test analizlerinde yenilebilir filmlerin kopma anındaki mukavemet değerlerinin 0,14-4,73 MPa ve uzama değerlerinin % 37-90 aralığında olduğu tespit edilerek standartlara uygun aralıkta yeni bir ambalaj filmi olarak kullanılabilceği görülmüştür.

Çalışmada kullanılan ozonize zeytinyağının ve hazırlanan yenilebilir filmlerinin antimikrobiyal duyarlılığının belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi kullanılmış ve sonuç olarak ozonize zeytinyağının *E. coli*, ve *S. aureus* mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermesine karşılık hazırlanan filmlerinin sadece *E. coli* mikroorganizması üzerinde etkili olduğu görülmüştür.

Tüm bu sonuçlar ışığında, tez çalışması kapsamında hazırlanan pektin bazlı ozonize zeytinyağı içerikli biyobozunur ve antimikrobiyal özellikli yenilebilir filmlerin gıdaların muhafazasında etkin bir ambalaj malzemesi olacağı, bunun yanında çevre dostu olması nedeniyle milli ekonomiye, özgün değeriyle de literatüre önemli bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: yenilebilir film, pektin, atık limon kabuğu, antimikrobiyal, ozonize zeytinyağı

ABSTRACT

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF ANTIMICROBIAL EDIBLE FILM FROM LEMON PEEL

EBRU DOĞANGÜN BAHTİMUR

Master of Science, Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ

June 2018, 63 pages

In this study, it is aimed to prepare a biocompatible, ecofriendly, low cost, edible, antimicrobial, novel food packaging which has an unique value in literature from waste lemon peel for the first time using of with lemon peel and ozonated olive oil. In the study, structural characterization was performed with using of Thermogravimetric Analysis (TGA), Scanning Electron Microscopy (SEM) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) in order to determine the effects of with different experimental conditions (temperature, particle size, duration), component concentrations (pectin, ozonated olive oil, glycerol, CaCl₂) on the structure of edible film which was prepared from pectin.

In the first part of the study, pectin elution was carried out from the waste lemon peels in acidic medium with different temperatures (50 and 85°C), different particle sizes (150, 300 and 500 µm) and different extraction times (60, 90 and 120 minutes). The highest pectin yield was reached at a particle size of 150 µm calculated as 61 % of the esterification degree of pectin, at 85 ° C temperature and 90 minutes of extractions.

In the second part of the study, the effects of these parameters on the visual, mechanical, structural and antimicrobial properties of the films were investigated by studying the determination of the most suitable glycerol, ozonized olive oil and CaCl₂ concentration for edible films prepared with pectin from waste lemon peels. In the mechanical test analyzes, it was found that the strength values of the edible

films at break were in the range of 0,14-4,73 MPa and the elongation values were in the range of 37-90 %, and it was seen that they could be used as a new packaging film in the range according to the standards.

The determination of antimicrobial susceptibility of ozonated olive oil used in the study and prepared edible films disk diffusion method was used and as a result it was seen that ozonated olive oil had an antimicrobial activity on *E. coli* and *S. aureus* strains but the prepared edible films had an antimicrobial effect only on *E. coli* strain.

In the light of these findings, it can be stated that biodegradable and antimicrobial edible films containing pectin based ozonized olive oil prepared in the scope of thesis study will be an effective packaging material in the preservation of food. Besides, it will contribute to the national economy and the literature with its original value due to its environmental friendliness.

Key words: edible films, pectin, waste lemon peel, antimicrobial, ozonated olive oil

TEŞEKKÜR

Aramızdan vakitsiz ayrılmış olmasına rağmen akademik hayatında yürüttüğü çalışmalarla bize hala ilham kaynağı olan, kişiliğini ve aile yaşantısını örnek aldığım her zaman saygıyla ve özlemle andığım, değerli akademisyen, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Abdurrahman TANYOLAÇ' a,

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine danıştığım her konuda büyük bir özveri ve sabırla bana faydalı olmayan çalışan, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen, hoşgörüsüne hayran olduğum, hayata karşı olan güçlü tavrını ve anneliğini her zaman örnek aldığım sevgili hocam Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ' a,

Ozonize zetinyağının hazırlanması aşamasında emeği geçen Doç. Dr. İ. Cengiz KOÇUM' a ve Dr. Fergül Muhteşem PULLU' ya,

Proje kapsamında sağladıkları mali destekten dolayı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne,

Çalışmanın ortaya çıkmasına olanak sağlayan Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü' ne,

Çalışmadaki yardımlarından ötürü Murat DEMİRBİLEK'e ve Gözde KOŞARSOY AĞÇELİ' ye,

Tez çalışmam esnasında yardımlarını benden hiç esirgemeyen, her konuda bana yol gösteren, pozitif tavrıyla beni motive eden, tertemiz kalbi ile içimi ısıtan sevgili hocam Dr. Yasemin GÜNAYDIN'a

Desteklerini ve sevgilerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili iş arkadaşlarım Meltem'e ve Merve' ye,

Hayatım boyunca her konuda desteklerini hissettiğim, verdiğim tüm kararlarda arkamda duran, şu an bulunduğum noktaya gelmem için maddi manevi ellerinden gelen her şeyi yapan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim canım Annem' e, canım Babam' a ve biricik Kardeşim' e,

Bu süreçte en az benim kadar yorulan, bu hayattaki en büyük destekçim, kalbimin diğer yarısı olan canım Eşim' e ve doğumuyla hayatımın anlamını keşfettiğim canımdan çok sevdiğim biricik Oğlum'a Çınarım'a,

En içten sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
SUMMARY	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELER.....	ix
ŞEKİLLER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ambalajlama	4
2.2. Yenilebilir Film ve Kaplamalar.....	4
2.2.1. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Tarihçesi.....	4
2.2.2. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Özellikleri.....	5
2.2.3. Yenilebilir Filmlerin Avantaj ve Dezavantajları.....	5
2.2.4. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Sınıflandırılması	6
2.2.4.1. Yenilebilir Polisakkarit Filmler	6
2.2.4.2. Yenilebilir Protein Filmler	7
2.2.4.3. Yenilebilir Lipid Filmler	7
2.2.4.4. Yenilebilir Karma Filmler	8
2.2.5. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Uygulama Yöntemleri.....	8
2.2.5.1. Dökme Yöntemi	8
2.2.5.2. Püskürtme Yöntemi	9
2.2.5.3. Damlatma Yöntemi	10
2.2.5.4. Daldırma Yöntemi	10
2.2.5.5. Boyama Yöntemi	10
2.2.5.6. Köpükleme Yöntemi.....	10
2.2.6. Yenilebilir Filmlerin Özelliklerini Etkileyen Faktörler	11
2.2.6.1. Plastikleştirici Etkisi.....	11
2.2.6.2. Polimerin Kimyasal Yapısı	11
2.2.6.3. Katkı Maddelerin Etkisi	11
2.2.6.4. Bağlı Nemin Etkisi.....	12
2.2.6.5. Çapraz Bağlayıcı Ajan Etkisi.....	12

2.3. Antimikrobiyal Ambalajlama.....	13
2.3.1. Antimikrobiyal Ambalajlama Sistemleri.....	14
2.3.1.1 Uçucu Antimikrobiyal İçeren Kesecik ya da Pedlerin Ambalaja Eklenmesi.....	14
2.3.1.2. Antimikrobiyal Maddelerin Polimer Yüzeyine Kaplanması ya da Absorbe Edilmesi	14
2.3.1.3. Antimikrobiyal Maddelerin Polimere İmmobilizasyonu.....	14
2.3.1.4. Antimikrobiyal Özellikleri Olan Polimerlerin Kullanımı.....	15
2.3.2. Antimikrobiyal Yenilebilir Film ve Kaplamalar.....	15
2.3.2.1. Antimikrobiyal Yenilebilir Filmlerin ve Kaplamaların Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları	17
2.4. Pektin.....	17
2.4.1. Pektinin Gıdalarda Kullanımı.....	19
2.5. Ozon	19
2.5.1. Gıda Endüstrisinde Ozon Kullanımı	19
2.5.2. Antimikrobiyal Ajan Olarak Ozon Kullanım Avantaj ve Dezavantajları.....	20
2.5.3. Ozonun Antimikrobiyal Etkisi.....	21
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
3.1. Atık Limon Kabuklarından Pektin Eldesi	24
3.2. Atık Limon Kabuklarından Elde Edilen Pektininin Karakterizasyonu: Esterleşme Derecesinin Tayini	27
3.3. Ozonize Zeytinyağının Eldesi ve Özellikleri	27
3.4. Atık Limon Kabuklarından Yenilebilir Film Hazırlanması.....	28
3.5. Atık Limon Kabuklarından Hazırlanan Filmlerin Karakterizasyonu	30
3.5.1. Yenilebilir Filmlerin Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi	30
3.5.2. Yenilebilir Filmlerin Termal Gravimetrik Analizi (TGA) ve Differansiyel Termal Gravimetrik Analizi (DTG)	31
3.5.3. Yenilebilir Filmlerin Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizi.....	31
3.6. Yenilebilir Filmlerin Yüzey Analizlerinin Yapılması.....	31
3.7. Yenilebilir Filmlerin ve Ozonize Zeytinyağının Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi	31
4. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA	33

4.1. Atık Limon Kabuklarından Elde Edilen Pektinin Karakterizasyonu	33
4.2. Atık Limon Kabuğundan Hazırlanan Yenilebilir Filmlerin Görsel ve Mekanik Özellikleri	36
4.3. Yenilebilir Filmlerin TGA ve DTG Termogramlarının Yorumlanması.....	41
4.3. Yenilebilir Filmlerin FTIR Spektrumlarının Yorumlanması.....	43
4.5. Taramalı Elektron Mikroskopisi Analizi (SEM)	44
4.6. Yenilebilir Filmlerin ve Ozonize Zeytinyağının Antimikrobiyal Duyarlılık Test Sonuçları.....	45
5. SONUÇLAR	50
6. ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR.....	54
EKLER	61
ÖZGEÇMİŞ	63

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Gram negatif bakterilerin sulu ortamda ozonla inaktivasyonu[50]	22
Çizelge 2.2. Gram pozitif bakterilerin sulu ortamda ozonla inaktivasyonu[50]	23
Çizelge 4.1. Ekstraksiyon sıcaklığının pektinin esterleşme derecesine etkisi	33
Çizelge 4.2. Parçacık boyutunun pektinin esterleşme derecesine etkisi	34
Çizelge 4.3. Ekstraksiyon süresinin pektinin esterleşme derecesine etkisi	34
Çizelge 4.4. Gliserol konsantrasyonunun hazırlanan filmin mekanik özelliklerine etkisi	37
Çizelge 4.5. Ozonize zeytinyağının hazırlanan filmin mekanik özelliklerine etkisi	39
Çizelge 4.6. CaCl_2 konsantrasyonunun hazırlanan filmin mekanik özelliklerine etkisi	41
Çizelge 4.7. Ozonize zeytinyağının farklı mikroorganizmalar üzerine etkileri sonucu ölçülen inhibisyon zonları	46
Çizelge 4.8. Yenilebilir filmlerin farklı mikroorganizmalar üzerine etkileri sonucu ölçülen inhibisyon zonları	47

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Yenilebilir filmlerin ile kaplı gıdanın dış ortmala etkileşimi [3]	5
Şekil 2.2. Yenilebilir filmlere uygulanan farklı püskürtme yöntemleri [17]	10
Şekil 2.3. Yenilebilir film ve kaplama sistemlerinde antimikrobiyal maddelerin gıdaya difüzyonu [38]	16
Şekil 3.1. Atık limon kabuklarının asit ile ekstraksiyonu	24
Şekil 3.2. Atık limon kabuklarından pektin elde etme aşamalarından sırasıyla a) ekstraksiyon sonrası süzme b) etil alkol ile çöktürme c) etil alkol ile yıkama sonrası elde edilen pektin.....	25
Şekil 3.3. Atık limon kabuklarından pektin eldesine yönelik akış şeması	26
Şekil 3.4. Ozon gazı üretimi için tasarlanan deney düzeneği [5]	27
Şekil 3.5. Yenilebilir film hazırlama işlemi ve dökümü	28
Şekil 3.6. Atık limon kabuklarından yenilebilir film hazırlanmasına yönelik akış şeması.....	29
Şekil 3.7. a) ISO 37 Type 3 normuna uygun yenilebilir film numunesi b) yenilebilir filmlerin çekme testi analiz görüntüsü.....	30
Şekil 4.1 Atık limon kabuklarından elde edilen pektinin ve ticari pektinin FTIR spektrumu	35
Şekil 4.2. a) Ağırlıkça % 0,5 pektin içeren filmin görüntüsü b) ağırlıkça % 2 pektin içeren filmin görüntüsü.....	36
Şekil 4.3. Atık limon kabuklarından hazırlanan elastik yenilebilir film	37
Şekil 4.4. E1 kodlu filmin gerilim uzama eğrisi	38
Şekil 4.5. Pektin molekülünün yumurta kutusu modeli [59]	40
Şekil 4.6. Atık limon kabuklarından hazırlanan yenilebilir E8 kodlu filme ait TGA ve DTG termogramları.....	42
Şekil 4.7. Hazırlanan E8, E9, E10 kodlu yenilebilir filmlerinin FTIR spektrumu	43
Şekil 4.8. Hazırlanan yenilebilir filmlerin yüzey ve kesit yüzeylerine ait SEM görüntüleri	44
Şekil 4.9. Ozonize zeytinyağı ve saf zeytinyağı (kontrol) emdirilmiş disklerin a,b) <i>E.coli</i> c,d) <i>S.aureus</i> mikroorganizmalarına etkisi sonucu gözlenen inhibisyon zonları	46
Şekil 4.10. Hazırlanan yenilebilir film örneklerinin <i>E.coli</i> a,c) ve <i>S.aureus</i> b) mikroorganizmaları üzerine etkileri sonucu gözlenen inhibisyon zonları.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

g	Gram
lt	Litre
T	Sıcaklık
v/v	hacim/hacim
w/v	ağırlık/hacim
w/w	ağırlık/ağırlık
dak.	Dakika
D	Çap
mEq/kg	Milliequivalent /kilogram

Kısaltmalar

<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
FTIR	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
TGA	Termal Gravimetrik Analiz
DTG	Diferansiyel Termal Gravimetrik Analiz
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopisi
CFU	Koloni sayısı

1. GİRİŞ

Gıdaların üretiminden, tüketiciye ulaşana kadar geçen süre zarfında tazeliğini, kalitesini ve bütünlüğünü koruyan muhafaza işlemine ambalajlama denir. Ürünün özelliklerine uygun ambalaj materyalinin seçilmesi ve tasarlanması son derece önemlidir. Geleneksel ambalajlamanın amacı; gıdayı dışardan gelebilecek fiziksel hasarlardan, istenmeyen oksidasyon reaksiyonlarından, biyolojik bozunmadan ve nem kaybından korumaktır. Ancak değişen yaşam koşullarıyla birlikte ambalajlamanın bu işlevleri gıdaların muhafazasında yetersiz kalmaktadır. Nüfus artışına karşılık gıda üretebilecek kaynakların ve üretim alanlarının sınırlı olması ve hazır gıda sektörünün hızla gelişmesi daha pratik ve daha modern ambalaj malzemelerinin kullanımına olan ihtiyacı arttırmıştır [1,2].

Endüstride kullanılan ambalaj malzemelerinin birçoğu yüksek miktarda atık ihtiva eden hem işletmeye hem de ekolojik dengeye zarar veren petrol türevli ve pratikte sindirilemeyen materyallerden hazırlanmaktadır. Bütün bu nedenlerden ötürü, günümüzde kalitesinden ödün vermeden gıdaların raf ömürlerini iyileştirebilecek, dış etkilerden koruyabilecek ve gıdalarla birlikte tüketilebilecek çevre dostu ve düşük maliyetli materyal arayışına girilmiştir. Biyolojik olarak parçalanabilir ve yenilebilir filmler bu arayışın bir sonucudur [2,3].

Gıdaların ambalajında kullanılan yenilebilir film ve kaplamaların etkinliğini, sahip oldukları mekanik, fiziksel ve duyuşal özellikleri belirlemektedir. Filmin ve kaplamanın yüzde uzaması, kalınlığı ve çekme mukavemeti mekanik özelliklerini oluştururken, filmin su buharı, oksijen ve karbondioksit geçirgenliği de fiziksel özelliklerini oluşturmaktadır.

Günümüzde tüketiciye, kalitesini koruyan, kolay bozulmayan ve raf ömrü uzun gıdalar sunabilmek, dolayısıyla gıdalardaki mikroorganizma üremesini kontrol altına alabilmek için antimikrobiyal ambalajlama sisteminin geliştirilmesine yönelik çalışmalara da ağırlık verilmekte ve bu amaçla sisteme propiyonik asit, sorbik asit, benzoik asit, sodyum benzoat, potasyum sorbat, propiyonat gibi kimyasal kaynaklı, organik asit, yağ asitleri, pigmentler, flavonlar ve baharat yağları gibi doğal kaynaklı antimikrobiyal ajanlar ilave edilmektedir. Gıda sanayinde güçlü antimikrobiyal ajan olarak kullanılan ozon, yüksek penetrasyon ve reaktivasyon gücüne sahiptir. Yarılanma ömrü ve temas süresinin kısa olması, kanserojen ve

mutajen olmaması, çevreye hiçbir zararı olmaması ve düşük konsantrasyonlar da bile etkili olması ozonun gıda endüstrisinde antimikrobiyal ajan olarak kullanılmasındaki en büyük etkenlerdir.

Yenilebilir film ve kaplama uygulamalarında hammadde kaynağı olarak polisakkarit, protein ve yağlar kullanılmaktadır. Asidik heteropolisakkaritlerden olan pektin, bitkilerin hücre aralarında, hücre zarlarında ve orta lamel bölgelerinde bulunmaktadır. İçeriğindeki metil esterden dolayı uygun koşullar altında şeker ve asitle birlikte farklı nötralizasyon derecelerine sahip suda eriyebilen jelimsi bir madde oluşturmaktadır. Metonal ile kısmen esterleşmiş olan ve pektinin temel bileşeni olan galakturonik asit birimleri α (1-4) glikozid bağlarıyla birbirine bağlanmıştır. Pektinler; esterleşme derecelerine göre yüksek metoksilli ve düşük metoksilli olmak üzere ikiye ayrılırlar. Narenciye kabukları, elma posası, ayva ve şeker pancarı küspesinden elde edilen pektin yüksek metoksilli iken ayçiçeği tablalarından elde edilen pektin düşük metoksillidir.

Her mevsim tüketilebilen turunçgillerden olan limon Türkiye’de her yıl ortalama 750.550 ton olarak üretilmektedir (TUİK, 2015). Ortalama ağırlığı 100-120g olan bir limondan 50-60 g kabuk çıktığı ve kabuktaki pektin oranının da ağırlıkça % 25-35 arasında değiştiği bilindiğine göre geri dönüşümün çevreye ve ekonomiye getirisinin önemi açıkça görülmektedir [4].

Sunulan tez çalışmasında çalışmaya özgün değerini veren ve literatürde ilk kez atık limon kabukları ve ozonize zeytinyağından, gıdaları sadece toz ve nem gibi etkenlere karşı koruyan değil aynı zaman da mikrobiyal bozulmasını da engelleyen çevre dostu, ekonomik ve antimikrobiyal özellikli yeni bir yenilebilir film hazırlanarak hem milli ekonomiye katkı sağlamak hem de çevresel bir soruna çözüm bulunarak atık yönetiminin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Literatürde ozonize zeytin yağının antimikrobiyal ajan olarak kullanıldığı tek bir uygulamaya [5,6] yer verilmekle birlikte gerek literatür gerekse mevcut piyasada yapılan incelemelerde atık limon kabuklarından hazırlanmış yenilebilir film örneklerine rastlanılmamıştır.

Bu amaçlar doğrultusunda tez kapsamında ilk olarak atık limon kabuklarından uygun koşullarda pektin elde edilerek karakterizasyonu gerçekleştirilmiş daha sonra ise elde edilen pektinden antimikrobiyal özellikli yenilebilir filmler hazırlanıp karakterizasyonu için ön çalışmalar yapılarak en uygun plastikleştirici ve antimikrobiyal ajan konsantrasyonları belirlenmiştir. Son olarak da sentezlenen

ozonize zeytinyağı ve hazırlanan yenilebilir filmlerinin *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri “Disk Difüzyon” yöntemi kullanılarak incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ambalajlama

Ambalajlama, içine konulan ürünü dağıtım zincirindeki dış etkenlerden koruyarak, bütünlüğünü koruyan bir uygulamadır. Gıda sanayinde ambalaj ise içine konulan ürünlerin, tüketiciye, bozulmadan en az maliyetle güvenilir bir şekilde ulaştırılmasını ve tanıtılmasını sağlayan bir araç olarak tanımlanabilir. Gıdaların ambalajlanmasında cam, plastik, metal ve kâğıt gibi materyaller kullanılmakla birlikte bu materyallerin çoğu yüksek miktarda atık ihtiva etmekte ve ekolojik dengeye zarar vermektedir. Bütün bu nedenlerden ötürü gıda kalitesinden ödün vermeden, gıdaların raf ömrünü iyileştirebilecek, çevre dostu ve düşük maliyetli materyal arayışına ağırlık verilmektedir ki yenilebilir filmler bu arayışın bir sonucudur [7,8].

2.2. Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Doğal yollardan elde edilen, gıdalarla birlikte tüketilebilen, gıdaları dış etkenlerden korumak için gıda yüzeylerine ve katmanlarına uygulandığında gaz, nem ve katı hareketliliğinin kontrolünü sağlayabilen ince ambalaj materyallerine yenilebilir film veya kaplama denir [9].

