

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

**KERATİN VE KİTOSAN ÖZELLİKLİ BİYO-MATERYALLERİN
MEYVE RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİLEK KORKMAZ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Nevzat ESİM**

**İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Uğur ÇAKILCIOĞLU**

BİNGÖL-2021

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince kendisiyle çalışmaktan onur duyduğum; tez çalışmamın planlanması, yönlendirme ve hazırlanmasındaki katkıları ve bana gösterdiği sabrından dolayı danışman hocam Prof. Dr. Nevzat ESİM'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım başta Dr. Öğr. Üyesi Bülent KAYA olmak üzere, bana yol gösterip tavsiyelerde bulunan kıymetli bölüm hocalarıma,

Tez aşamasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Sultan YAZMAZ, Zeynep SEZER, Esra MESÇİ ve Sedriye ÇATKIN'a,

Çalışmalarım boyunca yaşamış olduğum tüm zorlu süreçleri beraber aştığım biricik arkadaşım Şüheda Esma GENÇ'e, dua ve desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dilek KORKMAZ

Bingöl 2021

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Protein Yapılı Yenilebilir Film Kaplama	3
1.2. Keratin	4
1.3. Lipit Yapılı Yenilebilir Film Kaplama	4
1.4. Polisakkarit Yapılı Yenilebilir Film Kaplama.....	4
1.5. Kitosan	5
1.6. Diğer Katkı Maddeleri	5
2. KAYNAK ÖZETİ.....	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1. Kullanılan Cihazlar	14
3.2. Kullanılan Kimyasal Çözeltiler ve Hazırlanması.....	14
3.2.1. Keratin Ekstraksiyonu İçin Hazırlanan Çözeltiler	14
3.2.2. Hücresel Enzim Ekstraksiyonu İçin Hazırlanan Çözeltiler	14
3.2.3. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler.....	14
3.2.4. Süperoksit Anyon Miktarının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler	15
3.2.5. Lipid Peroksidasyon Aktivitesinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler...	15
3.2.6. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler .	15

3.2.8. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler	16
3.2.9. Total Fenol İçeriği Tayini İçin Hazırlanan Çözeltiler	16
3.2.10. Total Flavanoid İçeriği Tayini İçin Hazırlanan Çözeltiler.....	16
3.3. Yöntemler	17
3.3.1. Kitosan ve Keratin elde edilmesi ve uygulamaların yapılması.....	17
3.3.2. Reaktif Oksijen Türleri Miktarının Belirlenmesi.....	18
3.3.3. Lipid Peroksidasyon Aktivitesinin Belirlenmesi	20
3.3.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	20
3.3.5. Yağ asitleri profilinin Belirlenmesi	21
3.3.6. Antioksidan Aktivite Testleri.....	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	23
4.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Seviyesi.....	23
4.1.1. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı	23
4.1.2. Süperoksit Anyonu (O ₂ ⁻) Miktarı	26
4.2. Lipid Peroksidasyon Miktarı.....	28
4.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi	31
4.3.2. Peroksidaz (POD) Enzim Aktivitesi	33
4.3.3. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi	36
4.4. Yağ Asitleri Profilinin Belirlenmesi	38
4.5. Ağırlık Kaybı	45
4.6. Antioksidan Aktivite Testleri.....	47
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	54
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	59

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

°C	: Celcius derece
CAT	: Katalaz
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
Gr	: Gram
GA	: Gallik asit
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
LPO	: Lipid Peroksidasyon
M	: Molar
MDA	: Malondialdehit
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
O ₂ ⁻	: Süperoksit anyon radikali
POD	: Peroksidaz
ROT	: Reaktif oksijen türü
SOD	: Süperoksit dismutaz
TCA	: Triklorasetik asit
TBA	: Tiyoarbutirik asit
µL	: Mikrolitre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	Standart Grafiği	18
Şekil 3.2	Süperoksit Anyon (O_2^-)	Standart Grafiği	19
Şekil 4.1.1.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç kısmında H_2O_2 Miktarı Üzerine Etkisi.....		24
Şekil 4.1.2.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısmında H_2O_2 Miktarı Üzerine Etkisi.....		25
Şekil 4.1.3.	Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde H_2O_2 Miktarı Üzerine Etkisi.....		25
Şekil 4.2.1.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısmında O_2^- Miktarı Üzerine Etkisi.....		27
Şekil 4.2.2.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısmında O_2^- Miktarı Üzerine Etkisi.....		27
Şekil 4.2.3.	Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde O_2^- Miktarı Üzerine Etkisi.....		28
Şekil 4.3.1.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısmında MDA Miktarı Üzerine Etkisi.....		29
Şekil 4.3.2.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısmında MDA Miktarı Üzerine Etkisi.....		30
Şekil 4.3.3.	Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde MDA Miktarı Üzerine Etkisi.....		30
Şekil 4.4.1.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısmında SOD Miktarı Üzerine Etkisi		32