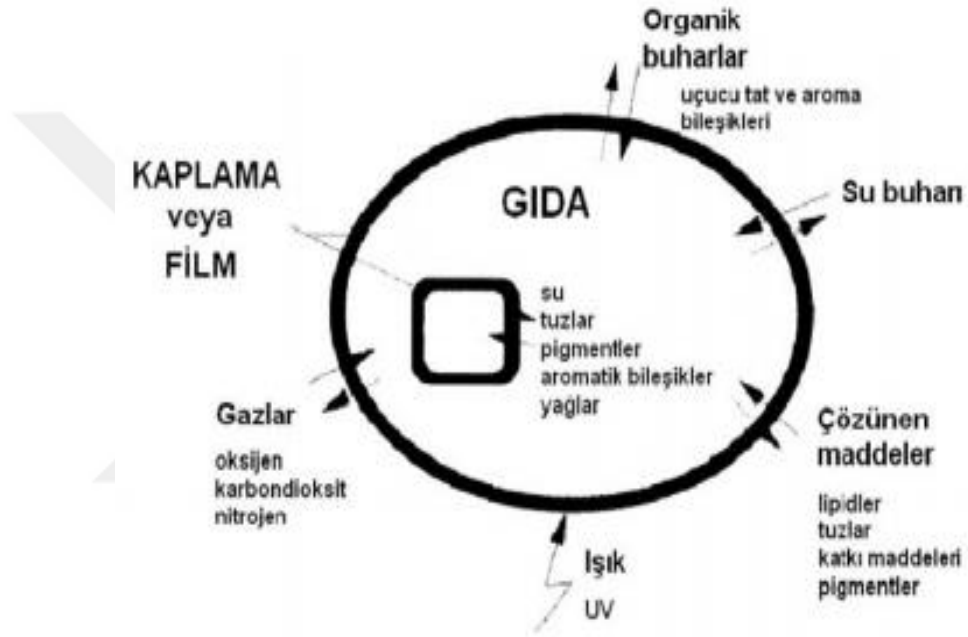
2.2.1. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Tarihçesi

Yenilebilir film ve kaplamalar tarihçesi yıllar öncesine dayanmaktadır. Vakslar, Çin'de meyvelerin ekşimesini önlemek için uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Asya' da 15. Yüzyıldan beri gıdaların muhafazasında Yuba adı verilen soya sütünden elde edilen protein bazlı filmler kullanılmaktadır. 19. Yüzyılda sukroz ilk defa kuruyemiş bozulmasını önlemek için kullanılmıştır. 1930'dan beri portakalların muhafazasında parafin mumundan yapılmış filmler dünya genelinde kullanılmaya başlanmıştır [10]. Yenilebilir filmler ise ilk olarak 1941 yılında yaz aylarında çikolata satışını arttırmak amacıyla kullanılmıştır. Yenilebilir filmler raf ömrü süresince ve ürünü elde tutma sırasında eriyen çikolata damlalarına dokunmadan tutmak için tasarlanmıştır. Kaplanmış şekerler yenilebilen film ve kaplamalar için en iyi örnektir. Ayrıca yenilebilir film ve kaplama uygulanmaları, et karışımını ısıtma işlemine kadar belirli bir formda tutmak için sosis üretiminde hayvan bağırsağından ve sonraki yıllarda kollajenden yapılan kaplamalara alternatif olarak üretilmiştir [11].

2.2.2. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Özellikleri

Gıdaların raf ömrünü uzatmaları, gıdaları dış etkilere korumaları, gıdalarla birlikte tüketilebilen sağlıklı materyaller olmaları ve çevreye zarar vermeden doğada yok olmaları yenilebilir film ve kaplamaların en önemli özelliklerini oluşturmaktadır [3].

Yenilebilir film ve kaplamalar özellikle taze ve dondurulmuş gıdalarda su kaybını azaltan verimli bir nem bariyeri olarak kullanılmakta ve gıdadaki gaz transferini kontrol altına alarak oksidasyonu engellemektedir.



Şekil 2.1. Yenilebilir film ile gıdanın dış ortamla etkileşimi [3]

2.2.3. Yenilebilir Filmlerin Avantaj ve Dezavantajları

Diğer ambalaj filmlerine göre yenilebilir filmler; biyolojik olarak parçalanabilir olmaları, gıdaların lezzet, tat ve koku gibi özelliklerini iyileştirmeleri, gıdaların nem kaybını azaltarak tazeliklerini korumalarına yardımcı olmaları, çevre dostu olup doğada kolayca yok olmaları, gıdaların bozulmasını kolaylaştıran oksijene karşı iyi bir bariyer olmaları, yenilebilir antimikrobiyal maddeler için taşıyıcı görevi görmeleri gibi birçok önemli avantaja sahiptir [12].

Bu avantajları örneklendirirsek;

- Yemeklik mantarlarda enzimatik esterleşmeyi azaltmaktadır [13].
- Kavrulmuş fıstıkların üzerine uygulanan zein kaplamalar oksijene karşı iyi bir bariyer özelliği sergileyerek raf ömrünü %50 uzatmaktadır.

- Domateslerin üzerine uygulanan zein kaplamalar ise hem domatesin nem kaybını azaltarak parlaklık gözükmelerini sağlamakta hem de renk değişimini de geciktirmektedir.
- Zein kaplamalar peynirlerin üzerine uygulandığında üzerindeki sorbik asiti koruyarak koruyucunu koruyarak dayanımını arttırmaktadır [12].

Yenilebilir filmlerin dezavantajları ise; uygulama maliyetlerinin yüksek olması, uygulanacak materyal sayısının az olması, henüz yeni bir uygulama olduğu için tüketici tarafından bilinmiyor olması, gıda ile birlikte tüketilebilmelerinden dolayı gıdaların muhafazasında çoğu kez başka bir ambalaj materyaline gerek duyulması şeklinde özetlenebilir [14].

2.2.4. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Sınıflandırılması

2.2.4.1. Yenilebilir Polisakkarit Filmler

Kitosan, agar, pektin, aljinat, nişasta, nişasta hidrolizatları, karragenen, selüloz türevleri ile dekstran polisakkarit bazlı filmlerin hammaddesini oluşturmaktadır. Gaz geçirgenliği düşük bir hidrokolloid olan kitosan, bazı bakteri ve mantarların hücre duvarları ile istakoz, karides, yengeç, gibi eklem bacaklıların kabuklarında bulunan kitinin (β -(1-4)-poli-N-asetil-Dglukozamin) deasetilasyonu ile elde edilen bir polimerdir. Kitosan biyoparçalanabilir ve biyogeçimli olmasının yanısıra alerjik ve toksik bir yapıya da sahip değildir. Fungistatik, bakteriyostatik, hemostatik, film oluşturucu, antikanserojen, spermidal, antikolesteremik, antiülser, immün sistem stimulan kemik ve yara iyileşmesini hızlandırıcı özellikleri olan kitosan, gıda endüstrisinde sebze ve meyvelerin muhafazasında ve depolanma süresinin arttırılmasında kullanılmaktadır. Kitosandan yapılan filmler sert, dayanıklı ve esnek oluşlarının yanısıra kolayca yırtılmazlar. Bu avantajları sayesinde kitosandan yapılan filmler petrol türevli filmlerle ticari olarak yarışabilir özelliktedir [15].

Pektin bitkisel kökenli bir polisakkarittir. Pektinin yapısındaki metil ester içeriği pektinin jelleşme özelliğini ve esterleşme derecesini belirlemektedir. Pektin bazlı filmler iyi bir nem bariyer özelliğine sahip olduğundan düşük nemli gıdaların muhafazasında ve raf ömrünün arttırılmasında ambalaj filmi olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar pektin bazlı filmlerin etteki büzülmeyi ve bakteriyel gelişmeyi azalttığını göstermiştir [15].

Kahverengi deniz yosunlarından izole edilen aljinatlar, endüstride en çok uygulaması olan polisakkarit filmlerdir ve üzerine uygulandığında ürünün nem kaybını azaltmaktadır.

Etlerin kaplanması tercih edilen bir diğer film agar bazlı polisakkarit filmlerdir. Agar kaplamalar antibiyotikler ile birleştirilirse bifteklerin ve tavuk ürünlerinin raf ömrünü uzatabilmektedir. Agar filmlerin en büyük dezavantajı nem kaybını azaltmamalarıdır.

Agar filmlerin aksine kırmızı deniz yosunundan elde edilen karragenandan yapılan filmler, karragenanın sahip olduğu geniş yüzey alanı ve polimerik yapısından dolayı ürünün nem kaybını azaltmaktadır.

Selülozdan yapılan kaplamalar ürünlerdeki oksijen transferini kontrol altında tutmakta ve aynı zamanda üzerine uygulandığı ürünlerdeki su kaybını azaltmaktadır [12].

2.2.4.2. Yenilebilir Protein Filmler

Yenilebilir film ve kaplamalar arasında hidrofilik yapısından ve nem absorpsiyonuna karşı duyarlılığından dolayı en az geliştirilen protein bazlı filmlerdir. Bu dezavantajlarına karşın diğer filmlere ve kaplamalara göre daha iyi mekanik ve bariyer özellik gösterirler. Protein bazlı film üretiminde; soya proteini, buğday gluteni, mısır zeini, çığit proteini ve yer fıstığı proteini gibi bitkisel kökenli proteinler kullanıldığı gibi kazein, keratin, kollajel ve peynir altı proteini gibi hayvansal kökenli proteinler de kullanılmaktadır. Proteinlerden elde edilen filmler iyi nem bariyerine sahip olmadıkları için özellikle kaplandıkları meyve ve sebzelerin çabuk bozulmasına neden olmaktadır. Bu olumsuz özelliklerinden dolayı gıdalara yüksek nem bariyeri sağlamaları için proteinlerin lipitlerle birlikte kullanılmaları önerilmektedir. Protein bazlı filmlerin olumlu bir özelliği de uygulandıkları ürünlerin besin değerini arttırmalarıdır [12,15].

2.2.4.3. Yenilebilir Lipid Filmler

Yenilebilir lipid filmlerin üretiminde doğal mumlar, asetillenmiş monogliseritler, koruyucu kaplama olarak kullanılan yağlar ve çeşitli yağlı bileşikler kullanılmaktadır. Yenilebilir film üretiminde yararlanılan bu malzemeler hidrofobiktir. Bu özelliklerinden dolayı uygulandıkları üründe hem nem kaybına engel olmakta hem de görünüşü iyileştirmektedirler. Yenilebilir lipid filmler daha çok kırmızı ve beyaz etlerin muhafazasında kullanılmaktadır. Yağlar, kullanıldıkları ürünlerdeki oksijen transferini kontrol altında tutarak raf ömrünün uzamasını da sağlamaktadırlar. Ancak lipid bazlı filmler diğer yenilebilir filmlerle kıyaslandığında zayıf mekanik özellik gösterirler. Filmin üretiminde çözücüye veya yüksek sıcaklıklara ihtiyaç duyulması bir diğer dezavantajdır. Lipitden yapılan filmler kendi

arasında kıyaslandığında sıvı haldeki lipid filmler katı haldekilere göre gaz ve buhar geçişine karşı daha az direnç göstermektedir.

Lipidler neme karşı hassas olan gıdalarda yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerle birlikte kullanılmaktadır. Lipid filmler ürünle dış ortam arasındaki nem alışverişini kontrol ederek taze sebze ve meyvelerde rahatlıkla kullanılmakta, taze sebze ve meyvelerin yüzeyine uygulandığında ise O₂ akışını sınırlandırıp kurumayı geciktirmektedirler. Bu kaplamalar aerobik solunumu baskılamakta ve bu baskı uygun dereceye geldiğinde son ürünün depolanma ömrü uzamaktadır [15].

2.2.4.4. Yenilebilir Karma Filmler

Bu filmler; su buharına karşı bariyer özelliklerine sahip ve suda çözünen bir yenilebilir film elde etmek için geliştirilmiştir. Bir başka deyişle bu filmlerdeki amaç iyi nem bariyer özelliklerine sahip ve oksijen transferini kontrol altında tutabilen heterojen filmler oluşturabilmektir. Örneğin, polisakkarit kökenli kaplamalar üründe daha fazla nem kaybına neden olurken, düşük oksijen geçirgenliğine sahip olan lipidleri içeren kaplamalar oksijensiz solunuma neden olmaktadır. Bu iki ambalaj malzemesindeki dezavantajları tolere etmek için kitosan ve laurik asitten yeni ambalaj filmi hazırlanmıştır. Kitosan ve laurik asitten hazırlanan bu karma filmin, nem kaybının daha düşük, oksijen geçirgenliğinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Laurik asit yerine oktanoik asit, palmitik asit, bütirik asit veya asetilli monogliserit, metil laurat, propilen glikol stearat kullanıldığında su buharı geçiş oranı arttığı gözlemlenmiştir. Sadece laurik asit içeren filmlerin nem kaybına karşı etkili bir bariyer özelliği göstermiştir [12,16].

2.2.5. Yenilebilir Film ve Kaplamaların Uygulama Yöntemleri

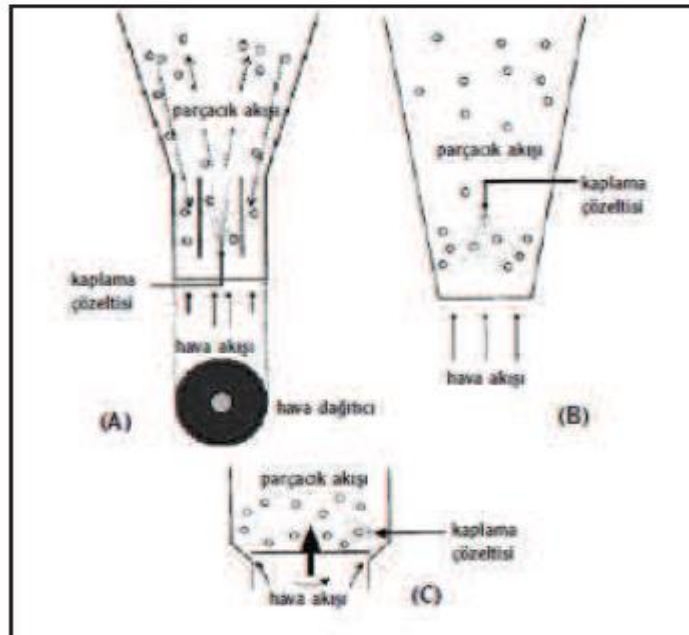
Yenilebilir film ve kaplamaların uygulanmasında dökme, püskürtme, daldırma, damlatma, boyama ve köpükleme olmak üzere altı farklı yöntem kullanılmaktadır.

2.2.5.1. Dökme Yöntemi

Film oluşturacak çözeltinin, düzgün ve pürüzsüz bir yüzey üzerine, istenilen boyutlarda dökülmesi ve kurutulması ile film oluşturma yöntemidir. Bu yöntem endüstride daldırma ve püskürtme yöntemlerine yardımcı olarak kullanılmaktadır. Tek başına kullanılmamasının nedeni hazırlanan filmin çok ince dökülememesidir. Ürün yüzeyinin fazla miktarda ambalaj filmi ile kaplanması filmin gaz geçirgenliğinin azalmasına neden olmakta bu durum da üründe bozulmalara neden olabilmektedir [17].

2.2.5.2. Püskürtme Yöntemi

Püskürtme yöntemi, gıdaların sadece bir yüzeyinin kaplanması ya da kaplanmış gıdalara ikinci bir film tabakası oluşturmak istenilen durumlarda kullanılmaktadır. Püskürtme yöntemi özellikle meyve ve sebze kaplanmasında kullanılmaktadır. Bu yöntem alttan püskürtme, sprej yöntemi ve teğet yöntemi olmak üzere üç farklı şekilde uygulanabilmektedir. Alttan püskürtme yönteminde (Şekil 2.2.A) akışkan formdaki kaplama çözeltisi, hava dağıtıcısı yardımıyla tankın içerisinde havada asılı olan parçacıklara bir enjektör yardımıyla alttan püskürtülmektedir. Kaplanan bu parçacıklar tank kenarlarından aşağıya düşmektedir. Aşağıya düşen kaplanmış parçacıklar başka düzenekler aracılığıyla ortamdaki uzaklaştırılmaktadır. Sprej yönteminde (Şekil 2.2.B) kaplama çözeltisi parçacıklara üstten enjekte edilmektedir. Bu yöntemin en önemli dezavantajı fazla miktarda kaplama çözeltisine ihtiyaç duyulmasıdır. Bundan dolayı ek yöntemlerle ürün üzerine kaplama çözeltisinin tekdüze şekilde dağıtılması sağlanmaktadır. Teğet yönteminde ise (Şekil 2.2.C) alttan püskürtme ve sprej yöntemine göre kaplama çözeltisi ürünün üzerine yandan püskürtülerek uygulanmaktadır. Diğer yöntemlere göre pek tercih edilen bir yöntem değildir. Yandan püskürtme yapıldığı için kaplanmayan parçacıklar tekrar tank içerisine gönderilmekte ve ikinci püskürtmeye ihtiyaç duyulmaktadır. Bu da yöntemin veriminin düşük olmasına neden olmaktadır [17].



Şekil 2.2. Yenilebilir filmlere uygulanan farklı püskürtme yöntemleri [17]

2.2.5.3. Damlatma Yöntemi

Kaplama yöntemleri arasında en çok uygulanan yöntem damlatma yöntemidir. Kaplama maddesi ürünün üzerine üstten damlalar halinde uygulanmaktadır. Damlatma işlemi tamamlandıktan sonra kaplama maddesinin daha homojen dağılması için kaplanan ürün dönen fırça yatakları üzerine gönderilmekte ve fırçaların üzerindeki fanlar vasıtasıyla kurutulmaktadır. Kaplama fırçalarının buradaki rolü filmin kalınlığını kontrol etmesidir. Kaplamaların kalınlığı ürünün depolanma sürecini etkilemektedir. Kaplama kalınlığının olması gerekenden fazla ya da az olması üründe çatlama, kırılma, yapışma gibi problemlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [17].

2.2.5.4. Daldırma Yöntemi

Bu yöntemde ürün, sıvı halde olan kaplama materyaline daldırılmakta ve işlem sonucunda fazla miktardaki kaplama malzemesi üründen uzaklaştırılmaktadır. Ürünün homojen ve pürüzsüz şekilde kaplanması, ürünün kurutulması ve üründeki fazla miktardaki kaplama malzemesinin üründen uzaklaştırılması yöntemin en önemli avantajları iken fazla miktarda kaplama malzemesine ihtiyaç duyulması yöntemin dezavantajını oluşturmaktadır. Daldırma yöntemi et, balık, tavuk, meyve ve sebzelerin kaplanması sıklıkla uygulanan bir yöntem iken büyük hacimli gıdaların kaplanması için uygun değildir [17].

2.2.5.5. Boyama Yöntemi

Ürünün belli bir kısmını homojen ve ince bir tabaka halinde kaplamak istenildiğinde başvurulan yöntemlerden biridir. Boyama yönteminde, akışkan formdaki kaplama malzemesi ürünün üzerine bir fırça yardımıyla sürülmektedir [17].

2.2.5.6. Köpükleme Yöntemi

Köpükleme yönteminde; ürünler, üzerinde hareket eden bir silindir bulunan sisteme yerleştirilmekte, silindir üstten ürünlere köpük fırlatırken sistemde yer alan fırçalar kaplama malzemesinin ürün yüzeyine dağıtılmasını sağlamaktadır. Kaplama malzemesinin fazlası tıpkı daldırma yönteminde olduğu gibi kurutma v.s. gibi işlemlerle üründen uzaklaştırılmakta ve uzaklaştırılan malzeme tekrar kullanılmaktadır. Köpükleme yönteminde kaplama malzemesi az su içerdiğinden ürün hızlı bir şekilde kururken hızlı kurumadan dolayı üründe kaplama problemleri ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden çok fazla tercih edilen bir yöntem değildir [17].

2.2.6. Yenilebilir Filmlerin Özelliklerini Etkileyen Faktörler

Yenilebilir filmler ile kaplamaların etkinliklerini belirleyen en önemli özellikler mekanik fiziksel ve duyuşal özellikleridir. Kullanılacak filmin ve kaplamanın yüzde uzaması, kalınlığı ve çekme mukavemeti mekanik özellikleri oluştururken; su buharı, oksijen ve karbondioksit geçirgenliği fiziksel özelliklerini oluşturmaktadır. Filmin kalınlığı ve görseli ise duyuşal özellikleridir.

2.2.6.1. Plastikleştiricinin Etkisi

Protein ve karbonhidrat bazlı yenilebilir filmlerde protein ve polisakkarit zincirleri arasındaki güçlü bağlar moleküllerin hareketlerini kısıtlamakta ve filmlerin elastikiyetini azaltarak kırılgenliğini arttırmaktadır. Bu durum ambalaj filmleri için istenilen bir özellik değildir. Protein ve karbonhidrat molekülleri arasındaki bu güçlü bağları daha zayıf yapıda olan ve moleküllerin hareketliliğine izin veren hidrojen bağlarına çevirmek kısaca yenilebilir filmlere elastikiyet kazandırmak için gliserol, sorbitol, mannitol, sakkoroz gibi maddeler kullanılmaktadır [18]. Yenilebilir filmlere esneklik özelliğı kazandırmak için kullanılan plastikleştirici maddenin miktarı ve cinsi, filmin mekanik özelliklerini etkilemektedir. Plastikleştirici madde miktarı ve molekül ağırlığı arttıkça filmin bariyer özelliğı ve çekme gerilimi de düşmektedir.

2.2.6.2. Polimerin Kimyasal Yapısı

Yenilebilir filmlerin hazırlanmasında kullanılan polimerin kimyasal yapısı da filmin özelliklerini etkileyen önemli faktörlerden biridir. Protein ve karbonhidrat gibi polar yapıdaki polimerler düşük gaz geçirgenliğinin yanı sıra yüksek su buharı geçirgenliği sahiptirler. Bunun aksine, lipid gibi apolar yapıdaki polimerler su buharı geçişine karşı iyi bir bariyer özelliğı sergilerken gaz geçişine karşı etkili bir bariyer oluşturmazlar. Gazın ve su buharının filmde difüzyonuna geçiş denilmektedir. Geçiş sürecinde gazlar ve su buharı polimerin bir yüzeyinden soğrulurken, diğeryüzeyinden salınmaktadır. Gazın kimyasal yapısı ve şekli de filmdeki geçiş sürecini etkilemektedir. Küçük moleküllerin büyük moleküllere göre geçişi daha hızlıdır. Aynı şekilde polar filmlerde polar moleküllerin geçişi hızlı iken apolar moleküllerin geçişi yavaştır. Apolar filmlerde ise tam tersi bir durum söz konusudur [19,20].

2.2.6.3. Katkı Maddelerinin Etkisi

Yenilebilir filmlerin kırılgenliğini azaltmak ve elastikiyetini arttırmak için eklenen plastikleştirici maddelerin yanı sıra filmlere antimikrobiyal özellik kazandırmak veya filmlerin besin değerini arttırmak için bazı maddeler de eklenmektedir. Eklenen bu

maddelerin molekül ağırlıkları, polar ya da apolar yapıda olmaları ve kimyasal yapıları hazırlanan filmlerin özelliklerini etkileyen önemli parametrelerdir. Hidrofilik karakterdeki filmlere eklenen katkı maddesinin etkisi artan nem oranıyla birlikte artmakta, düşük molekül ağırlıklı katkı maddesi eklendiğinde ise katkı maddesinin kimyasal yapısına bağlı olarak filmin mekanik ve fiziksel özellikleri iyi ya da kötü yönde etkilenmektedir. Filme eklenen maddenin molekül ağırlığı kadar şekli de filmin özelliğini etkilemektedir. Örneğin, peynir altı suyu proteininden yapılmış sorbat ve para-benzoat içeren filmlerin farklı mekaniksel ve fiziksel özelliğe sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Sorbat içeren filmlerin benzoat içerenlere göre daha esnek yapıda olduğu anlaşılmıştır. Bunun nedenini ise düz zincir yapıdaki sorbatın halka yapıdaki benzoata göre protein molekülleri arasında daha kolay difüze olmasıdır [20,21].

2.2.6.4. Bağlı Nemin Etkisi

Yenilebilir filmlerin özelliğini etkileyen parametrelerden biri de bağlı nemdir. Özellikle protein kaynaklı filmlerde bağlı nem arttıkça gaz geçirgenliği de artmaktadır. Bu durum filmlerin hidrofilik yapıda olmasıyla ilgilidir [20]. Örneğin yüksek amir grubundan dolayı buğday glutenin oksijen geçirgenliği bağlı nemle birlikte artmaktadır [22]. Protein bazlı filmlerde yüksek bağlı nemde gaz geçirgenliğinin yanı sıra su buharı geçirgenliği de fazla olmaktadır. Su molekülleri ile amir grupları arasındaki fazla etkileşim filmde protein ağ yapısında modifikasyonlara neden olmaktadır. Bu modifikasyonlar camsı durumdan viskoelastik duruma geçişten kaynaklanmaktadır [23,24]. Yüksek bağlı nemin protein bazlı filmlerdeki bir diğer etkisi ise nemin, protein molekülleri arasındaki hidrojen bağları azaltarak ve moleküllerin hareketliliği arttırmasıdır. Buna bağlı olarak da filmin çekme mukavemeti azalırken, yüzde uzaması artmaktadır [25].

2.2.6.5. Çapraz Bağlayıcı Ajan Etkisi

Yenilebilir filmlerde moleküller arasında yeni kovalent bağlar oluşturarak filmlerin mekanik ve fiziksel özelliklerini iyileştirilen işlem çapraz bağlama işlemi olarak adlandırılmaktadır [26]. Çapraz bağlama işlemi gerçekleştirilen maddeler molekül yapılarına göre homobifonksiyonel, heteribifonksiyonel ve çapraz bağlayıcılar olarak üç grupta incelenmektedir. İki aynı fonksiyonel grup arasında kovalent bağ yapanlara homobifonksiyonel, üç farklı grup arasında bağ oluşturanlara heteribifonksiyonel ve amino asitler arasında kovalent bağ yapanlara çapraz bağlayıcı denilmektedir [27]. Homobifonksiyonel çapraz bağlayıcılara nişasta,

dialdehit, glutraldehit ve glioksal örnek olarak verilebilir [28]. Sodyum dodesil sülfat, tannik asit, sistein, kalsiyum klorit ve asetik asit sıkça kullanılan diğer çapraz bağlayıcı ajanlardır [29]. Yenilebilir filmlerde en çok kullanılan çapraz bağlayıcı ajan ise kalsiyum klorürdür. Divalent katyon olan kalsiyum klorür hazırlanacak filmin yapısındaki negatif yüklü protein molekülleri arasında çapraz bağlama işlemi gerçekleştirilerek filmin mekanik ve fiziksel özelliklerini iyileştirmektedir [30].

Yenilebilir filmlerin mekanik ve fiziksel özelliklerini iyileştirmek için başvurulan yöntemlerden bir diğeri de ısıtma işlemidir. Sentetik polimerlerden yapılan filmlerde ısıtma işlemi çapraz bağlayıcı ajan rolünü üstlenerek filmin mekanik özelliklerini arttırmaktadır. Isıtma işlemi, hazırlanan yenilebilir filmlerde moleküller arasındaki zincirleri birbirine daha fazla yaklaştırarak daha kuvvetli bağların oluşmasını sağlamaktadır. Ayrıca ısıtma işlemi, serbest sülfidril gruplarını, moleküller arası disülfid bağlarına dönüştürerek gaz ve buhar geçirgenliği düşük, çekme kuvveti yüksek filmlerin elde edilmesini sağlamaktadır [20].

2.3. Antimikrobiyal Ambalajlama

Tüketiciye kalitesini koruyan, kolay bozulmayan ve raf ömrü uzun gıdalar sunabilmek, gıdalardaki mikroorganizma üremesinin kontrol altına alınması ile ilgilidir. Bu amaçla antimikrobiyal ambalajlama sistemi geliştirilmiştir [31]. Ambalajlama sisteminde yapıya antimikrobiyal özellik kazandırmak için sisteme antimikrobiyal ajanlar ilave edilmektedir. Bu ajanlar gaz ya da sıvı halde olabilirler [32]. Sıvı halde olan antimikrobiyal ajanlar gaz halde olanlara göre gıdadaki boşluklara daha iyi nüfuz ederek daha etkin bir özellik sergileyebilmektedir [32]. Antimikrobiyal ambalajlamada mikrobiyal gelişme absorpsiyon, sabit kalma ve serbest kalma olarak üç farklı şekilde kontrol altında tutulmaktadır. Bunlardan absorpsiyonda gıdadaki mikrobiyal gelişmeye sebep olan asıl faktörler ortadan kaldırılmaktadır. Sabit kalan (hareketsiz) sistemde antimikrobiyal ajanlar gıdada serbest şekilde hareket edemediğinden temas ettikleri yüzeyde mikroorganizma gelişimini kontrol etmektedirler. Hareketsiz sistem, katı besinlere göre sıvı besinlerde daha çok kullanılmaktadır. Çünkü katı besinlerde ambalaj malzemesi ile gıdanın teması daha fazladır. Serbest sistemde ise antimikrobiyal ajanlar ambalajlama materyalinin bileşimine karıştırılarak tüm sisteme doğrudan dahil olmaktadır [32].

2.3.1. Antimikrobiyal Ambalajlama Sistemleri

Antimikrobiyal ambalajlamada kullanılan antimikrobiyal maddelerin yapı içinde kalmaları çeşitli yöntemlerle sağlanmaktadır. Bu yöntemler;

- Uçucu antimikrobiyal madde içeren kesecik ya da pedlerin ambalaja eklenmesi;
- Uçucu ve uçucu olmayan antimikrobiyal maddelerin doğrudan polimerlere ilave edilmesi,
- Antimikrobiyal maddelerin polimer yüzeyine kaplanması ya da absorbe edilmesi,
- Antimikrobiyal maddelerin iyonik ya da kovalent bağlarla polimerlere immobilizasyonu ve
- Antimikrobiyal özellikleri olan polimerlerin kullanılması şeklinde özetlenebilir [33].

2.3.1.1. Uçucu Antimikrobiyal İçeren Kesecik ya da Pedlerin Ambalaja Eklenmesi

Antimikrobiyal ambalajlama yöntemlerinden en yaygın olarak kullanılanlarından biridir. Sisteme antimikrobiyal özellik; oksijen emici, alkol salıcı ve nem tutucu tablet, kesecik ya da pedlerin ilave edilmesi ile kazandırılmaktadır. Oksijenin tutucular; aerobik bakterilerin ve küflerin, alkol salıcılar; özellikle fırın ürünlerde küf ve mayaların nem tutucular ise yüksek su içeriğine sahip gıdalarda bakteri, küf ve mayaların gelişimini engelleyerek mikrobiyal gelişmeyi kontrol altında tutmaktadır [33].

2.3.1.2. Antimikrobiyal Maddelerin Polimer Yüzeyine Kaplanması ya da Absorbe Edilmesi

Bu yöntemde antimikrobiyal maddeler, ambalaj materyaline absorbe ettirilmekte ya da kaplanabilmektedir. Antimikrobiyal madde olarak nisin/EDTA (Etilendiamin tetraasetikasit)'nin kullanıldığı poliamid, lineer düşük yoğunluklu polietilen ve polivinil klorür bazlı filmler ile antimikrobiyal maddenin nisin/metilselüloz olduğu polietilen kaplamalar bu yöntemde örnek olarak verilebilir [33].

2.3.1.3. Antimikrobiyal Maddelerin Polimerlere Immobilizasyonu

Ambalajlama sistemlerine antimikrobiyal özellik kazandırmak için kullanılan yöntemlerden bir diğeri de antimikrobiyal maddelerin ambalaj materyaline iyonik ya

da kovalent bağlarla immobilizasyonudur. Ancak bu yöntemin uygulanabilmesi hem ambalaj materyalinde hem de antimikrobiyal maddenin yapısında fonksiyonel grupların yer almasını gerektirmektedir. Lizozim, poliaminler, bazı enzimler ve organik asitler yapısında fonksiyonel grup içeren antimikrobiyal maddelere örnek olarak verilebilir. İmmobilizasyon yönteminde fonksiyonel grupların yanı sıra ambalaj materyalinin yüzeyinde biyokatif maddeyi bağlayacak boşlukların da olması gerekmektedir. Bu boşluklar materyalin yapısındaki moleküller tarafından oluşturulmaktadır. Dekstranlar, etilendiamin, polietilenglikol ve polietilenin bu boşlukları oluşturan moleküllere örnek olarak verilebilir. Bu moleküller, antimikrobiyal maddelere hareket özgürlüğü sağlayarak, maddenin aktif kısmının gıda yüzeyinde bulunan mikroorganizmalarla temasını kolaylaştırmaktadır [33].

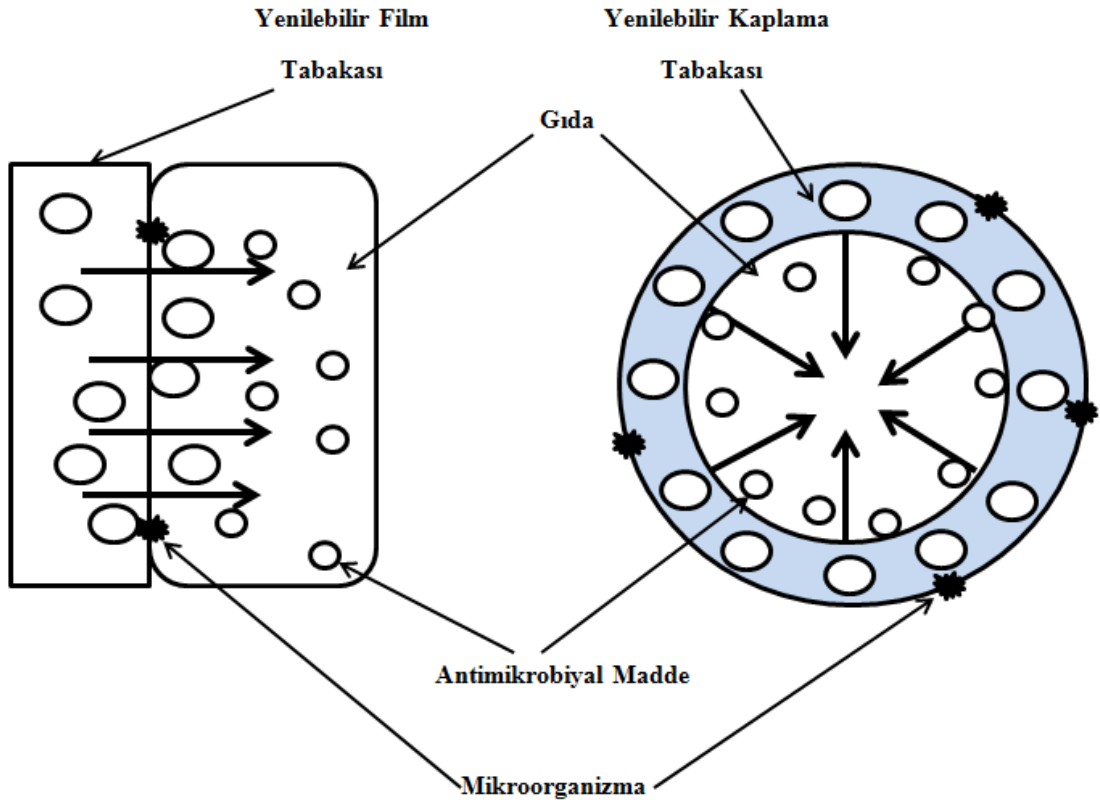
2.3.1.4. Antimikrobiyal Özellikleri Olan Polimerlerin Kullanımı

Antimikrobiyal özellikli polimerlerin yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılması ile filmlere antimikrobiyal özellik kazandırılabilir. Antifungal özellikleri olan “kitosan” bunlardan en yaygın olarak kullanılanıdır [33].

2.3.2. Antimikrobiyal Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Antimikrobiyal ambalajlama yöntemlerinden en çok kullanılanı antimikrobiyal film ve kaplamalardır. Mikrobiyal gelişmeyi kontrol altında tutan antimikrobiyal film ve kaplamalar gıdaların raf ömrünü uzatmaktadır. Antimikrobiyal film ve kaplamalarda anaerobik bir ortam sağlandığı için mikroorganizmaların oksijensiz ortamda üreme hızı düşmekte ve sayıca azalmaları sağlanmaktadır. Mikrobiyal gelişim kaplama yüzeyinde gerçekleşmektedir. Başlangıçta antimikrobiyal madde içermeyen gıda tabakasına, difüzyon hızına göre antimikrobiyal madde yavaş yavaş geçmekte ve zamanla antimikrobiyal madde miktarında azalmakta olmaktadır. Antimikrobiyal maddenin geçiş kinetiği ile film ve kaplamadaki miktarının kontrol edilmesi gerekmektedir [26].

Antimikrobiyal madde içeren yenilebilir film ve kaplama sistemlerinde antimikrobiyal maddenin film tabakasından gıdaya geçişi yavaş bir şekilde gerçekleşir. Böylelikle antimikrobiyal madde gıda yüzeyinde daha yüksek derişimde kalarak mikroorganizmalara karşı daha etkin bir şekilde savaşır. Antimikrobiyal madde yenilebilir film ve kaplamada ne kadar çok kalırsa o kadar çok gıda ile temas halinde olur ki bu da antimikrobiyal aktiviteyi artırır [34,35,36]. Şekil 2.3.'de antimikrobiyal maddelerin yenilebilir film ve kaplama sistemlerinde gıdaya difüzyonu verilmiştir.



Şekil 2.3. Yenilebilir film ve kaplama sistemlerinde antimikrobiyal maddelerin gıdaya geçişi [38]

Antimikrobiyal film ve kaplamaların üretiminde kimyasal ve doğal antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır.

Sorbik asit, propiyonik asit, benzoik asit, tartarik asit gibi zayıf organik asitler, sodyum benzoat, potasyum sorbat, propiyonat gibi organik asit tuzları gıdalarda en yaygın olarak kullanılan kimyasal koruyuculardır. Bunların bir kısmı fermente ürünlerde ve bitkilerde doğal olarak bulunmasına rağmen birçoğu kimyasal olarak sentezlenmektedir. Zayıf organik asitler, pH bağımlı koruyuculardır ve koruyucu etkilerini ayrışmamış formlarında gösterirler. Düşük pH lı ortamlarda ayrışmamış formda bulduklarından maksimum inhibitör etkisi gösterirler. Yenilebilir film ve kaplama sistemlerinde, gıdayla birlikte tüketilmelerinden kaynaklı kimyasal antimikrobiyal maddelerin kullanımlarına birtakım sınırlamalar getirilmiş ve sınırlı miktarda antimikrobiyal madde yenilebilir film ve kaplamalarda kullanılmaya başlanmıştır [37].

Kimyasal antimikrobiyal maddelere karşın doğal antimikrobiyal maddelerin kullanılmasında bir sınırlandırma yoktur ve kritik miktar ve üzerinde

kullanıldıklarında gerekli antimikrobiyal etkiyi sağlarlar. Ancak, yüksek miktarlarda kullanıldığında gıdanın kendi rengini ve tadını kaybetmesine neden olarak tüketici tarafından tercih edilmemesine sebep olmaktadır.

2.3.3. Antimikrobiyal Yenilebilir Film ve Kaplamaların Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları

Gıda endüstrisinde süt ve süt ürünleri, meyve, sebze, et ve et ürünleri çok çabuk bozulan ürünlerdir. Bu gıdaların üretimi aşamasında hijyen koşullarının tam olarak sağlanamaması ortamdaki patojen mikroorganizmaların gıdaya geçişini hızlandırmakta ve gıdaların tüketimi sırasında hastalıkların tüketiciye geçmesine neden olabilmektedir. Gıdalarda bu tarz problemlerin gıdaların raf ömrü sona ermeden ortaya çıkması hem tüketiciyi hem de üreticiyi mağdur etmektedir. Ayrıca bu ürünlerin tüketilemeyip üreticiye gönderilmesi de gıda kaybına yol açmaktadır. Bu tarz gıda kayıplarını önleme yöntemlerinden en etkili olanı antimikrobiyal madde içeren yenilebilir film veya kaplama uygulamalarıdır [38].

2.4. Pektin

Asidik heteropolisakkaritlerden olan pektin bitkilerin hücre aralarında, hücre zarlarında ve orta lamel bölgelerinde bulunmaktadır. Kompleks yapıdadır. İçeriğindeki metil esterden dolayı uygun koşullar altında şeker ve asitle birlikte farklı nötralizasyon derecelerine sahip suda eriyebilen jelimsi bir madde oluştururlar. Bu madde pektinin temel bileşeni D-Galakturonik asittir. Metonal ile kısmen esterleşmiş olan galakturonik asit birimleri α (1-4) glikozid bağlarıyla birbirine bağlanmışlardır. Pektinler, D-galaturonik asit birimlerinden başka L-arabinoz, D-galaktoz ve L-ramnoz gibi şekerleri de içerirler.

Pektin molekülünün temel bileşeni olan galakturonik asit karboksil grupları ya metil gruplarıyla kısmen esterleşmiş halde ya serbest halde ya da kısmen katyonlarla nötralleşmiş bulunabilirler. Karboksil grubu hiç esterleşmemiş poligalakturonik asitlere pektik asit, tuzlarına pektat denir.

Diğer polisakkaritler gibi erime noktası olmayan pektin açık renklidir ve ısı etkisiyle bozunur, kömürleşir. Pektinin en iyi çözücüsü sudur. Ortalama molekül ağırlığı 30000-300000 dalton arasında değişmektedir.

Pektin molekülü uygun koşullar altında şeker ve asitle birlikte jel oluşturmaktadır. Oluşan jelin yapısı ve nötralizasyon derecesi kullanılan pektin kaynağına, karboksil gruplarının içindeki metil gruplarının esterleşme derecesine, pektinin temel bileşeni olan galakturonikasit zincir uzunluğuna ve uygulanan ekstraksiyon yöntemine göre

değişmektedir. Molekül ağırlığı yüksek olan pektin moleküllerinin düşük olanlara göre jel yapabilme özelliği daha fazladır. Düşük molekül ağırlıklı pektin molekülleri fazla miktarda asetil grubuna sahip oldukları için jel oluştururken asetil grupları tarafından steril engelleme ile karşılaşmaktadır. Bu nedenle ekstraksiyon işlemi kuvvetli asidik ortamında yapılmaktadır. Düşük metoksilli pektinler; geniş pH aralığında düşük şeker konsantrasyonlarında ya da Ca^{+2} , Mg^{+2} gibi çok değerli katyonların olduğu şekersiz ortamlarda jel oluştururlar. Düşük metoksilli pektinlerin oluşturdukları jelin fiziksel özellikleri ortamda %10-20 oranında şeker bulunması ile iyileştirilebilir.

Düşük metoksilli pektinlerin karşı yüksek metoksilli pektinlerin jel oluşturabilmesi için ortamda % 50'den daha fazla şeker ve asidin bulunması gereklidir. Ayrıca pH değerinin de 3,6' dan daha küçük olmalıdır. Jel oluşumunda şeker dehidratasyon etkisi yaparken pozitif yüklü hidrojen iyonlarına sahip asit ise jel pektin molekülünün negatif yükünü azaltır. Asit ve şekerin yarattığı bu çift etki, kolloidal olarak çözülmüş pektinin çökmesini sağlayarak üç boyutlu bir yapı oluşturur. Şeker ve pektinden oluşan bu üç boyutlu yapı hidrojen bağları yardımıyla bir bütün halinde görünür. Yüksek metoksilli pektinlerin jel oluşturma yöntemi ve mekanizması tamamen farklıdır. Jel oluşumu için dehidrasayona uğramış ve kolloidal şekilde disperse olmuş pektin aglomeratlarının elektriksel olarak nötralize olması gereklidir. Bu pektin molekül agregatları sulu çözeltilerde negatif bir yük taşır. Negatif yük ortamında elektriksel nötralizasyon için pH 3.5'un altında olmalıdır ve bu da pozitif iyonlu asit ilavesi ile mümkündür.

Pektinler; yüksek metoksilli ve düşük metoksilli olmak üzere ikiye ayrılırlar. Bu ayırım pektin molekülünün karboksil gruplarının esterleşme derecesine göre yapılmaktadır. Toplam galakturonik asit birimlerinde esterleşmiş karboksil gruplarının toplam karboksil gruplarına oranı esterleşme derecesi olarak ifade edilir. Tüm karboksil grupları esterleşmiş pektin molekülünün metoksil miktarı % 16,32 esterleşme derecesi % 100'dür. Metoksil miktarı % 3-7 arasındaki pektin düşük metoksilli, % 7-16,32 arasındaki pektin yüksek metoksilli olarak adlandırılır. Yüksek metoksilli pektinin (elma posası, narenciye kabukları ve şeker pancarı küspesinden elde edilen pektin) esterleşme derecesi % 50'den daha fazla, düşük metoksilli pektinin (ayçiçeği tablalarından elde edilen pektin) esterleşme derecesi % 50'den daha azdır. Esterleşme derecesi, jel oluşumunda gerekli süre ve sıcaklığın belirlenmesinde oldukça etkilidir. Düşük metoksilli pektinlerde jelin

sertleşmesi çok yavaş iken, yüksek metoksilli pektinlerden esterleşme derecesi % 70'den fazla olanlarda hızlı, esterleşme derecesi % 50-70 olanlarda daha yavaştır [39,40].

2.4.1. Pektinin Gıdalarda Kullanımı

Pektin; jel ve reçel yapımında, şekerlemelerde, ilaç endüstrisinde, kozmetikte ve tıbbi uygulamalarda stabilizör ve jelleşme aracı olarak kullanılmaktadır. Pektinin gıdalarda en çok uygulama alanlarından biri süt endüstrisidir. Stabilizör olarak kullanılan pektin, süt endüstrisinde de kazeinle birlikte düşük pH ortamında koruyucu hidrokolloid olarak görev yapar. Pektinin gıdalarda kullanılması şeker ve asit ortamında jel oluşturma özelliğinden kaynaklanmaktadır. Pektin jel yapıcı, kıvam verici, emülgator ve stabilizör özelliğinden dolayı meyve ve sebze sularında, marmelat, reçel ve şekerleme yapımında, meşrubatlarda, pasta jolesinde, meyveli krema ve süt ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İlaç endüstrisinde ishale karşı kullanılan ilaçların bileşiminde kullanılmaktadır. Pektinin toksik etkiyi yok etme özelliğinin de olması ilaç yapımında kullanılmasında önemli etkenlerden biridir. Ayrıca pektinin kolay şekil alması ve emülsiyon tutucu özelliğinden dolayı da tekstil ve kağıt sanayilerinde kullanılmaktadır. 1 kg meyve suyu, jöle, marmelat, mayonez, balık konservesi ve dondurma üretiminde yaklaşık 1-5 mg arasında pektin kullanılırken eritme peyniri üretiminde ise 8 g dolaylarında pektin kullanılmaktadır. Yoğurdun yapısını düzeltmek amacıyla da pektin koruyucu kolloid olarak kullanılmaktadır [40].