Şekil 4.4.2.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında SOD Miktarı Üzerine Etkisi	32
Şekil 4.4.3.	Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde SOD Miktarı Üzerine Etkisi	33
Şekil 4.5.1.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısımında POD Miktarı Üzerine Etkisi	34
Şekil 4.5.2.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında POD Miktarı Üzerine Etkisi	35
Şekil 4.5.3.	Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde POD Miktarı Üzerine Etkisi.....	35
Şekil 4.6.1.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısımında CAT Miktarı Üzerine Etkisi.....	37
Şekil 4.6.2.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında CAT Miktarı Üzerine Etkisi.....	37
Şekil 4.8.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Ağırlığı Üzerine Etkisi	46
Şekil 4.9.	Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinin Ağırlığı Üzerine Etkisi	46
Şekil 4.10	Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan Gallik Asit İçin Kalibrasyon Grafiği	49
Şekil 4.11	Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan Kersetin İçin Kalibrasyon Grafiği.....	50

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1.	Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde H_2O_2 Miktarı Üzerine Etkisi.....	24
Tablo 4.2.	Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde O_2^- Miktarı Üzerine Etkisi	26
Tablo 4.3.	Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde MDA Miktarı Üzerine Etkisi	29
Tablo 4.4.	Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde SOD Miktarı Üzerine Etkisi	31
Tablo 4.5.	Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde POD Miktarı Üzerine Etkisi	34
Tablo 4.6.	Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde CAT Miktarı Üzerine Etkisi.....	36
Tablo 4.7.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısımında Uçucu Bileşen Miktarı Üzerine Etkisi	39
Tablo 4.8.	Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında Uçucu Bileşen Miktarı Üzerine Etkisi	41
Tablo 4.9.	Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde Uçucu Bileşen Miktarı Üzerine Etkisi.....	43
Tablo 4.10.	Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinin Ağırlık Kaybı Üzerine Etkisi.....	45
Tablo 4.11.	Kitosan ve Keratin Uygulanmış Muz ve Çilek Meyvelerinde Toplam Fenol İçerikleri.....	48
Tablo 4.12.	Kitosan ve Keratin Uygulanmış Muz ve Çilek Meyvelerinde Toplam Flavonoid İçerikleri.....	48

KERATİN VE KİTOSAN ÖZELLİKLİ BİYO-MATERYALLERİN MEYVE RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Bu çalışmada amaç hasat sonrası olgunlaşması artan ve bunun neticesinde raf ömrü azalan klimakterik (muz) ve klimakterik olmayan (çilek) iki farklı meyvenin kitosan ve keratin özellikli biyo-materyalin kullanılması ile olgunlaşmaları ve raf ömründeki değişimi tespit etmektir. Bu amaca ulaşmak için; olgunlaşma ile değişen ağırlık kaybı, renk değişimi, yağ asit profili, fenolik ve flavanoit içeriği, reaktif oksijen türlerinin miktarı, lipid peroksidasyon seviyesi ve antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, peroksidaz ve katalaz aktivitelerindeki değişimler incelenmiştir. Kitosan ticari bir firmadan temin edilirken keratin kaynağı olarakta koyun yünü ekstrakt edilerek elde edilmiştir. Çalışmada her iki biyo-materyal için ön denemeler yapılmış ve kitosan için %1, keratin için ise %2 konsatrasyon belirlenmiştir. Çalışmada kontrol, %1 kitosan, %2 keratin ve %1 kitosan + %2 keratin olmak üzere 4 farklı grupta çalışmalar yapılmıştır. Özellikle tek başına kitosan her iki meyve de ağırlık kaybı, MDA oranını ve reaktif oksijen türlerinin miktarlarını kontrole göre önemli derecede azaltmıştır. Lipid peroksidasyon oranlarında her iki bitkide de kitosan ve keratine bağlı olarak azalma gözlenmiştir. Reaktif oksijen türlerinden hidrojen peroksit ve süperoksit anyon seviyeleri muzda her üç uygulamada da azalırken çilekte gruplar arası farklılıklar tespit edilmiştir. Kitosan antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz aktiviteleri özellikle muz bitkisinin dış kısmında önemli oranda artarken çilek ve muz iç kısmında ise gruplar arası bazı değişimler meydana gelmiştir. Yağ asit profilinde özellikle tek başına kitosan her iki meyvede önemli oranda değişimlere neden olmuştur. Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde özellikle kitosanın raf ömrü üzerinde olumlu etkileri olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Kitosan, keratin, raf ömrü, muz, çilek, antioksidan.

THE EFFECT OF KERATIN AND CHITOSAN FEATURED BIO-MATERIALS ON FRUIT SHELF LIFE

ABSTRACT

In this study, the use of chitosan and keratin-specific bio-materials to delay ripening and extend the shelf life of climacteric (banana) and non-climacteric (strawberry) fruits, whose post-harvest maturation increases and whose shelf life decreases as a result. To achieve this aim; Weight loss, color change, fatty acid profile, phenolic substance content, flavonoid content, amount of reactive oxygen species, lipid peroxidation level and changes in antioxidant enzymes superoxide dismutase, peroxidase and catalase activities with maturation were investigated. While chitosan was procured from a commercial company, it was obtained by extracting sheep wool as a source of keratin. In the study, preliminary tests were made for both biomaterials and 1% concentrations for chitosan and 2% for keratin were determined. In the study, studies were carried out in 4 different groups as control, 1% chitosan, 2% keratin and 1% chitosan + 2% keratin. Keratin application alone significantly reduced the weight loss rate in both fruits compared to the control. Lipid peroxidation rates were decreased by chitosan and keratin in both plants. While hydrogen peroxide and superoxide anion levels, which are reactive oxygen species, decreased in all three treatments in banana, differences between groups were detected in strawberry. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities of antioxidant enzymes increased significantly especially in the outer part of the banana plant, while intergroup changes occurred in the inner part of strawberry and banana. Chitosan alone caused significant changes in the fatty acid profile of both fruits. When all the results are evaluated together, it can be said that especially chitosan has positive effects on the shelf life.

Keywords: Chitosan, keratin, shelf life, banana, strawberry, antioxidant.

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun artmasıyla beraber gıdaya olan ihtiyaç artmaktadır. Gıdanın yeterli miktarda üretilmesi kadar korunması da önemlidir. Gıdaların bozulmasını önlemek, raf ömrünü uzatmaya yönelik çalışmalar yapmak oldukça popülerdir (Yangılar ve Yıldız 2016). Taze olarak yetiştirilen sebze ve meyvelerin kayıp oranları %50'yi bulurken tüketiciye gelene kadar %25'i çürümektedir. Oluşan bu kayıplar daha çok tüketiciye gelene kadar olumsuz şartların sağlandığı için gerçekleşmektedir (Mastromatteo et al. 2010). İnsanların doğru ve sağlıklı beslenmesinin ilk basamağında sebze ve meyveler yer alır. O yüzden insan açısından oldukça önemlidir. Sebze ve meyveler canlı olduklarından solunum esnasında daima oksijen kullandıklarından karbondioksit üretirler. Aynı zamanda solunum gerçekleşirken bazı reaksiyonlarda gerçekleşir. Bu durumdan dolayı sebze ve meyveler bozulmaya başlar. Bozulmanın en belirgin nedeni su kaybıdır. Besin değerinde azalma, buruşma, sarkma, solma gibi faktörler su kaybından kaynaklanır (Bautista-Baños et al. 2017).

Günümüzde taze meyve ve sebzelerdeki kayıp oranları neredeyse %50'lilere varmaktadır. Özellikle ülkemizde birçok meyve ve sebzelerin hasattan sonra tüketiciye ulaşmadan %25'i çürümektedir. Ürünlerdeki bu kayıpların %44'ü, üretimden tüketiciye ulaşmaya kadarki aşamada birçok uygunsuz koşullardan kaynaklanmaktadır. Bu kayıp oranları dünya geneline bakıldığında ise %20 civarında olup sadece elmadaki kayıp yaklaşık 15 milyon tondur. Bu sebeplerin başında gelen en önemli etkenlerden biri olan gıda israfını azaltmak, taze meyve-sebze kayıplarını en aza indirmek ve hasat sonrası işlemlerin doğru yapılması büyük önem taşımaktadır. Yaş meyve ve sebzeler fiziksel gelişimini hasattan sonra tamamlarken, solunum ve etilen üretimi gibi devam eden metabolik olaylar, ürünlerin olgunlaşmasını hızlandırarak raf ömrünün kısalmasına neden olmaktadır (Mastromatteo et al. 2010). Genelde depolama sırasında görülen ve sonrasında pazarlama