2.5. Ozon

2.5.1. Gıda Endüstrisinde Ozon Kullanımı

Gıda sanayinde güçlü antimikrobiyal ajan olarak kullanılan ozon, yüksek penetrasyon ve reaktivasyon gücüne sahiptir. Toksik olmayan gıdalara kolayca nüfuz edebilmesi gıda sanayinde mikrobiyal gelişimi engellemede kullanılmasını sağlamaktadır. Son 10 yıldır ozon gazının güvenilir (generally recognized as safe-GRAS) kabul edilmesiyle gıdalarda kullanımı yaygınlaşmıştır. *1982 yılında ozonun* Gıda ve İlaç Dairesi tarafından (FDA) GRAS kabul edilmesiyle şişe sularında dezenfektan olarak kullanımındaki bazı sınırlamalar kaldırılmıştır [41,42] Ozonun gıda endüstrisinde klor ve diğer dezenfektanlara göre daha çok kullanılmasının temel nedeni diğerlerine göre % 52 daha güçlü olması ve çok geniş bir mikroorganizma spektrumunda etkili olmasıdır [41]. Gıda endüstrisinde; meyve ve sebze işleme tesislerinde, içme sularında, çiğ etlerin ve kuru gıdaların

dezenfeksiyonunda, balık üretiminde ve yumurta kabuklarının üzerindeki bakterilerin arındırılmasında antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır.

Ozonlama, gıdaları çürümesine ve bozulmasına neden olan küf gibi mantarların gelişimini engelleyerek veya geciktirerek birçok uygulama ve çalışmada etkin olarak kullanılmaktadır [42].

Kim ve arkadaşları 1999 yılında doğranmış marulları, akış hızı 0.5 L/dakika olacak şekilde 1.3 mM ozonlu su ile yıkamışlar ve 3 dakika sonunda toplam aerobik mezofil bakteri sayısında, 2 log kob/g azalma olduğunu rapor etmişlerdir [43,44].

Kondo ve arkadaşları 1989 yılında aynı uygulama ile lahanaların toplam bakteri sayısında % 90'ın üzerinde bir azalma sağlandığını saptamışlardır [44,45].

Ozonun varlığı çok düşük derişimlerde bile meyve ve sebzelerin raf ömrünü uzatmaktadır. Xu; ahududu, üzüm gibi meyvelerin bulunduğu depoya günde birkaç saat aralıklarla 2-3 ppm düzeyinde ozon verilmesinin meyvelerin raf ömrünü 2 katına çıkardığını saptamıştır [46]. Bir başka çalışmada Barth ve ark böğürtlenin ozon konstrasyonun 0.3 ppm olduğu depoda muhafaza edildiğinde; böğürtlenindeki küf gelişiminin ozon tarafından baskılandığını raporlamışlardır [47].

Elma, erik, üzüm, turunçgiller, böğürtlen, kivi, kiraz gibi meyvelerin yüzey dezenfeksiyonunda kullanılan ozonun sebzelerin yüzey dezenfeksiyonunda da kullanılması giderek yaygınlaşmaktadır. Kuşçu ve arkadaşları 2004 yılında soğan ve patateslerin 5 gün süresince 8'er saat 0.2 µg/L ozon atmosferinde depolamışlar ve yüzeydeki mikroorganizma sayısında azalma olduğu tespit etmişlerdir [50].

Mandıracılık sektöründe ozon ürünlerin raf ömrünü ve kalitesini arttırmak ile depolanma alanlarının dezenfeksiyonunu sağlamak için kullanılmaktadır. Ozon sistemleri; çiftliklerde, süt soğutma tankları, süt güğümleri ve süt sağım makinelerinin temizlenmesinde yaygın olarak uygulanmaktadır [48].

Tahıl depolarında böceklerin neden olduğu zararları önlemede depoya ozon gazı uygulanmaktadır. Mendez ve ark. 2003 yılında yaptıkları çalışmada mısırı 50 ppm ozona maruz bırakarak, mısırın amino asit ve yağ asidi kompozisyonunun değişmediğini saptamışlardır [44,49]. Benzer bir çalışmada; Kells ve ark. 50 ppm ozonlu ortamda 3 gün boyunca depolanan mısırdaki zararlıların % 92-100 oranında öldürüldüğünü tespit etmişlerdir [44,52].

2.5.2. Antimikrobiyal Ajan Olarak Ozon Kullanımının Avantaj ve Dezavantajları

Antimikrobiyal ajan olarak ozon kullanımının avantajları şu şekilde özetlenebilir;

- Ozonun yarılanma ömrü kısadır.

- Ozonun oksidasyon gücü yüksek olduğu için düşük konsantrasyonlarda da etkilidir.
- Temas süresi kısadır.
- Kararlı bir yapısı olmayan ozonun oksijene parçalanma eğilimi yüksek olduğundan yüksek konsantrasyonlarda serbest kalması söz konusu değildir.
- Kendine has ve keskin bir kokusu olması sebebiyle düşük konsantrasyonlarda dahil herhangi tehlike ortaya çıkmadan önceden fark edilmektedir.
- Ozonun parçalanması sonucu oluşan oksijenin çevreye hiçbir zararı bulunmamaktadır.
- Yağ dokusunda birikemeyen ozonun uzun soluklu kronik etkileri yoktur.
- Ozon kanserojen ve mutajen değildir.
- Gıda işletmelerinde dezenfeksiyon amaçlı kullanılan ozon kimyasal kullanımını azaltır.
- Gıda üzerinde artık ve kalıntı bırakmaz [48,51].

Antimikrobiyal ajan olarak ozon kullanımının dezavantajları;

- Yeşil sebzeler ve et gibi gıdalarda kullanılan ozon yüzey oksidasyonuna neden olabilmesi,
- Gıdalarda askorbik asit ile B1 vitaminin azalmasına neden olabilmesi,
- İstenmeyen tat ve koku değişimlerine neden olabilmesi ve
- Ozon jeneratörlerinin pahalı olması şeklinde özetlenebilir [48,51].

2.5.3. Ozonun Antimikrobiyal Etkisi

Ozon; virüs, protozoa, bakteri fungus ile bakteriyel ve fungal spora karşı güçlü ve geniş spektrumlu bir antimikrobiyal ajandır. Ozonun sulu ortamda farklı kimyasal bileşiklerle reaksiyonu, moleküler ozonun doğrudan reaksiyona girmesi veya serbest radikaller aracılığıyla gerçekleşmektedir. Ozonun etkisiyle gerçekleşen biyokimyasal hasarlanmada ara reaktif ürün olarak singlet oksijen oluşmaktadır. Çok adımlı olarak gerçekleşen bu reaksiyonlar sonucu ozon, mikroorganizmaları parçalamaktadır. Bakteriyel hücre yüzeyi ozon aktivitesinin ilk hedefi olmakta ve hücrede hasara yol açmaktadır. Lipoprotein ve lipopolisakkarit gibi gram negatif bakterilerde bulunan çift bağlı doymamış lipidler ozondan etkilenmekte ve lizis olayı gerçekleşmektedir. Viral kapsitlerde ve bakteriyel hücre

duvarında bulunan peptidoglukan tabakasında yer alan N-asetil glikozamin, pH 3-7 arasında sulu ortamda ozonla hızlı reaksiyona girerek, ozunun etkisini sınırlandırmaktadır. Bundan dolayı peptidoglukan tabakasına sahip gram pozitif bakteriler, gram negatiflere göre ozona karşı daha fazla direnç göstermektedirler [50].

Çizelge 2.1. Gram negatif bakterilerin sulu ortamda ozonla inaktivasyonu [50]

Bakteri	Ozon (µg/ml)	Süre (dak.)	pH	Sıcaklık (°C)	Log₁₀ (Birim Azalma)
<i>Escherichia coli</i>	0.065 a	0.5	-	-	3.5
<i>E. coli</i>	0.004-0.8	0.5-2.0	6.9	-	0.5-6.5
<i>E. coli O 157: H7</i>	0.3-1.0 a	<0.5	5.9	25	1.3-3.8
<i>Legionella</i>	0.32 a	20	7.0	24	>4.5
<i>Salmonella enteridis</i>	0.5-6.5	0.5	-	25	0.6-4
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.2-1.2 a	<0.5	5.9	25	0.9-5

Çizelge 2.2. Gram pozitif bakterilerin sulu ortamda ozonla inaktivasyonu [50]

Bakteri	Ozon (µg/ml)	Süre (dak.)	pH	Sıcaklık (°C)	Log ₁₀ (Birim Azalma)
<i>Bacillus megaterium</i>	0.19	5	-	28	>2.0
<i>B. cereus</i>	0.12	5	-	28	>2.0
<i>Leuconostoc mesenteriodes</i>	0.3-3.8	0.5	5.9	25	1.3-7
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.2-1.8	0.5	5.9	25	0.7-7
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	0.23-0.26	1.67	7.0	24	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.3-1.97	10	-	-	4-6
<i>S. aureus</i>	-	0.25	7.0	25	>2.0

Çizelge 2.2. ve Çizelge 2.3. 'de G(+) ve G(-) bakterilerin değişik koşullar altında ozon uygulamasıyla inaktivasyon dereceleri görülmektedir. Mikroorganizmaların ozonla etkileşimi sonucunda mikroorganizmaların enzim dehidrojenasyon sistemi parçalandığı için hücre solunumu etkilenecek şekilde ölüm gerçekleşmektedir. Ozon ayrıca mikroorganizmaların genetik materyalinde hasara da sebep olmaktadır. Ozon işleminin enzim sistemindeki etki için diğer bir görüşte sülfidril gruplarının oksidasyonu (SH-'nın S-S'ye dönüşümü) ölümün gerçekleştiği şeklindedir. Ozonun virüslere olan etkisinde farklı mekanizmalardan bahsedilmektedir. Ozonlama sonrası faj partiküllerinden RNA'nın dışarı sızdığı belirlenmektedir. Elektron mikroskopu incelemesi sonucu faj kılıfında kırılmalar olduğu belirtilmektedir [50].

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Atık Limon Kabuklarından Pektin Eldesi

Çalışmada pektin eldesi için hammadde kaynağı olarak evsel atık limon kabukları kullanılmıştır. Atık limon kabukları ilk olarak yıkanmış ve oda sıcaklığında 4-5 gün muhafaza edilip kurutulmuştur. Daha sonra kurutulan limon kabuklarının elek analizi yapılarak 150-500 µm parçacık büyüklüğünde limon kabukları elde edilmiştir.

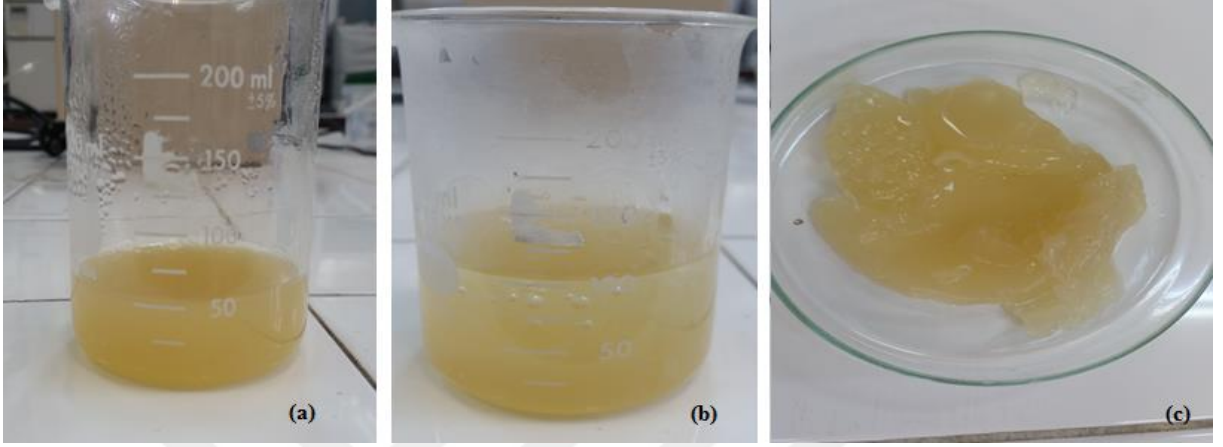
Pektin üretimi için gerekli olan temel işlemler; hammaddedeki pektinin suda çözünür hale getirilmesi, asit ile ekstraksiyonu, ekstraktın süzülerek ayrılması, çöktürülmesi, süzülmesi, yıkanması ve kurutulması şeklinde sıralanabilir. Limon kabukları karıştırmalı bir reaktörde 100 ml 0.01 M HCl asit çözeltisi ile sıcaklığı 50-85 °C arasında ayarlanabilen sabit sıcaklıktaki su banyosunda, 300 rpm karıştırma hızında 60-120 dakika boyunca ekstrakte edilmiştir. Şekil 3.1.'de atık limon kabuklarının karıştırmalı bir kapta asit ile ekstraksiyonu işlemi görülmektedir.



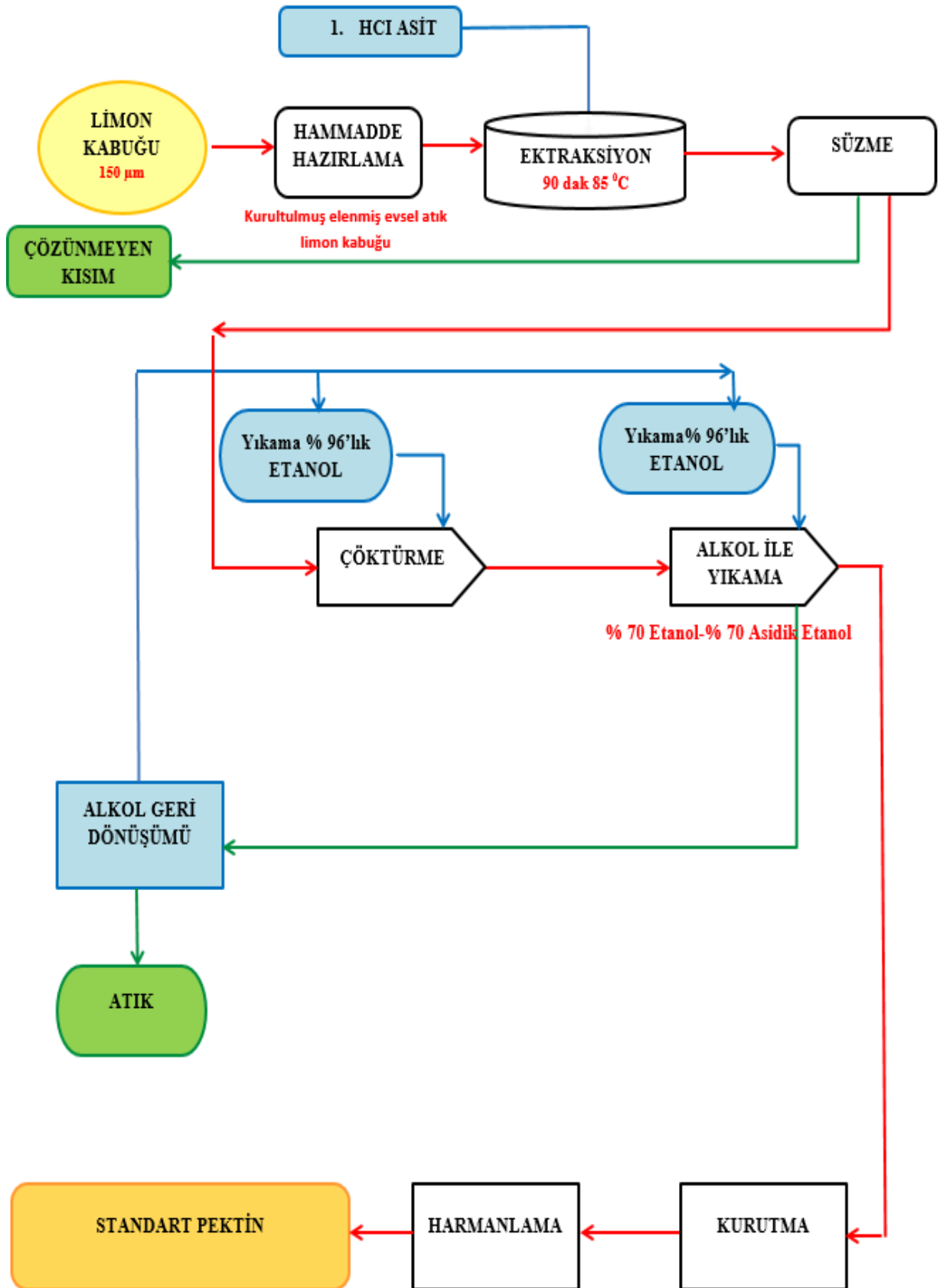
Şekil 3.1. Atık limon kabuklarının asit ile ekstraksiyonu

Ekstraksiyon işlemi sonrasında çözelti sıcak iken bez süzgeçten süzülmüş ve elde edilen süzüntü sıcaklığı 4 °C olana dek buzdolabında muhafaza edilmiştir. Buzdolabında gerekli sıcaklığa ulaşan süzüntü içerisine onunla aynı sıcaklık ve aynı hacimde % 96'lık etanol eklenerek ekstraksiyon sonucunda ortaya çıkan pektinin çökmesi sağlanmış ve çöken pektin 4 °C' de 24 saat buzdolabında bekletilmiştir. Jel olarak çöken pektin; ortamdaki klorür iyonlarını uzaklaştırmak amacıyla sırasıyla % 96'lık etanol, % 70'lik asidik etanol ve % 70'lik etanol ile 15

dakika boyunca yıkanarak film yapımı için kullanıma uygun hale getirilmiştir. Şekil 3.2.'de yıkama ve çöktürme işlemleri sonucunda elde edilen pektin örnekleri görülmektedir. Şekil 3.3.'de ise atık limon kabuklarından pektinin elde edilme aşamaları şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Atık limon kabuklarından pektin elde etme aşamalarından sırasıyla **a)** ekstraksiyon sonrası süzme **b)** etil alkol ile çöktürme ve **c)** etil alkol ile yıkama sonrası elde edilen pektin



Şekil 3.3. Atık limon kabuklarından pektin eldesine yönelik akış şeması

3.2. Atık Limon Kabuklarından Elde Edilen Pektinin Karakterizasyonu:

Esterleşme Derecesi Tayini

Pektinin esterleşme derecesi; pektin molekülündeki karboksil gruplarının esterleşme derecesine göre hesaplanmaktadır [56]. Kurutulmuş pektinin yapısındaki karboksil gruplarının varlığını tespit etmek amacıyla Frouier Transform Infrared Spektrofotometresi (FTIR) ile 400-4600 cm^{-1} dalga sayısı aralığında spektrum alınmıştır.

Esterleşme derecesi, spektrumda 1740 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen absorbands değerinin 1630 cm^{-1} ve 1740 cm^{-1} deki absorbands değerlerinin toplamına bölünerek hesaplanmaktadır [56]. (Eşitlik 1)

$$ESTERLEŞME DERECEŚİ(\%) = \frac{A(1740)}{A(1740)+A(1630)} \times 100 \quad (1)$$

3.3. Ozonize Zeytinyağının Eldesi ve Özellikleri

Çalışmada ozonize zeytinyağı, Tanyolaç ve arkadaşları tarafından işletim parametreleri ile reaktör konfigürasyonu arasında geliştirilen istatistiksel model yaklaşımıyla analojik bir ilişki kurularak tasarımı yapılmış ve patent başvurusu için çalışmaların sürdüğü piyasadaki emsallerine göre üstün özellikli ozon jeneratörü ile üretilmiştir [5,6] (Şekil 3.4.)

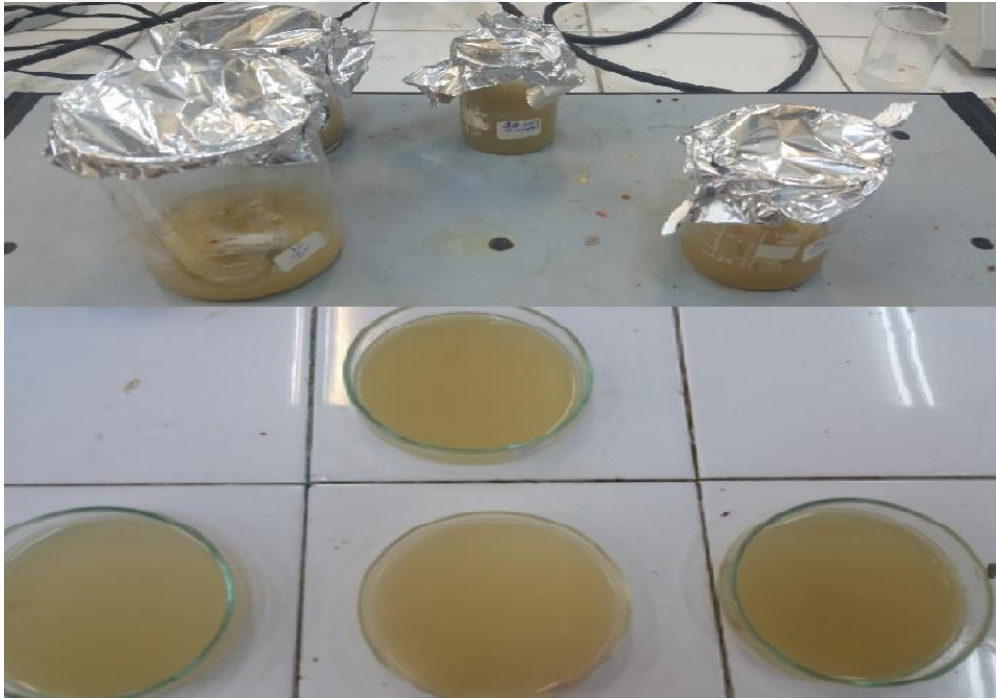


Şekil 3.4. Ozon gazı üretimi için tasarlanan deney düzeneği [5]

Ozonlanmış yağların antimikrobiyal aktivitesini gösteren en önemli parametrelerden biri peroksit değeridir. Çalışmada kullanılan ozonize zeytinyağı için peroksit değeri yaklaşık 2700-2800 mEq O_2/kg yağ aralığında bulunmuştur [5,6].