aşamasında meyve ve sebzelerde meydana gelen ve çoğunlukla daha da artan bu kayıpların önlenmesinde yaygın olarak sentetik fungusitler kullanılmaktadır (El Ghaouth et al. 2004; Sharma et al. 2009). Fakat kullanılan yoğun sentetik fungusitler patojenlerin hızla dayanıklılık kazanmasına neden olmakla beraber ihraç edilen ürünlerde kalıntı sorunu ortaya çıkartmaktadır (Yalçın vd. 2005). Hasat sonrası depolamada meydana gelen yüksek oranda kayıpların olması ve bu kayıpları minimize etmek amacıyla kimyasal uygulamalar ile yapılan mücadele yöntemlerine kısıtlayıcı önlemler getirilmesi son zamanlarda araştırmacıları doğal uygulamalara yönlendirmeye neden olmuştur (Mari et al. 2007). Bu doğal uygulamalardan bazıları da kitosan ve keratininde içerisine alan biyo-malzemelerin kullanılmasıdır. Kitosan, β -(1-4) bağlı 2-amino-2-deoksi- β -D-glikopiranoz, asetamid gruplarının primer amino gruplarına dönüştürülmesiyle elde edilen N-deasetilenmiş bir poliaminosakkarittir (Farnandez-Kim 2004). Kitinden kitosan üretiminin bir yolu alkali ortamdan kitinin deasetilasyonu sonucu oluşturulmasıdır (Guang 2002; Olcay 2015). Kimyasal olarak selüloza benzeyen Kitin ve kitosan polisakkaridleri kendi aralarında birtakım farklılıklar da göstermektedir. Selülozda, ikinci karbon atomuna bağlı hidroksil (R-OH) grubu bulunurken, kitinde asetamid (R-NHCOCH₃), kitosanda ise amin (R-NH₂) grubu bulunmaktadır (Struszczyk et al. 2001). Fizikokimyasal özellikleri ve biyolojik işlevleri bakımından kitosanın, polimerizasyon derecelerine ve asetilasyon derecelerine güçlü bir şekilde bağımlı olduğu belirtilmiştir. Günümüzde kitosanın kullanım alanları; tıptan gıdaya, ziraattan kozmetiğe, eczacılıktan atık su arıtımına ve tekstil sektörü gibi birçok alan söylenebilir (Montazer and Afjeh 2007; Ahmed et al. 2020). Fibroz bir protein olan keratinin koyunyününün yaklaşık %96'sını ve tavuk tüyünün ise yaklaşık olarak %90'nı meydana getirdiği binmektedir. Koyunyünü ve tavuk tüyünde bulunan keratinin yüksek oranda glisin, alanin, serin, sistein ve valin aminoasitlerinin içerdiği ancak lisin, metiyonin ve triptofan aminoasitlerinin düşük olduğu ifade edilmiştir (Gessesse et al. 2003; Grazziotin et al. 2006). Protein oranı yüksek olan ancak hayvan yemi ve enzim üretimi dışında pek fazla değerlendirilmeden çevreye bırakılan koyunyünleri ve tavuk tüyleri hayvancılık sektörünün önemli atıklarındandır. Netice olarak bu atıkların doğru kaynaklar olarak kullanılamamasından kaynaklanan ekonomik zarar ve çevre kirliliği gibi olumsuz durumları doğurmaktadır. Raf ömrü kavramı; üretilen gıda ürünlerinin hemen satışa sunulmasının zor olması ve ürünlerin tüketilmesi olanaksız olması bu kavramının ortaya çıkmasına zemin hazırlamıştır. Taze halleriyle kıyaslandığında işlenmiş gıdaların sahip

olduğu düşük su aktivitesi sebebiyle daha uzun raf ömrüne sahiptir. Birçok ülkede tüketicilerin gıdaların raf ömrü konusunda bilgilendirilmesi için yasal etiketleme zorunluluğu getirilmiştir (Ashurst 2016). Bundan dolayı raf ömrü uzun olan gıdaların standart depolama koşullarında raf ömrü testlerinin yapılması pazarlama açısından uzun zaman gerektirdiği için istenmeyen bir durum olarak karşımıza çıkar. Gıda endüstrisinde depolama süresi uzun olan ürünlerde gerekli deneysel verilerin elde edilme sürecini önemli ölçüde kısaltan hızlandırılmış test tekniklerine başvurmuştur. Raf ömrünü iç ve dış faktörler olmak üzere etkileyen iki önemli faktör vardır. Bu faktörlerden olan dış faktörler ürünün paketlenmesinden itibaren geçen süreçte karşılaştığı faktörlerdir. Bunlar işlem sırasında sıcaklık-zaman profili, depolama ve dağıtım sırasında sıcaklık kontrolü, işleme, saklama ve dağıtım sırasında bağıl nem (RH), ışığa maruz kalma (UV ve IR) ve ambalaj içerisindeki atmosfer bileşimidir. Raf ömrünü etkileyen bir diğer faktör olan iç faktörler ise ham maddelerin türü ve kalitesi, ürün formülasyonu ve yapısı gibi değişkenlik gösteren parametrelerden etkilenmektedir. Mikrobiyolojik bozulma, renk, koku, lezzet ve doku değişimine neden olan kimyasal ve enzimatik aktivite, su aktivitesi, pH ve toplam asitlik gibi başlıca iç faktörler işlenmiş gıdaların bozulmasına neden olmaktadır (Kebede et al. 2015).