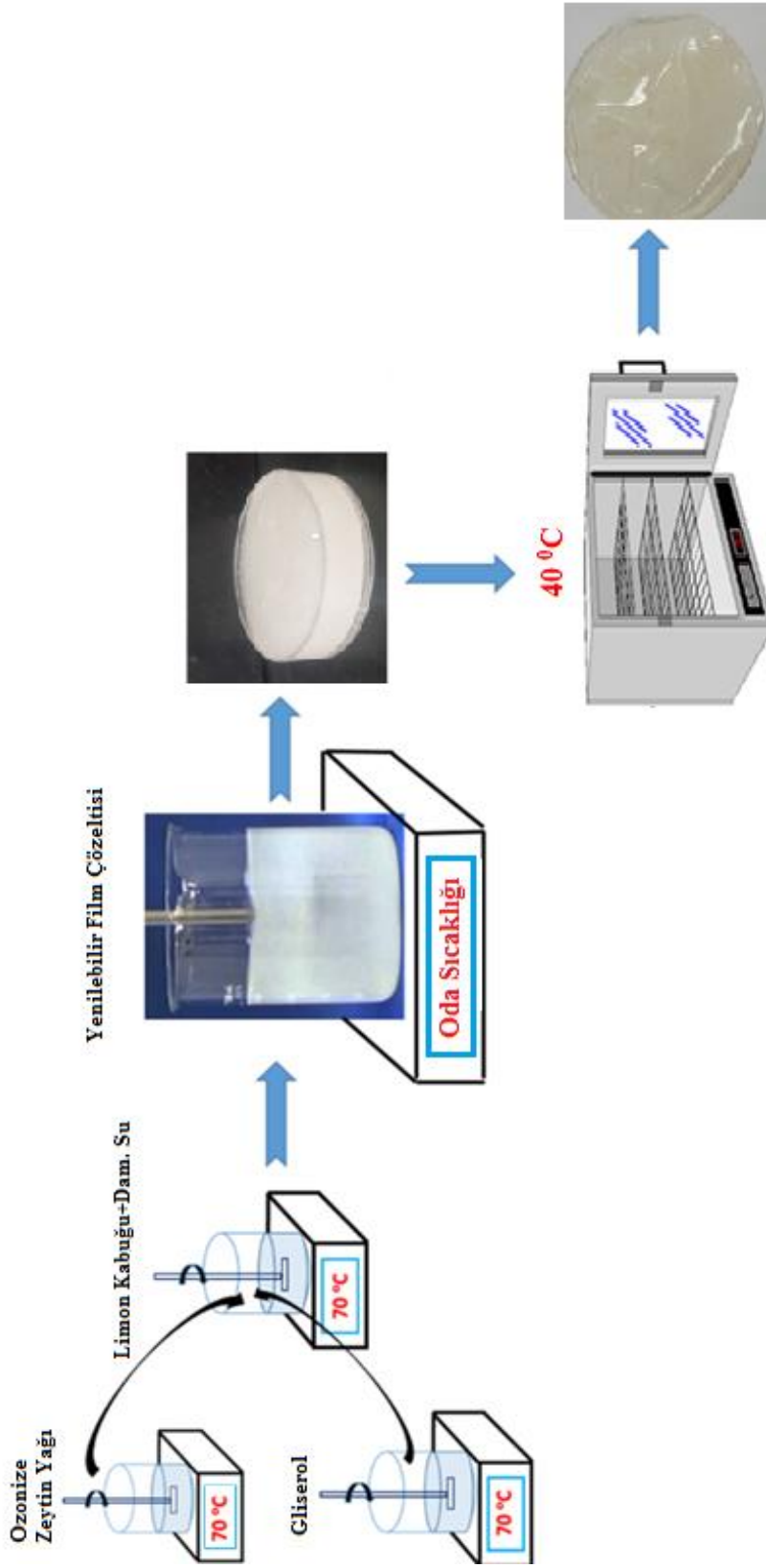
3.4. Atık Limon Kabuklarından Yenilebilir Film Hazırlanması

Atık limon kabuklarından literatürde ilk kez elde edilen yenilebilir filmlerin hazırlanmasında çözücü buharlaştırma yöntemi kullanılmıştır. Limon kabuklardan ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen pektin (% 0,5-2 w/v), saf su içerisinde çözüldükten sonra çözelti 70 °C ye kadar ısıtılarak homojen bir hal alana kadar karıştırılmıştır. Homojen çözelti içerisinde, filme esneklik kazandırabilmek için sıcaklığı 70 °C getirilen gliserol (% 2-6 v/v) ilave edilmiş ve karıştırmaya devam edilmiştir. Gliserol ile iyice karışan homojen çözelti içerisinde antimikrobiyal ajan olarak ozonize zeytinyağı (% 0.5-1,5 v/v) eklenmiş ve çözelti 15 cm çapında cam petri kaplarına dökülerek hava kabarcığı kalmaması için oda sıcaklığında yaklaşık 3 saat bekletilmiştir. Şekil 3.5.'de yenilebilir filmlerin hazırlanma işlemi ve petri tabaklarına dökümü görülmektedir.



Şekil 3.5. Yenilebilir filmlerin hazırlanma işlemi ve dökümü

40 °C ye ısıtılan etüvde 3 gün süreyle kurutulan filmler, % 5 (v/v) 'lik CaCl_2 çözeltisine daldırılmış ve yapılan bu çapraz bağlama işlemi ile filmlerin mekanik dayanıklılığının artırılması amaçlanmıştır. Atık limon kabuklarından elde edilen yenilebilir filmlerin hazırlanmasına yönelik akım şeması Şekil 3.6.'da görülmektedir.



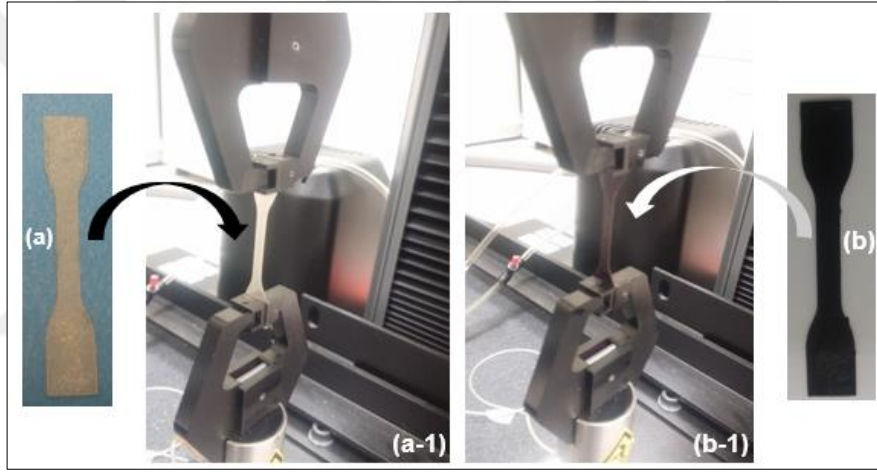
Şekil 3.6. Atık limon kabuklarından yenilebilir filmlerin hazırlanmasına yönelik akış şeması

3.5. Atık Limon Kabuklarından Elde Edilen Filmlerin Karakterizasyonu

3.5.1. Yenilebilir Filmlerin Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi

Yenilebilir filmlerin gerilme kuvveti ve uzama miktarlarının belirlenmesinde ISO 37 Type 3 standardı esas alınmış ve INSTRON 5969MTS model mikro mekanik test cihazı (Şekil 3.7.) kullanılarak gerilme ve uzama miktarları belirlenmiştir

Belirtilen şekilde ve boyutta standarta uygun olarak hazırlanmış kalıp yardımıyla kesilen film örnekleri, cihazın iki çenesi arasına yerleştirilmiş ve 1.00 mm/dak ve 20 mm/dak aralığında çekme hızı ile çekilmiştir. Kopma anında örneğe uygulanan maksimum kuvvet ve kopma anındaki uzama miktarı mekanik test cihazına bağlı bilgisayar programı yardımıyla hesaplanmıştır.



Şekil 3.7. a) ISO 37 Type 3 normuna uygun kesilen yenilebilir film numunesi b) yenilebilir filmlerin çekme testi analiz görüntüsü

Hazırlanan filmlerin kopuncaya ve kırılıncaya kadar dayanabileceği en yüksek kuvvet olan gerilme kuvvetinin (F) (kopma anında örneğe uygulanan kuvvet) başlangıçtaki filmin kesit alanına (A) bölünmesiyle filmin çekme mukavemeti (MPa) hesaplanmıştır. (Eşitlik 2)

$$\text{Çekme mukavemeti} = \frac{F}{A} \quad (2)$$

Filmlerin uzama yüzdesi filmin boyundaki değişimin ($\Delta L = L_{son} - L_{ilk}$) başlangıçtaki boyuna (L_{ilk}) oranlanmasıyla hesaplanmıştır. (Eşitlik)

$$\text{Yüzde Uzama} = \frac{\Delta L}{L_{ilk}} \quad (3)$$

3.5.2. Yenilebilir Filmlerin Termal Gravimetrik Analizi (TGA) ve Diferansiyel Termal Gravimetrik Analizi (DTG)

Filmlerin TGA ve DTG eğrileri, PERKIN ELMER SII Exstar 6000 TG-DTA6300 marka cihaz kullanılarak elde edilmiştir. 200 °C-10000 °C sıcaklık aralığında ve 99 °C/dak ısıtma hızı ile çalışan cihaz ile filmlerin kütledeki değişim ölçülerek filmlerin erime sıcaklığı belirlenmiştir. Antimikrobiyal ajan olarak kullanılan ozonize zeytinyağının filmin erime sıcaklığına olan etkisinin belirlenmesinde TGA ve DTG termogramları kullanılmıştır.

3.5.3. Yenilebilir Filmlerin Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizi

Atık limon kabuklarından hazırlanan yenilebilir filmlerin yüzeylerinde bulunan fonksiyonel grupların aydınlatılması amacıyla FTIR kullanılarak yapısal karakterizasyon gerçekleştirilmiştir.

3.6. Yenilebilir Filmlerin Yüzey Analizlerinin Yapılması

QUANTA 400F Field Emission marka taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak yenilebilir film örneklerinin yüzey ve kesit alanları incelenmiştir. Filmler, vakum altında altın ile kaplanıp daha sonra sıvı azot ile kırılarak analize uygun hale getirilmiştir.

3.7. Yenilebilir Filmlerin ve Ozonize Zeytinyağının Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

Atık limon kabuğundan hazırlanan yenilebilir filmlerin ve ozonize zeytinyağının gram (-) *E. coli* (ATCC 25922), ve gram (+) *S. aureus* (ATCC 29213), bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitesi "Disk Difüzyon" yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Test için farklı konsantrasyonlarda ve bileşimlerde hazırlanan yenilebilir filmlerden 6 mm çapında kesilen diskler kullanılmıştır. İlk olarak taze kültürden öze ile alınan mikroorganizmalar sıvı besi ortamında 10^4 CFU/ml mikroorganizma yoğunluğuna oluşana kadar inkübe edilmiş ve daha sonra agar katı besi yüzeyine ekimi yapılmıştır. Son olarak yenilebilir filmlerden kesilen diskler ekim yapılan petrilere yerleştirilerek petri kapakları alta gelecek şekilde 35 ± 2 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülmüştür. Ozonize zeytinyağının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde Whatman kağıdından (No:1) 6 mm çapında kesilen disklere emdirilen 20 µl örnek

kullanılmıştır. Ozonize zeytinyağı emdirilmiş steril diskler için de yenilebilir filmlere uygulanan aynı yöntem uygulanarak inhibisyon değerlendirilmesi yapılmıştır.



4. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Atık Limon Kabuklarından Elde Edilen Pektinin Karakterizasyonu

Pektinin esterleşme derecesi (galakturonik asit içeriği), pektinin ticari değer ölçüsü olarak kabul edilmekte olup, gıda maddeleri kodeksinde belirtilen standartlara göre % 50'nin üzerinde olması gereken bir değerdir [53]. Çalışmada, farklı ortam parametrelerinin elde edilen pektinin esterleşme derecesine etkisinin belirlenmesi amacıyla, 0.01 M HCl asit kullanılarak farklı partikül büyüklüğünde limon kabukları ile farklı sıcaklık ve sürelerde ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Farklı koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen pektinlerin esterleşme dereceleri Çizelge 4.1.-4.2. ve 4.3.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Ekstraksiyon sıcaklığının pektinin esterleşme derecesine etkisi

Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Parçacık Boyutu (µm)	Esterleşme Derecesi (%)
50	120	150	45
85	120	150	49

Çizelge 4.1.'de görüldüğü üzere ekstraksiyon işleminde sıcaklık, çözünen maddenin çözücüye geçişini etkileyen en önemli parametredir. Yüksek sıcaklıklarda, çözünen maddenin çözücüye geçişi düşük sıcaklıklara göre daha hızlıdır. Bu nedenle diğer parametreler sabit kalmak koşulu ile 85 °C de gerçekleştirilen ekstraksiyonda pektinin esterleşme derecesi % 49, 50 °C de ise % 45 olarak belirlenmiştir. Ekstre edilecek katının yapısına bağlı olarak sıcaklıkla ekstraksiyon verimi artmasına rağmen çok yüksek sıcaklıkta bazı bileşenlerin yapısında meydana gelebilecek bozunmalar ve istenmeyen bazı bileşiklerin ortama geçişi ürün kalitesinin düşmesine neden olabilmektedir [54].

Çizelge 4.2. Parçacık boyutunun pektinin esterleşme derecesine etkisi

Parçacık Boyutu (μm)	Süre (dakika)	Sıcaklık (°C)	Esterleşme Derecesi (%)
150	90	85	61
300	90	85	55
500	90	85	52

Yapılan ekstraksiyon deneylerinde en yüksek esterleşme derecesi 150 μm parçacık boyutunda gözlenmiştir. Bunun nedeni kütle aktarımında temel prensibin çözücü faz ile ekstraktı içeren materyalin mümkün olan en geniş yüzeyde temasa girmesidir. Bu doğrultuda bir materyalin ne kadar küçük parçalara ayrılırsa birim hacime düşen yüzey alanının da o kadar artacağı bilinse de çok küçük parçacıkların elektrostatik çekim kuvvetlerinden ötürü bir arada kalmak istemeyip akışa karşı direnç göstermelerinden dolayı ekstraksiyonu olumsuz yönde etkileyeceği unutulmamalıdır.

Çizelge 4.3. Ekstraksiyon süresinin pektinin esterleşme derecesine etkisi

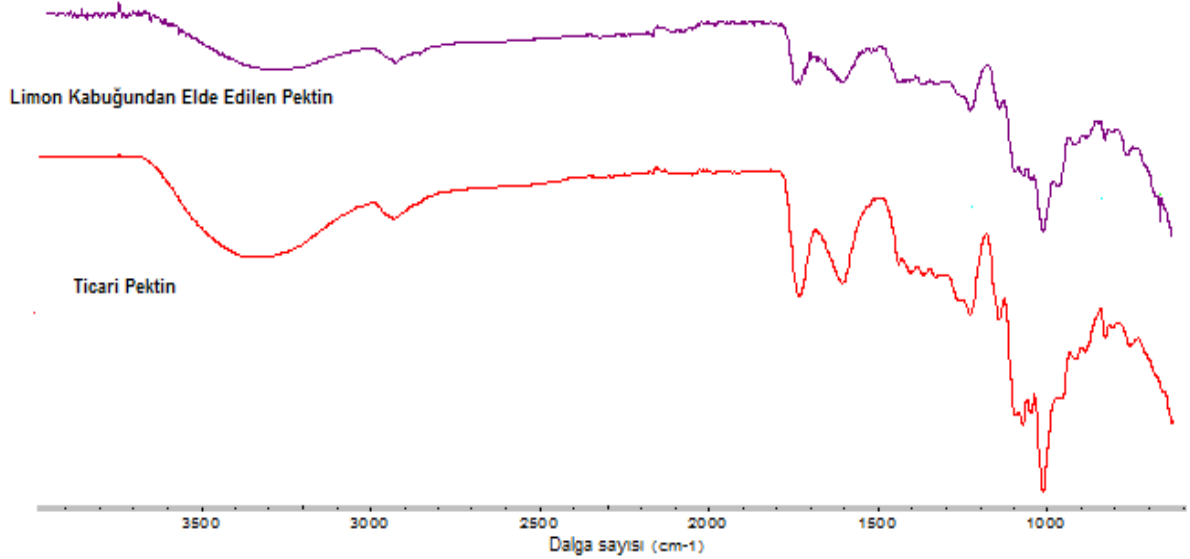
Süre (dakika)	Parçacık Boyutu (μm)	Sıcaklık (°C)	Esterleşme Derecesi (%)
60	150	85	40
90	150	85	61
120	150	85	49

Ekstraksiyonun temel prensiplerinden biri de ekstraksiyon işleminin çözücünün kaynama noktasından daha önce ekstrakte edilmesidir. Çözücü ile ekstraktın temas süresi ne kadar uzun ise işlemin etkinliği de o kadar fazladır. İşlem boyunca çözücüde buharlaşma olması da çözücü ile ekstraktın temas süresinin azalmasına

neden olduğundan ekstraksiyonda uygun süre belirlenmesi çok önemlidir. Bu çalışmada 150 µm parçacık boyutundaki atık limon kabukları ile 85 °C' de yapılan asidik ekstraksiyon işlemi için ekstraksiyon süresi 90 dak olarak belirlenmiştir.

Yapılan deneyler sonucunda atık limon kabuğundan pektin eldesi için uygulanan ekstraksiyon işleminde en yüksek pektin verimine; pektinin esterleşme derecesinin % 61 olarak hesaplandığı 150 µm parçacık boyutunda, 85 °C sıcaklık ve 90 dakikalık ekstraksiyon süresinde ulaşılmıştır.

Atık limon kabuklarından elde edilen pektinin ticari değer taşıyıp taşımadığının tespiti için FTIR spektrumu alınmış, yapıda yer alan fonksiyonel gruplar belirlenerek ticari pektin ile karşılaştırılmıştır. Alınan FTIR spektrumları Şekil 4.1.'de verilmiştir.



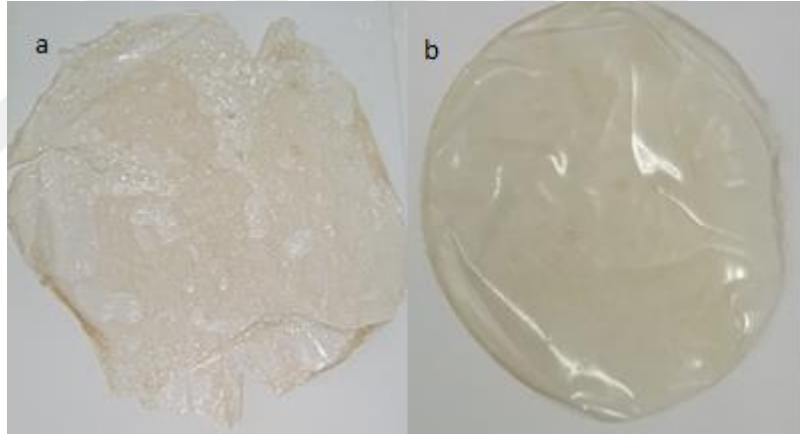
Şekil 4.1. Atık limon kabuğundan elde edilen pektinin ve ticari pektinin FTIR spektrumu

Spektrumda 3600-3400 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında görülen pik O-H gerilme titreşimini göstermektedir. Bu pikler genelde moleküller arası H- bağı polihidroksi bileşiklerde görülmektedir ki bu da pektin molekülünde çok sayıda -OH grubunun varlığının işaretidir. 1740 cm⁻¹ dalga sayısında görülen pik esterlerde görülen C=O gerilmesidir ve pektinde asetil (COCH₃) gruplarının yani iyonlaşmamış karboksilik asitin varlığını göstermektedir. 1630 cm⁻¹ dalga sayısında görülen pik -OH gerilme titreşim bandını, 1385- 1445 cm⁻¹ de gözlenen pikler -CH₃ grubunun varlığını, 1015-1104 cm⁻¹ dalga sayısında görülen pikler ise C-O eğilme veya gerilme titreşimlerinin varlığını göstermektedir [54]. Esterlerin spekturumunda 1740 cm⁻¹ -

1630 cm^{-1} dalga sayı aralığında gözlenen bir veya iki kuvvetli band bulunur. 1740 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen pikin varlığı pektindeki esterleşme derecesinin yüksek olduğunun işaretidir [55]. Şekil 4.1.'den görüleceği gibi atık limon kabuğundan elde edilen pektin ile ticari pektinin FTIR spektrumları neredeyse birebir örtüşmektedir ki bu da bize elde edilen pektinin ticari değer taşıdığını ve yenilebilir film hazırlanmasında da kullanılabileceğini göstermiştir.

4.2. Limon Kabuğundan Hazırlanan Yenilebilir Filmlerin Görsel ve Mekanik Özellikleri

Yenilebilir film hazırlanması aşamasında ağırlıkça farklı oranlarda kullanılan (0,5 ve 2 % w/w) pektininin hazırlanan filmlerin görselliğine etkisi incelenmiştir. Şekil 4.2.'den görüldüğü üzere ağırlıkça % 2 oranında pektin içeren film daha az pektin içeren filme göre görsel olarak daha iyi durumdadır. Bu durum yenilebilir filmin içerisindeki pektin miktarına bağlı olarak artan metil ester içeriği ile açıklanabilir [53].



Şekil 4.2.a. % 0,5 w/w pektin içeren filmin görüntüsü

Şekil 4.2.b. % 2 w/w pektin içeren filmin görüntüsü

Hazırlanan yenilebilir filmlerin elastikiyeti pektindeki güçlü polisakkarit zincirlerinden dolayı yok denecek kadar azdır. Şekil 4.3.'de görüldüğü gibi bu güçlü bağları daha zayıf olan hidrojen bağlarına çevirmek için bir başka deyişle filmin kırılma dayanıklılığını azaltmak ve yapıya elastikiyet kazandırmak için hacimce % 2, % 4 ve % 6 (v/v) oranlarında gliserol kullanılmıştır.



Şekil 4.3. Atık limon kabuklarından hazırlanan elastik yenilebilir film örneği

Çizelge 4.4. Gliserol konsantrasyonunun hazırlanan filmlerin mekanik özelliklerine etkisi

Film kodları	Gliserol Konsantrasyonu (% v/v)	Ozonize Zeytinyağı (% v/v)	CaCl ₂ (%v/v)	Yüzde Uzama (%)	Gerilme Kuvveti (N)	Çekme Mukavemeti (MPa)
E1	2	0,5	5	86	1,17	1,40
E2	4	0,5	5	40	0,18	0,21
E3	6	0,5	5	37	0,12	0,14

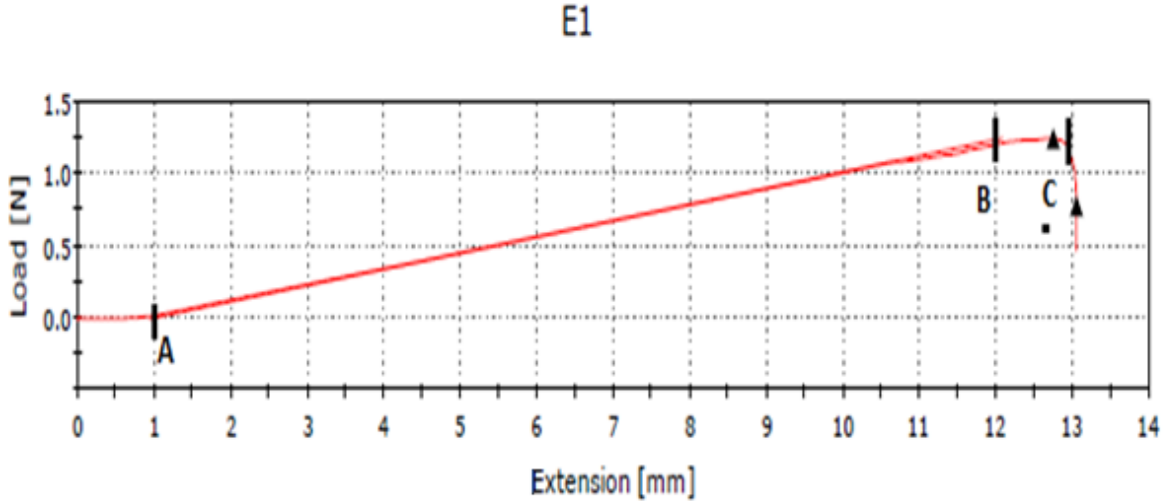
Gerilme kuvveti, yüzde uzama ve çekme mukavemeti, filmin gerilme yeteneğini ifade eden en önemli mekanik özelliklerdir. Atık limon kabuğundan elde edilen yenilebilir filmlerinin mekanik özellikleri Çizelge 4.4.'de gösterilmiştir. Çizelge 4.4.'den görüleceği gibi gliserol konsantrasyonunun hacimce % 2 olduğu durumda; uygulanan dış kuvvete karşı filmin gösterdiği tepki olarak gerilme kuvvetinin diğer konsantrasyonlara göre daha yüksek, gliserol konsantrasyonunun hacimce % 6 olduğu film örnekleri için de gerilme kuvvetinin diğer konsantrasyonlara göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum ortamdaki gliserol miktarının artmasıyla pektin molekülleri arasındaki etkileşimin azalması ve buna bağlı olarak moleküllerin bölgesel hareketliliğinin artması şeklinde açıklanabilir. Moleküllerin

hareketliliğinin artmasıyla difüzyon kolaylaşmakta ve filmin uygulanan dış kuvvete karşı gösterdiği direnç yani gerilme kuvveti düşmektedir.

Çizelge 4.4.'de gliserol konsantrasyonu arttıkça filmin yüzde uzamasının azaldığı görülmektedir. Filmin elastikiyetini arttıran plastikleştirici maddelerin doğal olarak filmin yüzde uzamasını arttırması beklenen bir durum gibi görünse de yapı içerisinde fazla miktarda bulunması pektin yapısındaki polar uçların çözülerek moleküller arası etkileşiminin azalması dolayısıyla filmin yüzde uzamasının da olumsuz yönde etkilenmesi ile açıklanabilir.

Çekme mukavemeti de gerilme kuvveti gibi plastikleştirici konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Yenilebilir filmin çekme mukavemetinin en yüksek olduğu 1,40 MPa'da gliserol konsantrasyonu en düşük, çekme mukavemetinin en düşük olduğu 0,14 MPa'da ise gliserol konsantrasyonu en yüksektir. Bu durum gliserol konsantrasyonu arttıkça; pektinin yapısındaki uzun kovalent bağlı zincirlerin yıkılıp yerine zayıf hidrojen bağlarının oluşması ile açıklanabilir. Moleküller arası Van der Waals kuvvetleri zayıfladığı için moleküller arası etkileşim azalmakta ve çekme mukavemeti düşmektedir.

Hazırlanan E1 kodlu filminin gerilme uzama eğrisi Şekil 4.4 'de görülmektedir. Uygulanan kuvvete karşı alınan eğri, literatürdeki tipik yenilebilir filmler için alınan uzama eğrilerine benzer davranış sergilemektedir [57].



Şekil 4.4. E1 kodlu filminin gerilim-uzama eğrisi

Şekil 4.4'teki gerilim-uzama eğrisi incelendiğinde A-B arasında gerilme ile uzamanın doğru orantılı olduğu görülmektedir. Bu bölgede deformasyon elastiktir ve bölgenin eğimi elastik modülü vermektedir [57]. Şekil 4.4.'de B-C arasında

gerilim hemen hemen sabit iken, filmdeki uzama artışı devam etmektedir. Bu duruma plastik akma denir ve bu bölgede polimer zincirleri ayrılır, biribiri üzerinden kayar. Sonuç olarak viskoz deformasyon meydana gelir [57]. Gerilim uzama eğrisindeki C noktası ise filmin daha fazla uygulanan kuvvete dayanamayıp koptuğu noktadır.

Filmin içinde yer alan ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılan ozonize zeytinyağının konsantrasyonu da yenilebilir filmlerin mekanik özelliklerini etkileyen önemli parametrelerden biridir.

Çizelge 4.5. Ozonize zeytinyağı konsantrasyonunun hazırlanan filmlerin mekanik özelliklerine etkisi

Film kodları	Ozonize zeytinyağı Konsantrasyonu (% v/v)	Gliserol (% v/v)	CaCl ₂ (%v/v)	Yüzde Uzama (%)	Gerilme Kuvveti (N)	Çekme Mukavemeti (MPa)
E11	0,5	2	0	75	0,93	1,65
E13	0	2	0	90	1,38	2,59

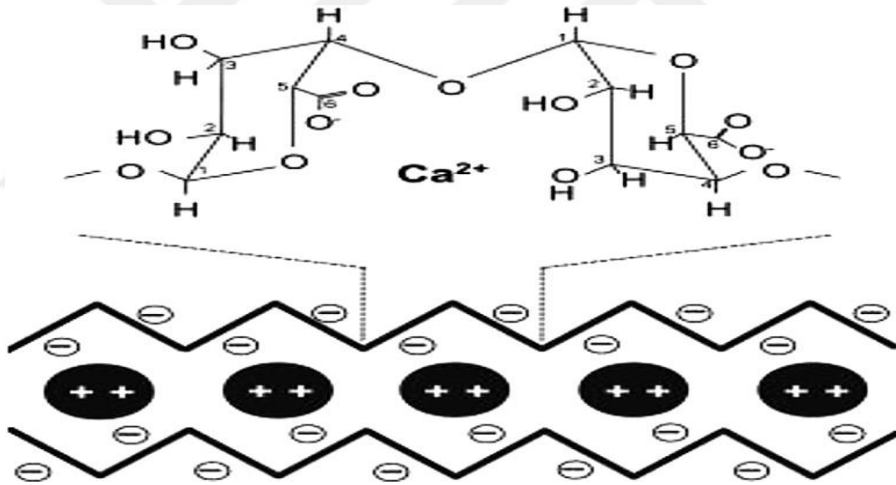
Çizelge 4.5.'de görüldüğü üzere yapıda ozonize zeytinyağının varlığı filmlerin çekme mukavemeti, gerilme kuvveti ve yüzde uzamasının azalmasına neden olmuştur. Ozonize zeytinyağı içermeyen filmin çekme mukavemeti 2,59 MPa iken hacimce % 0,5 ozonize zeytinyağı içeren filmin çekme mukavemeti 1,65 MPa dir. Bu durum literatürdeki pek çok çalışma ile örtüşmektedir [11,57]. Ayana ve arkadaşları 2007 yılında farklı konsantrasyonlarda zeytin yaprağı özütü içeren metil selüloz esaslı filmler üretmişler ve zeytin yaprağı özütü konsantrasyonu arttıkça filmin yüzde uzamasının azaldığını tespit etmişlerdir. Benzer bir çalışmada Sarı ve arkadaşları antimikrobiyal ajan olarak kekik ve biberiye içeren peynir altı suyu proteini izolatu esaslı filmler yapmışlar ve antimikrobiyal ajan konsantrasyonu arttıkça filmin uzama miktarının ve gerilme kuvvetinin azaldığını gözlemlemişlerdir. Ozonize zeytinyağı içermeyen pektin bazlı filmin yüzde uzaması 90 iken ozonize zeytinyağı konsantrasyonu % 0,5 olan pektin bazlı filmin yüzde uzaması 75 olarak bulunmuştur. Yenilebilir filmin içine herhangi bir katkı maddesinin ilavesi ile filmin

kimyasal yapısında ve morfolojik yapısında bir takım değişikliklerin olabileceği bilinmektedir [20]. Bu durum moleküller arasındaki etkileşimin azalması buna bağlı olarak da filmin yüzde uzamasının azalması ile açıklanabilir. Threepopnatkul ve arkadaşları da 2012 yılında antimikrobiyal ajan olarak limon yağı ve bergamot içeren jelatin bazlı filmler hazırlamışlar ve antimikrobiyal ajan içeren filmlerin yüzde uzamasının içermeyen filmlere göre daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir [58].

Çalışmada yenilebilir filmlerin mekanik özelliklerini en uygun değerlerde tutacak gliserol ve ozonize zeytinyağı konsantrasyonları sırasıyla hacimce % 2 ve % 0,5 olarak tespit edilmiştir.

En uygun gliserol ve ozonize zeytinyağı konsantrasyonunda hazırlanan filmlerin mekanik özelliklerini iyileştirmek için filmler hacimce % 5'lik CaCl_2 çözeltisine daldırılarak çapraz bağlama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Çapraz bağlamadaki amaç pektin molekülleri arasında var olan kovalent bağları güçlendirmek veya yeni kovalent bağların oluşmasını sağlamaktır.



Şekil 4.5. Pektin molekülünün yumurta kutusu modeli [59]

Hazırlanıp kurutulan filmlerin CaCl_2 'e daldırılarak yapılan çapraz bağlama işleminde, Ca^{+2} iyonlarının pektin molekülünde yer alan karboksilat gruplarına bağlanarak meydana getirdiği üç boyutlu aę yapısı literatürde yumurta kutusu modeli olarak bilinmektedir [60,61].

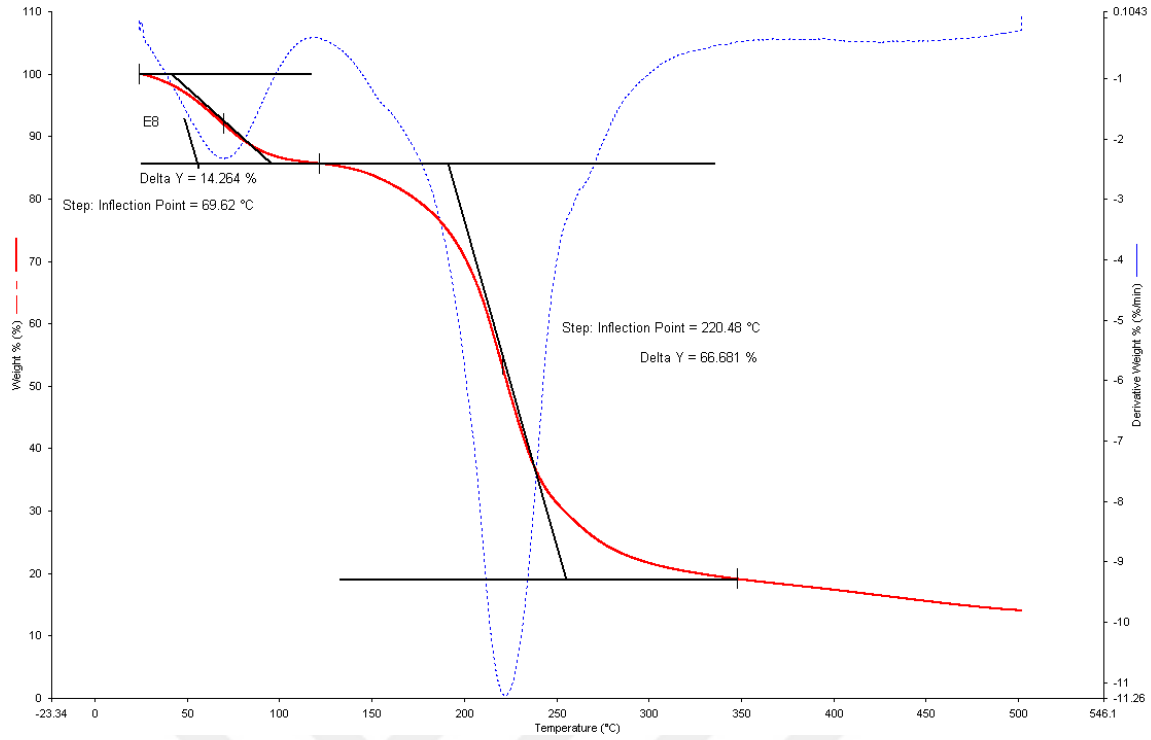
Çizelge 4.6. CaCl₂ konsantrasyonunun hazırlanan filmlerin mekanik özelliklerine etkisi

Film kodları	CaCl ₂ Konsantrasyonu (% v/v)	Gliserol (% v/v)	Ozonize Zeytinyağı (%v/v)	Yüzde Uzama (%)	Gerilme Kuvveti (N)	Çekme Mukavemeti (MPa)
E11	0	2	0,5	75	0,93	1,65
E14	5	2	0,5	42	2,69	4,73

Ca⁺², pektin molekülündeki negatif yükler arasında çapraz bağlama yapmakta ve bunun sonucunda pektin molekülleri arasındaki mesafe ve hareketlilik azalmaktadır. Çapraz bağlama ile moleküller arası Van der Waals kuvvetleri güçlendiği için filmin gerilme kuvveti ve çekme mukavemeti de artmaktadır. Bütün bu bilgiler ışığında Çizelge 4.6.'dan anlaşılacağı üzere yenilebilir film hazırlanmasında çapraz bağlayıcı ajanın kullanımı ile filmin mekanik özelliklerinin iyileştirilebileceği görülmektedir. Bu durum literatürdeki birçok çalışma ile örtüşmektedir [62,63,64,65]. Ancak Çizelge 4.6.'da dikkat çeken önemli bir detay, çapraz bağlayıcı ajanın filmlerin gerilme kuvveti ve çekme mukavemetini artırırken yüzde uzamanın azalmasına neden olmasıdır. Andrea ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları çalışmada çapraz bağlayıcı ajan varlığının hazırladıkları aljinant bazlı filmlerin yüzde uzamasını azalttığını tespit etmişler ve bu durumu çapraz bağlamanın filmin morfolojik yapısını değiştirerek filmin kırılma kuvvetini artırması ile açıklamışlardır [65]. Buna ek olarak yüzde uzamasının azalması, yumurta kutusu modeli ile daha güçlü yapıların oluşması ile de açıklanabilir.

4.3. Yenilebilir Filmlerin TGA ve DTG Termogramlarının Yorumlanması

Termogravimetrik analiz ile uygun bir atmosferde ısıtılan yenilebilir filmlerin kütledeki hassas değişimler belirlenmiştir. Atık limon kabuğundan hazırlanan E8 (Ek-2) kodlu yenilebilir filmine ait TGA ve DTG (diferansiyel termal gravimetrik analiz) termogramları Şekil 4.6.'da görülmektedir.



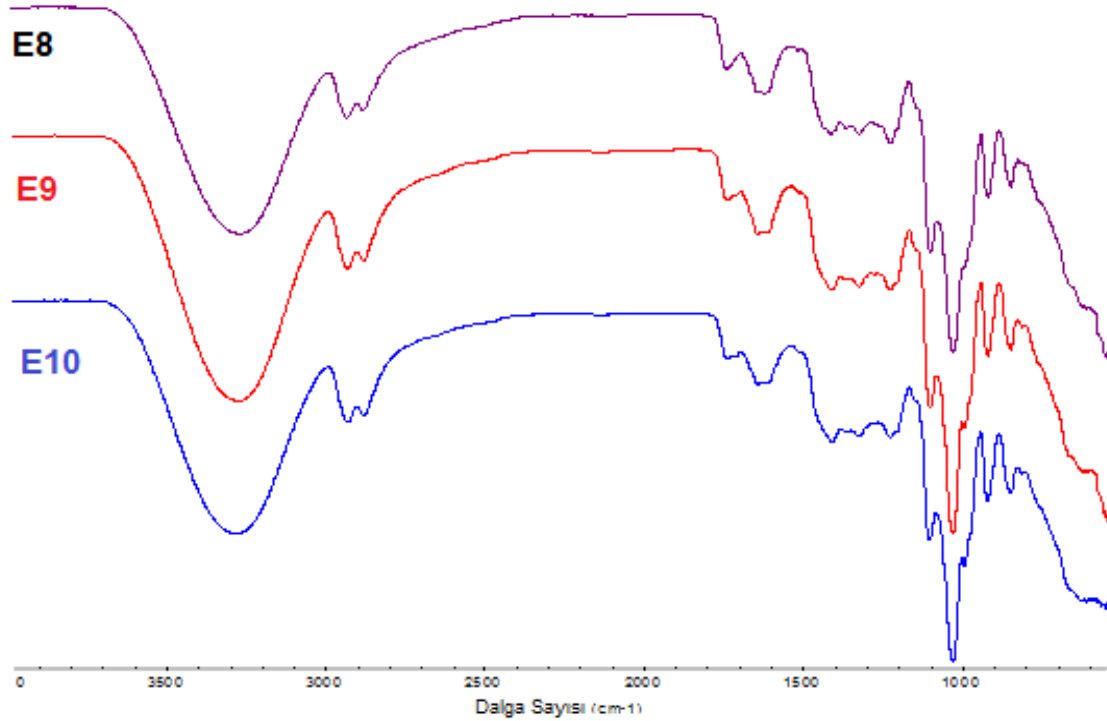
Şekil 4.6. Atık limon kabuklarından hazırlanan yenilebilir E8 kodlu filme ait TGA ve DTG termogramları

Atık limon kabuğu kullanılarak hazırlanan pektin bazlı yenilebilir E8 kodlu filmin termogramında 2 ayrı bozunma basamağı gözlemlenmiştir. Elde edilen TGA eğrisi literatürdeki yenilebilir filmlerin TGA eğrileri ile örtüşmektedir [60,61,66]. Şekil 4.6.'da görüldüğü gibi polimer düşük sıcaklıklarda yüksek viskoziteli akışkan bir kütle haline gelmekte yumuşayıp erimektedir. Bu esnada kimyasal yapıda bir değişiklik meydana gelmemektedir. Bu nedenle düşük sıcaklıklarda meydana gelen kütle kayıplarının polimerlerde absorplanmış halde bulunan uçucu bileşenlerin varlığına karşılık geldiği bulunmuştur [60,61]. Şekil 4.6.'da filmin ilk bozunma basamağında suyun buharlaşması ile görülen kütle kaybı yaklaşık % 3,68 ile % 14,23 arasında gerçekleşmektedir. Filmin ikinci bozunma basamağında ise yaklaşık 150-250 °C sıcaklık aralığında ise filmin yapısındaki anyonların uzaklaşmasıyla yapı bozunmaya başlamaktadır. İkinci kütle kaybı polisakkaritlerin bozunması ile % 45,64 ile % 66,07 arasında gerçekleşmekte ve geniş bir sıcaklık aralığında gerçekleşen bu basamakta hem fiziksel geçiş hem de termal degradasyon görülmektedir [67]. Çalışmada yenilebilir filmde suyun buharlaşması ile gerçekleşen kütle kaybı 14 iken ikinci kütle kaybının yaklaşık % 66 oranında olduğu görülmektedir. DTG termogramı ise 70 ve 220 °C' de iki endotermik pik içermektedir. Bu değerler literatürdeki pektin bazlı yenilebilir filmlerin endotermik

pik sıcaklıkları ile örtüşmektedir [68,75]. Ayrıca TGA eğrisinin türevinin alınması ile elde edilen 220.48 °C sıcaklık değeri ise yenilebilir filmin erime sıcaklığına karşılık gelmektedir. Bu sıcaklığın üzerindeki sıcaklıklarda filmin polimer yapısı tamamen bozunmuştur.

4.4. Yenilebilir Filmlerin FTIR Spektrumlarının Yorumlanması

Hazırlanan yenilebilir filmlerin yüzeylerinde bulunan fonksiyonel grupların aydınlatılması ve sentez parametrelerinin yapıya olan etkisinin belirlenmesi amacıyla Fourier Infrared Spektrofotometresi (FTIR) kullanılarak yapısal karakterizasyon gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.7.'de sırası ile E8, E9 ve E10 kodlu filmlere (Ek-2) ait FTIR spektrumları görülmektedir.



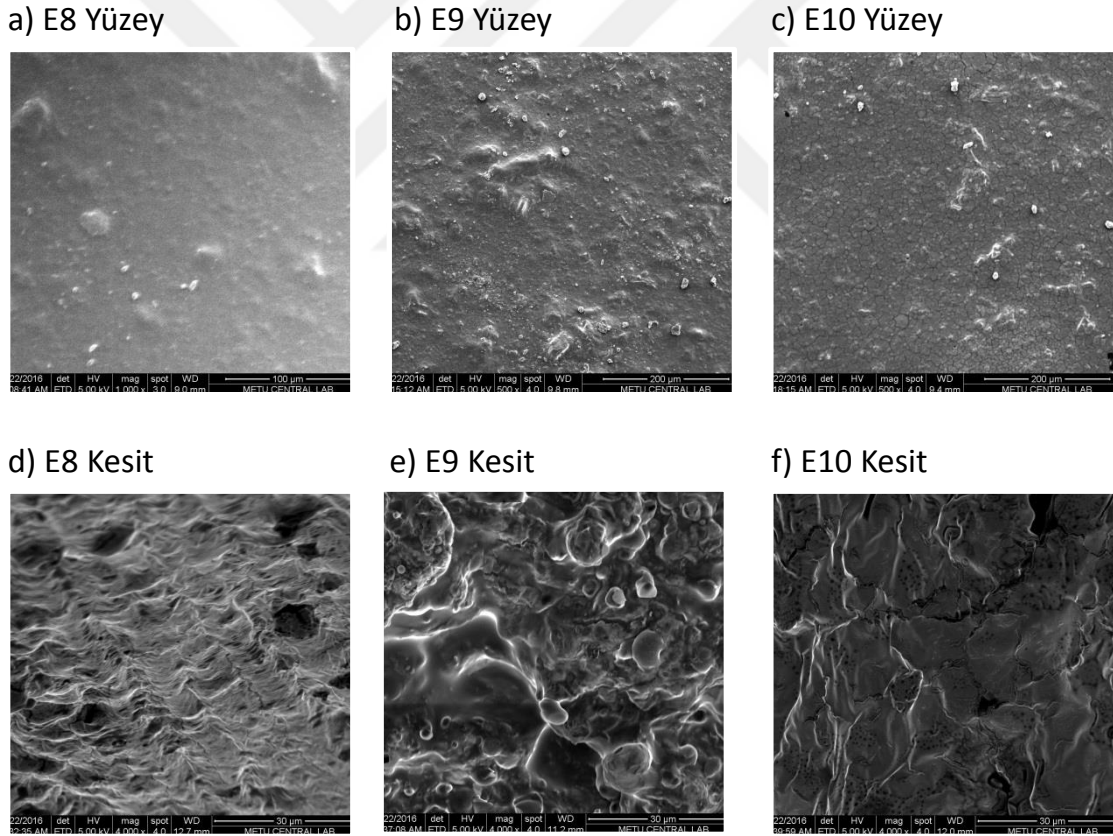
Şekil 4.7. Hazırlanan E8, E9 ve E10 kodlu yenilebilir filmlerin FTIR spektrumları

FTIR spektrumunda gözlenen 3270 cm^{-1} absorpsiyon bandı O-H, N-H ve molekül içi hidrojen bağlarının gerilme titreşimlerini göstermektedir. Spektrumdaki 2935 cm^{-1} deki pik filmin yapısında $-\text{CH}_3$ ' ün varlığının işaretidir. 1740 cm^{-1} ve 1630 cm^{-1} deki pikler ise yapıda yer alan karbonil gruplarını gösterir ki bu pikler $-\text{COO}^-$ 'nun karakteristik pikidir. Yapıda bulunan karboksilik asit ($-\text{COO}^-$) pektinin temel bileşeni olan d-galakturonik asitin varlığını işaret etmektedir [69]. Spektrumda görülen 1412 cm^{-1} ile 1227 cm^{-1} pikler C-H bağlarındaki gerilmeyi 1100 cm^{-1} pik ise ozonoid gruplarına ait C-O gerilme bantlarını göstermektedir [70]. Genel olarak

bakıldığında hazırlanan yenilebilir filmlerdeki ozonize zeytinyağı konsantrasyonları farklı olmasına rağmen filmlerin FTIR spektrumları neredeyse birebir örtüşmektedir. Bunun nedeni, sentezlenen ozonize zeytinyağının 1740 cm^{-1} , 1628 cm^{-1} ve 1100 cm^{-1} de gözlenen karakteristik piklerinin [5,6] pektine ait karakteristik pikler ile örtüşmesi olarak açıklanabilir.