Gıda raf ömrünü arttırmak için belirli yöntemler kullanılır. Bu yöntemlerden biri yenilebilir film ile kaplama yöntemidir. Bu filmler gıda ile birlikte yenilebilen ve gıdanın bozulmasını engelleyen kaplamalardır. Geçmişte bu filmler sadece depo işlemlerinde ya da tüketiciye taşıma sırasında su kaybını önlemek için yapılırken şimdilerde ise gıdanın raf ömrünü azaltmak için kullanılır. Uzun süre bekleyen gıdalarda oluşan bakterilere karşı antibakteriyel etkileri bulunur. Bu özelliklerinden dolayı gıdanın daha uzun süre bozulmadan kalmasını sağlarlar. Yenilebilir film kaplamaları oluşturan birçok bileşen vardır. Bunlar protein, lipit, polisakkarit ve diğer katkı maddelerdir (Correa-Pacheco et al. 2019).

1.1. Protein Yapılı Yenilebilir Film Kaplama

Bu yapıdaki filmlerde hem hayvansal hem de bitkisel proteinler kullanılır. Protein yapılı filmlerin özellikleri proteinlerin kompozisyonundan, pH'sından, kaynağından değişebilmektedir. En önemli özellikleri hidrofilik özelliklerinin olması ve bazı

bileşenlerin transferi için bariyer oluşturmaktadır. Aynı zamanda bu filmler hangi gıda da kullanılırsa o gıdanın besin değerini artırır (Yangılar ve Yıldız 2016).

1.2. Keratin

Lifli bir protein yapısına sahip olan keratin tüy, tırnak, boynuz, saç gibi yerlerde bulunur. Ökaryotik hücrelerde bulunan sert bir yapıdır. Suda çözünmezler. Tüylerde bulunan keratinde sert ve yumuşak olmak üzere iki çeşit keratin bulunur ve protein bakımından zengindir (Dursun ve Erkan 2009). Protein bakımından zengin olması tüylerin film oluşturmada ilgi görmelerini sağlar. Kitoson filmi keratin ile birlikte oluşturulup daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Aynı ayrı değerlendirildiklerinden daha güçlü ve su kaybına karşı daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (Ramirez et al. 2017). Aynı zamanda kitosanda bulunan antimikrobiyal etki keratinle birleştirildiğinde de devam etmektedir. Kitosan dayanıklı ve sert yapısını keratine de geçirmiştir. Keratin filmlerinin suda çözünmesi diğer filmlere oranla düşüktür ve aynı zamanda kırılmandır. Bundan dolayı çeşitli işlemlerden geçerler. Keratin filmleri oluşturulurken kırılman olmasını engellemek için plastikleştiriciler, suda çözünürlüğünü arttırmak için gliserol kullanılır (Bautista-Baños et al. 2017).

1.3. Lipit Yapılı Yenilebilir Film Kaplama

Lipitlerin film kaplamada kullanılma amacı düşük polariteye sahip olmaları ve bu özelliklerinden dolayı nem kaybını önlemeleridir. Lipit yapılı film kaplamaların ana kaynağı mum ve yağ yapılı bileşiklerdir. Genellikle et ve et ürünlerinde kullanılır. Solunum reaksiyonunu azaltarak gıdanın uzun süre bozulmadan durmasını sağlar. Sebze ve meyve de küflenmeyi engellemek ve parlaklık sağlamak amacıyla kullanılabilir. Taze meyve ve sebzenin lipit yapılı filmlerle kaplanması avantajı çürüme ve kurumayı kontrol altında tutabilmeleridir (Ertugay ve Tomar 2004).

1.4. Polisakkarit Yapılı Yenilebilir Film Kaplama

Birden fazla monosakkaritin glikozit bağları ile birleşerek oluşturdukları yapılara polisakkarit denir. Yenilebilir film kaplamada kullanılmalarının nedeni polisakkaritlerin

düşük maliyette ve çok kolay elde edilmeleridir. Aynı zamanda polisakkaritlerle yapılan yenilebilir film kaplamaların en önemli özellikleri oksijen reaksiyonun yavaşlatır ve çok dayanıklıdır. Bununla birlikte su geçişine karşı dirençleri oldukça düşüktür. Bu özelliklerinden dolayı depolama işlemi esnasında ağırlığı düşürebilmek için polisakkarit yapılı yenilebilir film kaplama uygulanmaktadır (Tural vd. 2017).

1.5. Kitosan

Kitinin deasetilasyonu ile elde edilen ve genellikle eklem bacaklıların, yengeçlerin ve bazı mantar ve bakterilerin yapısında bulunan polimerdir. Selülozdan sonra doğada en bol kitosan bulunur. Antimikrobiyal bir yapıya sahiptir. N-asetilglukozamin ile glukozamin den oluşur (Torlak ve Nizamlioğlu 2011). Bunlar 1→4 glikozit bağıyla bağlıdır. Parçalanabilen, uyumlu, alerjik reaksiyon göstermeyen, yara ve kemik iyileştirici özelliklerine sahip kitosan araştırmacıların çalışma odağında olmuştur. Yapılan bazı çalışmalara göre bakterilerin çoğalmasını engelleyen kitosan hücre iç ve dış gaz alışverişini engelleyerek hücrenin işlevini bozup membranın yırtılmasına sebep olur (Correa-Pacheco et al. 2019). Bu özelliğinden ötürü gıda endüstrisinde film şeklinde kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle meyve ve sebzelerin korunması ve depolanması işlemlerinde kullanılır. Kitosandan oluşturulan bu filmler sert, dayanıklı ve yarı geçirgen olması en önemli özellikleridir. Meyve ve sebzenin bozulmasına sebep olan su kaybının olmasını kitosan filmleri engeller. Aynı zamanda solunumu, sıcaklığı ve nemi kontrol altında tutar (Mitelut et al. 2015).

1.6. Diğer Katkı Maddeleri

Diğer katkı maddeleri arasında antimikrobiyal maddeler, antioksidan maddeler, renklendiriciler, aroma vericiler ve daha birçok maddeler yer almaktadır. Bu maddeler bir araya getirilerek daha iyi sonuç veren yenilebilir film oluşturulur. Özellikle antimikrobiyal maddeler et ve et ürünlerinde kullanılır. Oluşacak mikroorganizmaların gelişmesini engelleyerek raf ömrünü uzatır. Kitosan gıda korumada kullanılan antimikrobiyal maddelerdendir (Demircan ve Ocak, 2021).

2. KAYNAK ÖZETİ

Nephelium lappaceum meyveleri üzerinde *Lactobacillus plantarum* ile kitosan kombinasyonu çalışılmıştır. 4 °C’ de 10-15 gün boyunca depolanan meyveler üzerinde kalite ve renk kalıcılığı üzerinde denenmiştir. *L. plantarum* uygulaması meyvenin renginin canlı tutmuş ve ağırlık kaybını büyük ölçüde azaltmıştır. Aynı zamanda *Lactobacillus plantarum* hem tek başına hem de kitosan ile birlikte kullanıldığında sertlik, çözünür madde ve meyve kalitesini de arttırmıştır. *Nephelium lappaceum* üzerinde denenilen *Lactobacillus plantarum* aynı zamanda bu meyvenin asitlenmesini sağlayarak esmerleşmesini engellediği ve bundan dolayı kuruma önlediği anlaşılmıştır (Martínez-Castellanos et al. 2009).

Yapılan bir çalışmada 1-metilsiklopropenin (1-MCP) ve kitosan bazlı yenilebilir kaplamalar tek başına veya kombine halinde muzlara uygulanmış ve raf ömrü üzerine etkileri araştırılmıştır. Tüm meyveler 8 gün boyunca 22 °C’de, %85 bağıl nemde depolanmıştır. Renk gelişimi, ağırlık kaybı, sıklık, fizyolojik, duyuşal ve kimyasal değışiklikler değeriendirilmiştir. 3 gün sonra kontrol ve kitosan ile muamele edilmiş muzlar tamamen sarı, 1-MCP tek başına ve kitosan ile kombinasyonu ile muamele edilmiş muzlarda ise yeşil renkler gözlenmiştir. 7 gün sonunda ise tek başına veya kitosan ile kombine edilen 1-MCP uygulanmış muzlar diğer gruplara kıyasla daha sıkı olduğu anlaşılmıştır. Tüm uygulamalarda titre edilir asitlik %0,15 azalmıştır. Yapılan duyuşal değeriendirmelerde olumsuz bir etki gözlenmemiştir. Kitosan+1-MCP’nin kombine olarak uygulanması muzların ticari ömrünü dört güne kadar uzatabileceğı bu çalışmayla anlaşılmaktadır (Baez-Sańudo et al. 2009).