4.5. Taramalı Elektron Mikroskopisi Analizi (SEM)

Limon kabuklarından hazırlanan yenilebilir filmlerin içeriğinde bulunan ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılan ozonize zeytinyağı ile çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan CaCl_2 konsantrasyonlarının filmlerin yüzey ve kesit alan morfolojilerine etkileri SEM görüntülerinden yararlanarak açıklanmaya çalışılmıştır. Kalınlıkları $97\text{-}127\text{ }\mu\text{m}$ arasında değişen E8, E9 ve E10 kodlu film örneklerinin SEM görüntüleri Sekli 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Hazırlanan yenilebilir filmlerin yüzey ve kesit yüzeylerine ait SEM görüntüleri

Şekil 4.8.'daki E8 kodlu filminin yüzey ve kesit alanına bakıldığında filmin içerisinde ozonize zeytinyağı olmasına rağmen ozonize zeytinyağına ait bir

bulguya rastlanmamış olup yüzey pürüzsüz ve uniform gözükmektedir. Aynı şekilde E9 kodlu filminin içeriğinde ozonize zeytinyağı olmasına rağmen yağa ait bir oluşum yoktur. Bu durumdan antimikrobiyal duyarlılık test kısmında bahsettiğimiz gibi çapraz bağlayıcı ajan filmin yapısındaki sülfütril gruplarını disulfid bağlarına dönüştürmekte ve ozonize zeytinyağının antimikrobiyal etkisini göstermesine engel olmaktadır [71,72]. Bu durum antimikrobiyal aktive test sonuçları ile de desteklenmektedir. Bütün bu dediklerimiz kanıtlar boyuttaki bir diğer gözlem ise içerisinde CaCl_2 bulunmayan E10 kodlu filminin yüzeyindeki siyah porlar antimikrobiyal ajan olan ozonize zeytinyağına ait bulgulardır. Aynı şekilde E10 kodlu filminin kesit alanına ait SEM görüntüsünde de ozonize zeytinyağına ait siyah por oluşumları mevcuttur [5].

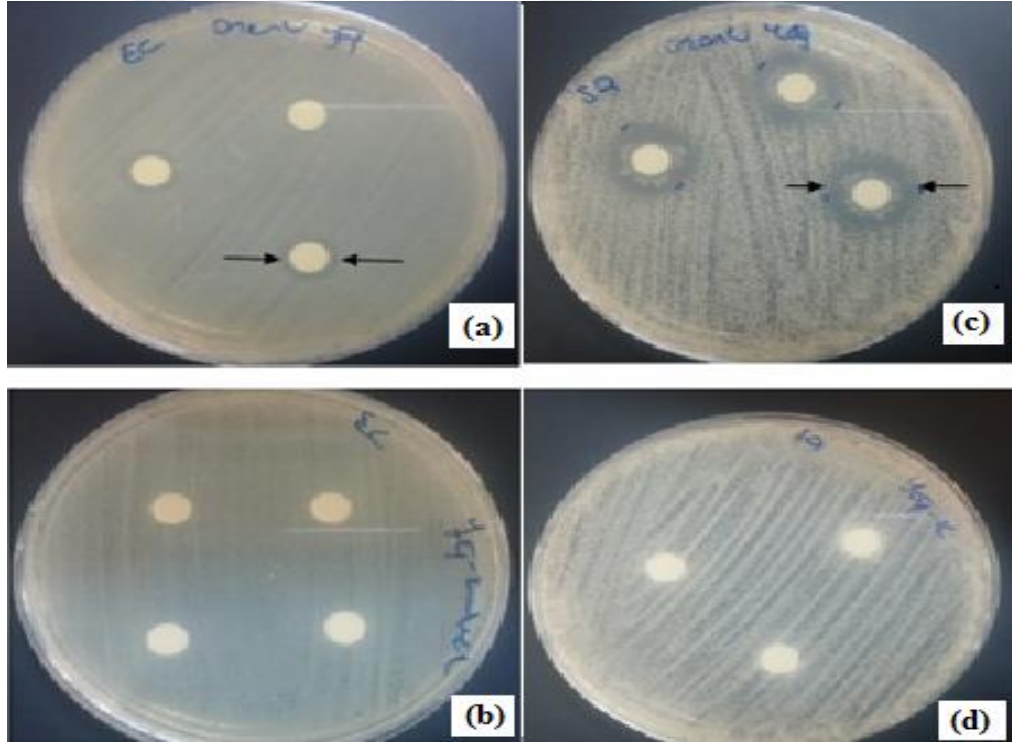
4.6. Yenilebilir Filmlerin ve Ozonize Zeytinyağının Antimikrobiyal Duyarlılık Test Sonuçları

Çalışmada kullanılan ozonize zeytinyağının ve hazırlanan yenilebilir filmlerinin antimikrobiyal duyarlılığının belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda ozonize zeytinyağı ve CaCl_2 içeren yenilebilir filmler ile saf ozonize zeytinyağının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmasında Gram (+) bakteri olarak *S. aureus* ve Gram (-) bakteri olarak da *E. coli*, kullanılmıştır. Disk difüzyon yöntemine göre inkübasyon süresi sonunda ozonize zeytinyağı emdirilmiş disk ile yenilebilir film örneklerine ait disklerin etrafında oluşan berrak zonlar, inhibisyonu yani mikroorganizmaların üremediği alanı göstermektedir (Şekil 4.9.-4.10.). Zon çapı inhibisyonun gözlemlendiği alanın çapı (disk çapı dahil) ölçülerek tanımlanmıştır. Analizlerde saf zeytinyağı emdirilen disk kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Çizelge 4.7. Ozonize zeytinyağının farklı mikroorganizmalar üzerine etkileri sonucu ölçülen inhibisyon zon çapları

Numune	İnhibisyon Zon Çapları (mm)	
	<i>S.aureus</i> (ATCC 29213)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)
Ozonize Zeytinyağı	18	11
Kontrol (Zeytinyağı)	-*	-*

-* inhibisyon zonu bulunmamaktadır



Şekil 4.9. Ozonize zeytinyağı ve saf zeytinyağı (kontrol) emdirilmiş disklerin **a,b)** *E. coli* **c,d)** *S. aureus* mikroorganizmalarına etkisi sonucu gözlenen inhibisyon zonları

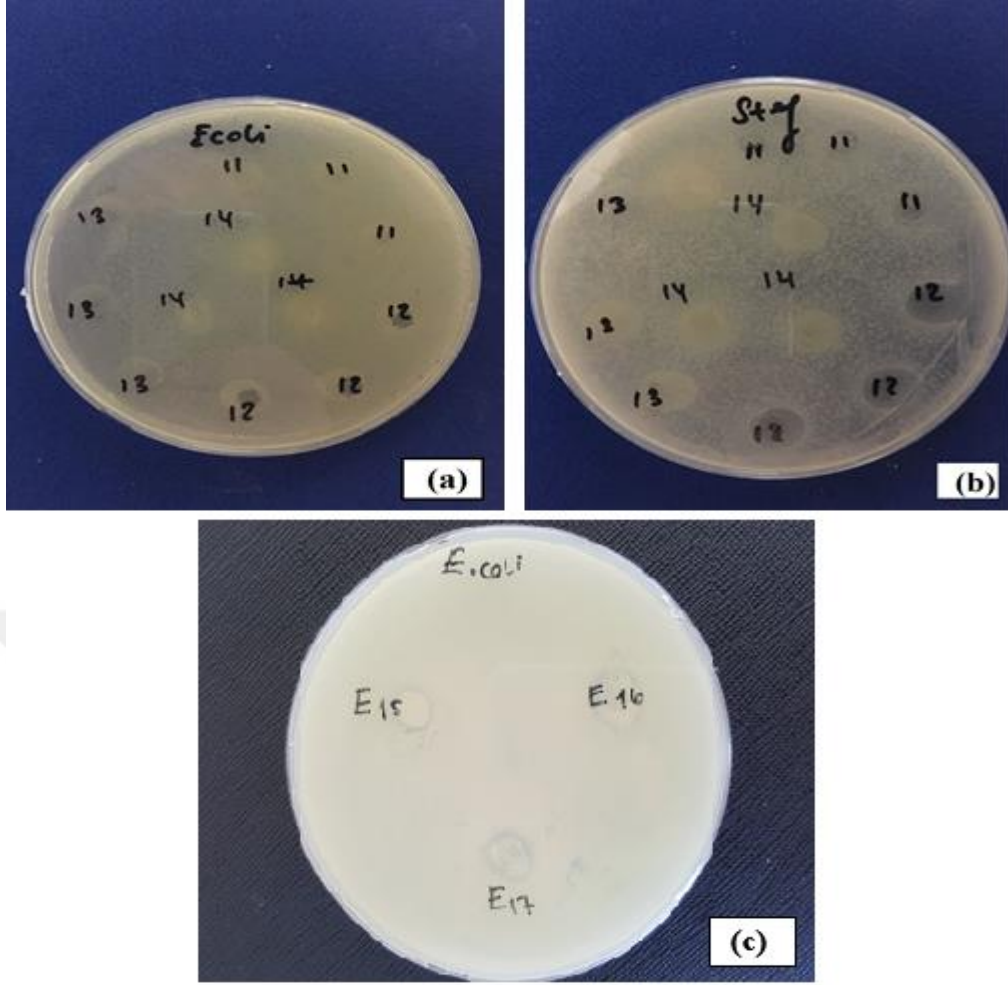
Alınan inhibisyon zon çapları ölçümlerine göre, sentezlen ozonize zeytinyağının hem Gram (+) *S.aureus* hem de Gram (-) *E.coli* mikroorganizmalarına karşı

antimikrobiyal etki gösterdiği görülmektedir. (Şekil 4.9.) Çizelge 4.7.' den görüleceği üzere ozonize zeytinyağının *S.aureus* mikroorganizmasına karşı gösterdiği inhibisyon zon çapı 18 mm iken *E. coli* mikroorganizmalarına karşı gösterdiği inhibisyon zon çapı 11 mm olarak ölçülmüştür. Çalışmalarda kontrol grubu olarak kullanılan saf zeytinyağının *S.aureus* ve *E. coli* mikroorganizmalarına karşı inhibisyon zonu oluşturmadığı dolayısıyla antimikrobiyal bir etki göstermediği tespit edilmiştir. Benzer çalışmalarda Rodrigues ve arkadaşları ozonlanmış ayçiçek yağının *S. aureus* mikroorganizmasına karşı inhibisyon zon çapını 42,4 mm, Siqueira ve arkadaşları ise inhibisyon zon çapını 14 mm olarak belirlemişlerdir [73]. Farklı bir çalışmada ise Sechi ve arkadaşları broth dilüsyon yöntemi kullanarak ozonlanmış ayçiçek yağının *S. aureus* mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir [74].

Çizelge 4.8. Yenilebilir filmlerin farklı mikroorganizmalar üzerine etkileri sonucu ölçülen inhibisyon zon çapları

Film Kodu	Ozonize Zeytinyağı Konsantrasyonu (% v/v)	CaCl ₂ Konsantrasyonu (% v/v)	İnhibisyon Zon Çapları (mm)	
			<i>S.aureus</i> (ATCC 29213)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)
E11	0,5	0	-*	-*
E12	1,5	0	-*	8 mm
E16	1,5	5	-*	5 mm
E17	1,5	0	-*	9 mm

-* inhibisyon zonu bulunmamaktadır



Şekil 4.10. Hazırlanan yenilebilir film örneklerin **a,c)** *E. coli* ve **b)** *S. aureus* mikroorganizmaları üzerine etkileri sonucu gözlenen inhibisyon zonları

Çizelge 4.8.'de görüldüğü gibi hazırlanan yenilebilir filmlerden hiçbirinin Gram (+) bir bakteri olan *S. aureus* mikroorganizmalarına karşı inhibisyon zonu oluşturmadığı dolayısıyla antimikrobiyal bir etki göstermediği filmlerden ozonize zeytinyağı konsantrasyonu 1,5 (% v/v) olan ve CaCl_2 içermeyen E12 kodlu filmin Gram (-) bir bakteri olan *E. coli* mikroorganizmasına karşı 8 mm olarak ölçülen inhibisyon çapı ile bir direnç gösterdiği görülmektedir. Khadre ve arkadaşları [48] 2001 yılında yaptıkları çalışmada Gram (+) bakterilerin, Gram (-) bakterileri ile karşılaştırıldığında ozona karşı daha fazla direnç gösterdiklerini bulmuşlardır. Bu durum, Gram (+) bakterilerin hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakasındaki N-asetil glikozaminin, pH 3-7 arasında sulu ortamda ozonla hızlı reaksiyona girerek ozonun antimikrobiyal etkisini azaltmasıyla açıklanmıştır [50]. Ayrıca ozonun antimikrobiyal etki mekanizmasına göre Gram (-) bakterilerin hücre zarında bulunan çift bağlı doymamış lipitlerden olan lipoprotein ve lipopolisakkarit

tabakalarını daha kolay etkileyerek lizis olayının gerçekleştirilmesi de bu sonucu desteklemektedir [47].

Çizelge 4.8.'de hazırlanan yenilebilir filmlerde ozonize zeytinyağı konsantrasyonu azaldıkça *S. aureus* a gösterilmeyen direnç gibi *E.coli* ye karşı da direncin görülmediği gözlenmiştir. Bu durum filmin içerisinde mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterecek yeterli miktarda ozonize zeytinyağı bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Benzer bir çalışmada Montevecchi ve arkadaşları, disk difüzyon yöntemi kullanarak farklı seyrelme oranlarında hazırlanan ozonlanmış yağın *S. aureus* ve *P. gingivalis* mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etkilerini karşılaştırmalı olarak incelemişler ve sonuç olarak ölçülen inhibisyon zon çapları karşılaştırıldığında ozonlanmış yağın düşük seyreltme oranlarındaki zon çapının yani antimikrobiyal etkisinin daha fazla olduğunu bulmuşlardır [58].

Hazırlanan yenilebilir filmlerin antimikrobiyal özelliğini etkileyen parametrelerden biri de filmin mekanik özelliklerini iyileştirmek için kullanılan çapraz bağlayıcı ajanın varlığıdır. Çizelge 4.8.' de ve Şekil 4.10.c.' de *E.coli* ye karşı direnç gösteren E16 ve E17 kodlu filmlerden $CaCl_2$ içeren E16 kodlu filmin ölçülen inhibisyon zon çapının E17 kodlu filme göre daha düşük olduğu görülmektedir. Yenilebilir filmin hazırlanması aşamasında çapraz bağlayıcının filme eklenmesi serbest sülfidril gruplarının ortaya çıkmasına neden olurken bu gruplar ısının etkisiyle moleküller arası disulfid bağlarına dönüşmektedir [20]. Kim ve arkadaşları [43] ile Moore ve arkadaşları [71] yaptıkları benzer çalışmalarda ozonun, enzim sistemindeki sülfidril gruplarının oksidasyonu (SH-'nın S-S'ye dönüşümü) mikroorganizmaların ölümüne sebep olduklarını savunmuşlardır. Çapraz bağlayıcı ajan olarak $CaCl_2$ kullanılan ozonize zeytinyağı içeren filmlerde antimikrobiyal aktivitenin baskılanması enzim yapısında yer alan sülfidril gruplarının çapraz bağlayıcı ajan varlığında disulfid bağlarına dönüşmesi ile açıklanabilir.

5. SONUÇLAR

Çalışmada, gıdaları sadece toz ve nem gibi etkenlere karşı koruyan ancak mikrobiyal bozulmayı engelleyemeyen klasik ambalaj filmlerine alternatif, antimikrobiyal özellikli yeni gıda bir ambalaj filminin hazırlanması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda çalışmanın ilk aşamasında atık limon kabuklarından pektinin elde edilmiş, ikinci aşamasında ise elde edilen pektinden yenilebilir antimikrobiyal özellikli yenilebilir filmler hazırlanmıştır.

İlk olarak limon kabuğundan elde edilen pektin için piyasada satışı sunulan ve gıda maddeleri kodeksine uygun esterleşme derecesine (% 50 üzeri) ulaşabilmek adına ekstraksiyon işlemindeki en uygun sıcaklık, süre ve parçacık boyutu belirlenerek FTIR analizleri yapılmıştır.

Buna göre alınan sonuçlar kısaca özetlenirse;

- Atık limon kabuklarından elde edilen pektinin yapısındaki galaktronik asit içeriğini ortaya çıkarmak ve pektinin jelleşme gücünü arttırmak için ekstraksiyon işleminin pH 2 ortamında HCl asit ile yapılmasına karar verilmiştir.
- Ekstraksiyon işleminde, yüksek sıcaklıkta çözücü maddenin çözücüye geçişinin düşük sıcaklığa göre daha hızlı olduğu tespit edilmesine rağmen çok yüksek sıcaklıklarda bileşenlerdeki yapısal bozunmalardan dolayı ekstraksiyon sıcaklığı 85 °C olarak belirlenmiştir.
- Kütle aktarımında çözücü faz ile ekstraktı içeren materyalin mümkün olan en geniş yüzeyde temasa girme prensibi gereği ekstraksiyon işlemindeki parçacık boyutu 150 µm olarak bulunmuştur.
- Ekstraksiyon işleminde süre 90 dakika olarak belirlenmiştir
- Ön denemeler sonucunda belirlenen uygun sıcaklık, süre ve parçacık boyutunda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen pektinin esterleşme derecesi % 61 olarak bulunmuştur.
- Çalışmada elde edilen pektinin ticari pektin ile karşılaştırılmasında FTIR analizinden faydalanılmıştır. Atık limon kabuklarından elde edilen pektinin FTIR spektrumunda 1740 cm⁻¹ (C=O) ve 1630 cm⁻¹ (-OH) dalga sayılarında gözlenen iki pik ticari pektine ait karakteristik piklerdir. Ayrıca elde edilen pektinin 1740 cm⁻¹ dalga sayısındaki absorpsiyon değerinin, 1630 cm⁻¹ dalga

sayısındaki absorbans değerinden büyük olması yüksek metoksili pektin olduğunu göstermiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında limon kabuklarından elde edilen pektinden hazırlanan yenilebilir filmler için en uygun gliserol, ozonize zeytinyağı ve CaCl_2 konsantrasyonunun belirlenmesine yönelik ön denemeler yapılmıştır. Hazırlanan filmlerin yapısal ve yüzeysel karakterizasyonunun belirlenmesinde mekanik test, TGA-DSC, FTIR ve SEM analizleri ile antimikrobiyal duyarlılık testlerinden faydalanılmıştır. Buna göre alınan sonuçlar kısaca özetlenirse;

- Yenilebilir filmlerin hazırlanmasında hammadde olarak kullanılan pektin miktarı artıkça filmin görselinde iyileşmeler olduğu tespit edilmiştir.
- Yapılan ön denemeler sonucunda plastikleştirici madde miktarının artması ile filmin hem homojen görüntüsünün hem de moleküler arası etkileşimi azalttığı için mekanik özelliklerinin olumsuz yönde etkilendiği görülerek en uygun pektin konsantrasyonun hacimce % 2 (v/v) olduğuna karar verilmiştir.
- Hazırlanan filmler için yapılan mekanik testler sonucunda yapıya antimikrobiyal ajan ilavesinin filmin mekanik özelliklerini olumsuz yönde etkilerken, çapraz bağlayıcı ajan ilavesinin yüzde uzama dışında filmin mekanik özelliklerini olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir.
- Yapılan mekanik testler sonucunda en uygun mekanik özelliklere E14 kodlu filmin sahip olduğuna karar verilmiştir. E14 filminin yüzde uzaması 41,67 kopma anındaki gerilme kuvveti 2,69 N iken çekme mukavemeti 4,73 MPa'dır. Bu değerler literatürde yer alan yenilebilir filmlerin mekanik özelliklerine benzerdir.
- Hazırlanan yenilebilir filmlerden E8 kodlu filme ait TGA eğrisinde 2 adet bozunma basamağı görülmektedir. DTG termogramında endotermik pik sıcaklıkları sırası ile 69.62 ve 220.48 °C olarak bulunmuştur.
- Çalışmada, ısı jelleşme yoluyla hazırlanan filmlerin hem fiziksel ve kimyasal özelliklerini arttırmak hem de ozonize zeytinyağının filmin içinde yapısal bozunmasını önlemek için etüvdeki kurutma sıcaklığı 40 °C olarak belirlenmiştir.
- Çalışmada antimikrobiyal ajan kullanılan ozonize zeytinyağının antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metodu kullanılarak tespit edilmiştir.

Ozonize zeytinyağının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde Gram (+) bakteri olarak *S. aureus*, Gram (-) bakteri olarak da *E. coli* mikroorganizmaları kullanılmıştır. Ozonize zeytinyağının hem *S. aureus* hem de *E. coli* e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği sırasıyla ölçülen 18 mm ve 11 mm'lik inhibisyon zon çapları ile belirlenmiştir.

- Hazırlanan yenilebilir filmlerin disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde *S. aureus* ve *E. coli* mikroorganizmaları kullanılmıştır. E11, E12, E16 ve E17 kodlu filmlerden E12, E16, E17 kodlu filmlerin *E.coli* ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiş ve sırasıyla inhibisyon zon çapları 8, 5 ve 9 mm olarak ölçülmüştür.
- İçinde ozonize zeytinyağı konsantrasyonu 0,5 (%v/v) olan E11 kodlu film *E. coli* ye karşı hiç aktivite göstermez iken içinde ozonize zeytinyağı konsantrasyonu 1,5 (%v/v) olan E12 kodlu filmin *E.coli* ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.
- Çalışmada elde edilen en önemli sonuçlardan biri de filme çapraz bağlayıcı ajan olarak eklenen CaCl_2 çözeltisinin, filme antimikrobiyal özellik kazandıran ozonize zeytinyağının etkisini azaltması olmuştur. Aynı konsantrasyonlarda ozonize zeytinyağı içeren filmlerden CaCl_2 içeren filmin *E.coli* ye karşı antimikrobiyal aktivitesinin CaCl_2 içermeyen filme göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan literatür çalışmaları sonucunda bu durumun çapraz bağlayıcı ajanın filmin yapısındaki sülfürit gruplarını disüfit bağlarına dönüştürmesinden kaynaklandığı tespit edilmiştir.
- Hazırlanan filmlerin SEM analizinde filmin mekanik özelliklerini iyileştirmek için filme çapraz bağlayıcı ajan olarak eklenen CaCl_2 un ozonize zeytinyağı varlığına ait siyah por oluşumununun görülmesini engellemiştir.

6. ÖNERİLER

Tez kapsamında atık limon kabuklarından yenilebilir film hazırlanmasında çapraz bağlayıcı ajan olarak CaCl_2 kullanılmıştır. Çalışmada çapraz bağlayıcı ajan her ne kadar filmin mekanik özelliklerini iyileştirse de, gerek antimikrobiyal duyarlılık gerekse taramalı elektron mikroskopi analizleri, CaCl_2 varlığının ozonize zeytinyağının antimikrobiyal etkisini baskıladığı sonucunu vermiştir. Yapılan literatür taramasında, pektin bazlı yenilebilir filmlerin çekme mukavemetleri ve yüzde uzamaları incelendiğinde, çapraz bağlayıcı ajan olmadan da atık limon kabuklarından hazırlanan yenilebilir filmlerin çekme mukavemetinin (0,70-10,24 MPa) ve yüzde uzamasının (%1,8-114,3) birçok uygulamada örneğin; çilek, elma, şeker pancarı, muz gibi gıdaların kaplanması için yeterli olabileceğini göstermektedir [76]. Literatürde genellikle uçucu yağlardan hazırlanan yenilebilir filmlerde çapraz bağlayıcı ajan kullanılmadığı görülmektedir [11]. Bu çalışmada atık limon kabuklarından antimikrobiyal özellikli yenilebilir film hazırlanmasında antimikrobiyal ajan olarak önerilen ozonize zeytinyağının antimikrobiyal etkisinin CaCl_2 varlığında azalmasından dolayı sodyum dodesil sülfat, tannik asit, sistein, kalsiyum klorit ve asetik asit gibi farklı çapraz bağlayıcı ajanların kullanımı ile mekanik dayanımın arttırabileceği konusunda çalışmalar yapılarak iyileştirme sağlanabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Temiz, H., Yeşilsu, A.F., Bitkisel Protein Kaynaklı Yenilebilir Film ve Kaplamalar, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 41-50, **2006**.
- [2] Şahin, O.I., Akpınar, A., *Nanokompozit Filmlerin Gıda Sanayiye Uygulanmaları*, Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, **2008**.
- [3] Kader A.A., Kasmire R.F., Mitchell F.G., Reid M.S., Sommer N.F., Thompson J.F., Postharvest Technology of Horticultural Crops: Cooperative Extension *University of California Division of Agriculture and Natural Resources Special Publication*, 3311, California, USA, 192-198, **1985**.
- [4] Güzel, M., Akpınar, Ö., Turunçgil Kabuklarından Elde Edilen Pektinlerin Karakterizasyonu ve Karşılaştırılması, *Akademik Gıda*, 15(1), 17-28, **2017**.
- [5] Günaydın, Y., *Biyoaktif, Biyobozunur Yeni Bir Yara Örtü Filmi Hazırlanması ve Karakterizasyonu*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2016**.
- [6] Günaydın, Y., Sevim, H., Tanyolaç, D., Gürpınar, A., Ozonated Olive Oil with a High Peroxide Value for Topical Applications: In-Vitro Cytotoxicity Analysis with L929 Cells, *Science & Engineering*, 40(1), 37-43, **2017**.
- [7] Han, J.H., New Technologies in Food Packaging: Overview, In: Innovations in Food Packaging, Edited by Han, J.H., *Elsevier Academic Press*, London, 3-10, **2005**.
- [8] Yam, K.L., Takhistov, P.T., Miltz, J., Intelligent Packaging: Concepts and Applications, *Journal of Food Science*, 70, 1-9, **2005**.
- [9] Keles, F., Gıda Ambalajlama İlkeleri, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları*, Erzurum, **2002**.
- [10] Kaplan, H.J., *Washing and Color Adding. In Fresh Citrus Fruits*, (eds: Wardowdki, W.F., Nagy, S., Grierson, W.), AVI Publishing Co, Westport, **1986**.
- [11] Sarıkuş, G.; *Farklı Antimikrobiyal Maddeler İçeren Yenilebilir Film Üretimi ve Kaşar Peynirinin Muhafazasında Mikrobiyal İnaktivasyonuna Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta, **2006**.

- [12] Işık, H., Dağhan, Ş., Gökmen, S., Gıda Endüstrisinde Kullanılan Yenilebilir Kaplamalar Üzerine Bir Araştırma, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 8, 26-35, **2013**.
- [13] Gökalp, H. Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö., *Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu*, 2. Baskı, Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum, **1995**.
- [14] Baldwin E.A., *Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: Past, Present and Future*, In: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, (eds: Krochta J.M., Baldwin E.A., Nisperos-Carriedo, M.O.), Technomic Publishing Company, Lancaster, 25-64, **1994**.
- [15] Dursun, S., Erkan, N., Yenilebilir Protein Filmler ve Su Ürünlerinde Kullanımı (Review), *Journal of Fisheries Science*, **2009**.
- [16] Koyuncu, M.A., Savran, H.E., Yenilebilir Kaplamalar, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(3), 73-83, **2002**.
- [17] Erkan Özden, N., *Dumanlanmış Balıkların Kalite ve Raf Ömrü Üzerine Yenilebilir Protein Film Kaplamanın Etkisi*, (eds:Oğur, S.),Türkiye Alim Kitapları, Türkiye, **2016**.
- [18] Mchugh, T.H., Krochta, J.M., Sorbitol-vs Glycerol-Plasticized Whey Protein Edible Film: Integrated Oxygen Permeability and Tensile Property Evaluation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 841-845, **1994**.
- [19] McHugh, T.H., Krochta, J.M., Dispersed Phase Particle Size Effects on Water Vapor Permeability of Whey Protein-Beeswax Edible Emulsion Films, *Journal of Food Process Preservation*, 18, 173-188, **1994**.
- [20] Mehmetoğlu, A.Ç., Yenilebilir Filmlerin ve Kaplamaların Özelliklerini Etkileyen Faktörler, *Akademik Gıda*, 8, 37-43, **2010**.
- [21] Roos, Y., Karel, M., Plasticizing Effect of Water on Thermal Behavior and Crystallization of Amorphous Food Models, *Journal of Food Science*, 56, 38-43, **1991**.
- [22] Gontard, N., Guilbert, S., Cuq, J.L., Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology, *Journal of Food Science*, 57, 190-195, **1992**.

- [23] Gontard, N., Thibault, R., Cuq, B., Guilbert, S., Influence of Relative Humidity and Film Composition on Oxygen and Carbon Dioxide Permeabilities of Edible Films, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4, 1064 -1069, **1996**.
- [24] Gennadios, A., Weller, C.L., Edible Films and Coatings From Wheat and Corn Proteins, *Food Technology and Biotechnology*, 44, 63-67, **1990**.
- [25] Slade, L., Levine, H., Polymer Chemical Properties of Gelatin in Foods, *In Advances in Meat Research*, Van Nostrand Reinhold, New York, (eds: A.M. Pearson, T.R. Dutson, AQJ Bailey), Publ.no. 251, **1987**.
- [26] Kristo, E., Koutsoumanis, K.P., Biliaderis, C.G., Thermal, Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of Sodium Caseinate Films Containing Antimicrobials and Their Inhibitory Action on *Listeria monocytogenes*, *Food Hydrocolloid*, 22, 373–386, **2008**.
- [27] Brinkley, M., Brief Survey of Methods for Preparing Protein Conjugates with Dyes, Haptens, and Cross-linking Reagents, *Bioconjugate Chemistry*, 3, 2-13, **1992**.
- [28] Avena-Bustillos, R.J., Krochta, J.M., Water Vapor Permeability of Caseinate-Based Edible Films as Affected by pH Calcium Crosslinking and Lipid Content, *Journal of Food Science*, 58, 904-907, **1993**.
- [29] Gennadios, A., Park, H.J., Weller, C.L., Relative Humidity and Temperature Effects on Tensile Strength of Edible Protein and Cellulose Ether Films. *Transactions ASAE. American Society of Agricultural Engineers*, 36, 1867-1872, **1993**.
- [30] Park, H.J., Bunn, J.M., Vergano, P.J., Testin, R.F., Gas Permeation and Thickness of the Sucrose Polyesters, Semperfresh Coatings on Apples. *Journal of Food Process Preservative*, 18, 349-358, **1994**.
- [31] Kaba, N., Duyar, H.A., Antimikrobiyal Paketleme, *Journal of Fisheries&Aquatic Sciences*, 25, 181-185, **2008**.
- [32] Han, J.H., Antimicrobial Food Packaging: Novel Food Packaging Techniques, *Food Science and Technology*, 50-70, **2003**.
- [33] Üçüncü, M., *Gıda Ambalajlama Teknolojisi 2011* <http://www.plastik-ambalaj.com/tr/plastik-ambalaj-makale/949-antimikrobiyal-ambalajlama-sistemleri>
- [34] Han, J.H., Antimicrobial Food Packaging, *Food Technology*, 54(3), 56-65, **2000**.

- [35] Appendini, P., Hotchkiss, J.H., 2002. Review of Antimicrobial Food Packaging, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3, 113-126, **2002**.
- [36] Çağrı, A., Üstünol, Z., Ryser, E.T., Inhibition of Three Pathogens on Bologna and Summer Sausage Using Antimicrobial Edible Films, *Journal of Food Science*, 67 (6), 2317-2324, **2002**.
- [37] Cha, D.S., Chinnan, M.S., Biopolymer-based Antimicrobial Packaging: A Review, *Food Science & Nutrition*, 44, 223-237, **2004**.
- [38] Ayana, B., Nazan, Turhan, K., Gıda Ambalajlanmasında Antimikrobiyal Madde İçeren Yenilebilir Filmler/Kaplamalar ve Uygulamaları, *Gıda*, 35 (2): 151-158, **2010**.
- [39] Yaman, K., Bitkisel Atıkların Değerlendirilmesi ve Ekonomik Önemi, *Orman Fakültesi Dergisi*, 12(2), 339-348, **2012**.
- [40] Arslan, N., Pektinin Fizikokimyasal Özellikleri, Üretimi ve Gıdalarda Kullanımı, *Gıda*, 19 (3) 187-192, **1994**.
- [41] Oğuzhan Yıldız, P., Yangılar, F., Ozon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları, *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1), 94-101, **2014**.
- [42] Savaş, E., Tavşanlı, H., Gökgözoğlu, İ., Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları, *Türk Tarım Gıda Bilim Teknoloji Dergisi*, 2(3), 122-127, **2014**.
- [43] Kim, J. G., Yousef, A. E., Chism, G. W., 1999. Use of Ozone to Inactivate Microorganisms on Lettuce, *Journal of Food Safety*, 19, 17-33, **1999**.
- [44] Ekici, L., Sağdıç, O., Kesmen, Z., Gıda Endüstrisinde Alternatif Bir Dezenfektan: Ozon, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 47-57, **2006**.
- [45] Kondo, F., Utoh, K., Rostamibashman, M., Sterilizing Effect of Ozone Water and Ozone Ice on Various Microorganisms, *Faculty of Agricultural and Food Science*, 36 (1), 93-98, **1989**.
- [46] Xu, L., 1999. Use of Ozone to Improve the Safety of Fresh Fruits and Vegetables, *Food Technology*, 53(10), 58-63. **1989**.

- [47] Barth, M. M., Zhou, C., Mercier, J., Payne, F. A., Ozone Storage Effects on Antocyanin Content and Fungal Growth in Blackberries, *Journal of Food Science*, 60, 1286-1288, **1995**.
- [48] Khadre, M.A., Yousef, A.E., Kim, J.G., Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review, *Journal of Food Science*, 66(9), 1242-1252, **2001**.
- [49] Mendez, F., Maier, D. E., Mason, L. J., Woloshuk, C. P., 2003. Penetration of Ozone into Columns of Stored Grains and Effects on Chemical Composition and Processing Performance, *Journal of Stored Products Research*, 39, 33-44, **2003**.
- [50] Kuşçu, A., Pazır, F., Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları, *Gıda*, 29 (2), 123-129, **2004**.
- [51] Anonim, <http://www.gidacilar.net/et-ve-et-urunleri-ambalajlama-ve-muhafaza-yontemleri/ozon-gazinin-kirmizi-et-sektorunde-kullanimi-16.html> (Mayıs, **2018**).
- [52] Kells, S. A., Mason, L. J., Maier, D. E., Woloshuk, C. P., Efficacy and Fumigation Characteristics of Ozone in Stored Maize, *Journal of Stored Products Research*, 37, 371-382, **2001**.
- [53] Çopur, Ö.U., Bir Jelleşme Maddesi Olarak Pektin, *Gıda*, 13, 253-257, **1988**.
- [54] Aburto, J., Morana, M., Galano, A., Torres-Garcia, E., Non-isothermal Pyrolysis of Pectin : A Thermochemical and Kinetic Approach, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 112, 1-402, **2015**.
- [55] Boonroad, D., Reanma, K., Niamsup, H., Extraction and Physicochemical Characteristics of Acid-Soluble Pectin from Raw Papaya (carica papaya) Peel, *Journal of Science*, 33, 129-135, **2006**.
- [56] Moonsor, M.A., Kalapathy, U., Proctor, A., Improved Method For Determination of Pectin Degree of Esterification by Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2756-2760, **2001**.
- [57] Ayana, B., *Antimikrobiyal Özellikli Yenilebilir Filmlerin Üretimi ve Özelliklerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin, **2007**.
- [58] Marco Montevicchi, A. D., Monica Cricca, Luigi Checchi, Comparison of the Antibacterial Activity of an Ozonated Oil with Chlorhexidine Digluconate and

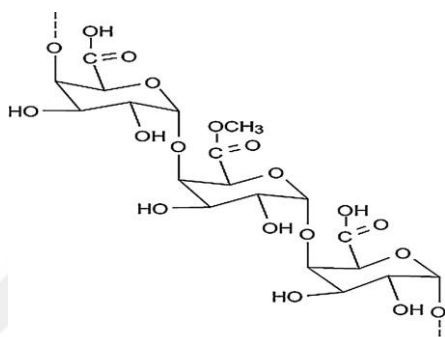
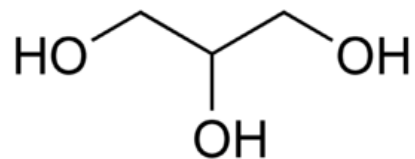
- Povidone-Iodine. A Disk Diffusion Test, *New Microbiologica*, 36, 289-302, **2013**.
- [59] Yücedağ, F., *Anti-Bakteriyel Poliüretan Film Üretimi ve Karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri, İstanbul, **2006**.
- [60] Muhammed, L., Salit, M., Mohammad, J., Mohamad, R., Japar, Sahari., Effect of Plasticizer Type and Concentration on Tensile, Thermal and Barrier Properties of Biodegradable Films Based on Sugar Palm, *Polymers*, 7, 1106-1124, **2015**.
- [61] Tezcan, F., *Aljinat/ Kil Biyopolimer Nanokompozit Filmlerin Eldesi Ve Karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri, İstanbul, **2008**.
- [62] Espitia, P. J. P., Du, W.X., Avena-Bustillos, R.J., Ferreira Soares, N.F., Tara, H.M., Edible Films from Pectin: Physical-Mechanical and Antimicrobial Properties - A review, *Food Hydrocolloids*, 35, 287-296, **2014**.
- [63] Guadalupe, I., Gustavo, V., Alginate-Calcium Films: Water Vapor Permeability and Mechanical Properties as Affected by Plasticizer and Relative Humidity, *LWT- Food Science and Technology*, 41(2), 359-366, **2008**.
- [64] Altenhofen da Silva, M., Kraus, Bierhalz, A.C., Guenter, Kieckbusch, T., Alginate and Pectin Composite Films Crosslinked with Ca²⁺ ions: Effect of the Plasticizer Concentration, *Carbohydrate Polymers*, 77(4), 736-742, **2009**.
- [65] Galus, S., Lenart, A., Development and Characterization of Composite Edible Films Based on Sodium Alginate and Pectin, *Journal of Food Engineering*, 115(4), 459-465, **2009**.
- [66] Açıkgöz, Ç., Poyraz, Z., Extraction and Characterization of Pectin Obtained From Quince, *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 12, 1302-3055, **2006**.
- [67] Andrea, C.K., Mariana, A., Mara, E.M., Hermínio, J.C., Kieckbusch, T., Effect of Calcium and/or Barium Crosslinking on the Physical and Antimicrobial Properties of Natamycin-Loaded Alginate Films, *LWT- Food Science and Technology*, 57(2), 494-501, **2014**.
- [68] Anonim, http://shodhganga.inflibnet.ac.in:8080/jspui/bitstream/10603/36798/8/08_chapter%203.pdf, Mayıs, **2018**.

- [69] Saman, T., Abolfazi, K., Study on Permeability of Bionanocomposite Film Based on Tragacanth Gum – Chitosan, *Carbohydrate Polymers*, **2015**.
- [70] Almeida, A. B., Ozonized Vegetable Oils and Therapeutic, *The Electronic Journal of Chemistry*, 4(4), 313-326, **2012**.
- [71] Moore, G., Griffith, C., Peters, A., Bacterial Properties of Ozone and Its Potential Application as a Terminal Disinfect, *Journal of Food Protect*, 63(8), 1100-1106, **2000**.
- [72] Anonim, <https://www.slideshare.net/novatifKimyaDergisi/novatif-kimya-dergisi-say2-61546921> (Mayıs, **2018**).
- [73] Rodrigues de Almeida Kogawa, N., Jose de Arruda, E., Micheletti, A. C., de Fatima Cepa Matos, M., Silva de Oliveira, L.C., Pires de Lima, D., Pereira Carvalho, N.C., Dias de Oliveira, P., de Castro Cunha, M., Ojeda, M., Beatriz, A., Synthesis, Characterization, Thermal Behavior, and Biological Activity of Ozonides from Vegetable Oils, *The Royal Society of Chemistry*, 5(80), 65427-65436, **2015**.
- [74] Sechi, L. A., Lezcano, I., Nunez, N., Espim, M., Duprè, I., Pinna, A., Molicotti, P., Fadda, G., Zanetti, S., Antibacterial Activity of Ozonized Sunflower Oil (Olozeon), *Journal of Applied Microbiology*, 90(2), 279-284, **2001**.
- [75] Einhorn, Stolla, U., Kunzeka, H., Dongowskib, G., Thermal Analysis of Chemically and Mechanically Modified Pectins, *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1101-1112, **2007**.
- [76] Otoni, C.G., Aena-Bustillos, R.J., Azeredo, M.C., Lorevice, M.V., Moura, M.R., Mattoso, L.H.C., McHugh, T.H., Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables- A review, *Food Science and Food Safety*, 16, 1151-1169, **2017**.

EKLER

EK-1

Çizelge E1. Yenilebilir filmlerin hazırlanmasında kullanılan malzemeler

Kullanım gerekçesi	Kimyasal Adı	Kimyasal Yapı
Biyopolimer	Pektin	
Plastikleştirici	Gliserol	
Çapraz bağlayıcı	Kalsiyum klorür	CaCl_2

EK-2

Atık Limon Kabuklarından Hazırlanan Yenilebilir Filmler İçin Belirlenen En Uygun Bileşen Konsantrasyonları

Çizelge E2-1. Hazırlanan filmlerin konsantrasyon değerleri ve kodları

Film Kodu	Bileşenlerin Film Çözeltisindeki Konsantrasyon Değerleri		
	Gliserol % (v/v)	Ozonize Zeytinyağı % (v/v)	CaCl ₂ (%v/v)
E1	2	1	5
E2	4	1	5
E3	6	1	5
E4	2	-	5
E5	2	0,5	5
E6	2	1	5
E7	2	1,5	5
E8	2	-	5
E9	2	0,5	5
E10	2	0,5	-
E11	2	0,5	-
E12	2	1,5	-
E13	2	-	-
E14	2	0,5	5
E15	2	3	5
E16	2	1,5	5
E17	2	1,5	0

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Ebru DOĞANGÜN BAHTİMUR
Doğum Yeri: Ankara
Medeni Hali: Evli
E-posta: mcdtebrd@gmail.com
Adres: Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü
Beytepe Ankara

Eğitim

Lise: Gazi Lisesi
Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce: Orta düzey

İş Deneyimi

2013- devam ediyor Gümrük ve Ticaret Denetmeni
Gümrük ve Ticaret Bakanlığı/ Ankara Ticaret İl
Müdürlüğü Söğütözü/ ANKARA

Deneyim Alanları

Biyoteknoloji

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi -

Tezden Üretilmiş Yayınlar -

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar -



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 02/07/2018

Tez Başlığı / Konusu: Limon Kabuklarından Antimikrobiyal Özellikli Yenilebilir Film Üretimi ve Karakterizasyonu


Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 53 sayfalık kısmına ilişkin, 30/06/2018 tarihinde ~~şahsen~~/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7 'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/~~dahil~~
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.


02.07.2018
Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Ebru DOĞANGÜN BAHTİMUR

Öğrenci No: N10323385


Anabilim Dalı: Kimya Mühendisliği

Programı:

Statüsü: Y.Lisans Doktora Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.


Prof. Dr. Deniz Tanyoç
(Unvan, Ad Soyad, İmza)