Yapılan bir çalışmada yengeç ve karides kitosanı ışınlanmış ve ışınlanmamış hali ile kaplanmış mango meyvesinde hasat sonrasındaki koruma üzerine etkisi incelenmiştir. 100 kGy ve 200 kGy’ de yengeç ve karides kitosanı ışınlanma yapılmıştır. Meyveler 6 hafta boyunca 15 °C’ de ve %85 bağıl nemde depolanmıştır. Bu süreçte kitosan

kaplamaların meyve olgunlaşma davranışı, biyokimyasal ve organoleptik özellikler, hastalık insidansı üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre mango meyvesinin raf ömrünü uzatmada ışınlanmış yengeç kitosanı en etkili olduğu ve 4 haftalık depolamaya kadar yeme kalitelerini koruduğu anlaşılmıştır. Işınlanmış yengeç karidesi ile kaplanmış mangolarda kontrole kıyasla (%25) %6'lık hastalık insidansı gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre ışınlanmış kitosan kaplamalar, taze ürünlerde kaliteyi korumak ve raf ömrünü uzatmak için kullanılabileceğini göstermektedir (Abbasi et al. 2009).

Yapılan bir çalışmada %1 kitosan, %2 kitosan, 2/1 oranında kazeinat/kitosan karışımı ve esmerleşme önleyici maddeler (%1 sitrik asit, %1 1-askorbik asit, %1 CaCl_2) kombinasyon halinde elmalara uygulanarak raf ömrü üzerine etkileri iki aşama şeklinde incelenmiştir. İlk aşama, kaplama bileşimi, meyve yüzeyi, solunum hızı, su direnci ve renk üzerine yapılan kaplamaların mikro yapısal analizlerine göre seçilmiştir. İkinci aşama, hazırlanan kaplama bileşimleri elmalara uygulanarak 5 °C'de depolama sırasında etkisi incelenmiştir. Kontrol grubu olarak esmerleşme önleyici çözeltiye daldırılmış kaplanmamış numuneler kullanılmıştır. 1, 3, 7, 11 ve 14 günlük süreçte pH, sertlik, bağıl nem ve renkte meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. Tüm kaplamalar elmaların solunum hızını etkili şekilde azaltmıştır. Fakat yalnızca kazeinat/kitosan kaplı elmalarda, renk özellikleri açısından kontrole kıyaslandığında önemli ölçüde farklı olmadığı anlaşılmıştır. Bu çalışma ile kazeinat/kitosan kaplamanın elma raf ömrünü 5°C'de 7 günden 11 güne kadar çıkarabildiği anlaşılmaktadır (Volpe et al. 2017).

Bir diğer çalışmada, döküm buharlaştırma yöntemi kullanılarak hazırlanan kitosan filmler elde edilmiş ve muza uygulanmıştır. Kitosan filminin özellikleri Energy Dispersive X-Ray Fluorescence (EDXRF) ve X-Ray Diffraction (XRD) ile araştırılmıştır. Hazırlanan kitosan filmleri muza sarılmış ve oda sıcaklığında bekletilmiştir. Farklı günlerde ağırlık kaybı, pH ve kimyasal bileşenler kaydedilmiştir. Kitosan filmle kaplanmış muzlarda değişikliklerin yavaş olduğu anlaşılmıştır. Kitosan film ile sarılmış muzun raf ömrü, ambalajsız muza kıyasla önemli ölçüde artmış ve duyuşal olarak daha kaliteli görüldüğü anlaşılmıştır (Chamchoi et al. 2020).

Bir diğ er çalışmada kitosanın sucul ürünlerde raf ömrü üzerine etkisi fileto tilapia numuneleri kullanılarak incelenmiştir. 4  C’de saklanan taze ve bozulmuş tilapia filetolarındaki bakteri topluluğu çeşitliliği analiz edilmiş ve kitosanın ilgili bakteri izolatlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Taze tilapia filetolarında *Pseudomonas* (%20) ve *Aeromonas*’ın (%16) bol olduğu, bozulmuş örneklerde ise *Pseudomonas* (%52), *Aeromonas* (%32) ve *Staphylococcus* (%12) baskın olduğu bulunmuştur. Kitosan, tilapiadan elde edilen bakterilere karşı geniş spektrumlu antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur. Yapılan mikrobiyal, biyokimyasal ve duğusal değerlendirmelerde kitosan ile muamele edilmiş filetoların raf ömrünün, muamele edilmemiş kontrol numunelerine (6 gün) kıyaslandığıında 12 güne kadar uzadığı anlaşılmıştır. Bu  alışma doğal bir koruyucu olarak kitosanın, tilapia filetolarının raf  mr n n  uzatılmasında kullanım potansiyeli olduğunu göstermektedir (Cao et al. 2012).

Bir çalışmada yenilebilir propolis-kitosan nanoparçacık filmleri çileklere uygulanarak fizikokimyasal özellikleri ve antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilmiştir. Kitosan (C1), kitosan nanoparçacık (C2) ve farklı konsantrasyonlarda propolis etanolik  z t  (PE ) içeren (C3: %10, C4: %20 ve C5: %30) beş formülasyon hazırlanmıştır. Nanopartikül ilavesi ve propolis miktarı artırıldığında şişme derecesi ve suda çözünürlük azalmıştır. AFM analizinde kitosan nanoparçacık ve propolis ilavesinin film yüzeyindeki pürüzlülük değerlerini azalttığı anlaşılmıştır. Antimikrobiyal analizde propolis özütü içeren filmlerin test edilen bakterilerde inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışma yenilebilir filmlere kitosan nanoparçacık ve propolis kullanımının, bakteriyel gıda bozulmalarıyla mücadele etmek için gıda paketlemede kullanım potansiyeli olduğunu göstermektedir (Correa-Pacheco et al. 2019).

Tarım  r nlerinde *Aspergillus flavus* kaynaklı kontaminasyonlar yaygındır. Bu çalışmada antimikrobiyal aktiviteye sahip kitosan ve propolis gibi doğal  r nleri *A. flavus* ile mücadele için araştırılmıştır. Bu amaçla nanopartiküller karakterize edilerek, *in vitro* antifungal aktivite ve mantarın aflotoksin üretimine etkisi araştırılmıştır. Kitosan   zeltisi, kitosan nanopartikülleri, propolis özütü, propolis nanopartikülleri, gliserol ve kanola yağı gibi bileşenleri hazırlanarak farklı nanoform lasyonlar geliştirilmiştir.

Bu çalışma, kitosan, propolis nanopartikülleri ve propolis ekstraktıyla kombine edilen kitosan bazlı formülasyondaki bileşenlerin, *A. flavus* gelişimini ve aflotoksin üretimini inhibe ettiği bulunmuştur (Cortés-Higareda et al. 2019).

Yapılan bir çalışmada kitosan (K), propolis (P), kitosan nanopartikülü (KNP) ve propolis nanopartikülü (PNP) kullanılarak hazırlanan kaplamalar incir meyvesine uygulanmış ve olgunlaşma süreci, *A. flavus* insidansı ve aflotoksin üretimi ve meyvenin bir panel tarafından kabulü test edilmiştir. nanopartikül içeren kaplamalar, 12 günlük depolama sürecinde meyve olgunlaşmasını etkilemediği bulunmuştur. Antioksidan aktivite K + PNP + P kaplama ile %30 artmıştır. K + KNP + PNP + P kaplama ile muamele edilmiş incirlerde, mantar büyümesini %20 - %30 oranında inhibe ettiği bulunmuştur. Test edilen tüm kaplamaların aflotoksin üretimini önemli seviyede azalttığı ve duyusal kalitenin panel tarafından kabul edilebilir seviyede olduğu bulunmuştur. Yapılan bu çalışma hasat sonrası koruma ve toksik olmayan yenilebilir kaplama olarak paketlenme tesislerinde ticari olarak kullanılabileceği anlaşılmaktadır (Aparicio-Garcia et al. 2021).

Yapılan bir diğer çalışmada kitosan (K), kitosan nanopartikül (KNP) ve propolis (P) içeren yenilebilir kaplamalar hazırlanarak çilek meyvesine uygulanmıştır. Raf ömrü, kalite ve antioksidan kapasite üzerine etkisi araştırılmıştır. K (1. grup), K + %33 KNP (2. Grup), K + KNP + %10 P (3. Grup), K + KNP + %20 P (4. Grup), K + KNP + %30 P (5. Grup) kaplamaları ve kaplama uygulanmamış kontrol grubu hazırlanmıştır. Ağırlık kaybı, sertlik, toplam çözünür katılar, renk, fenoller, toplam flavonoidler, antioksidan aktivite, duyusal özellikler değerlendirilmiştir. En düşük ağırlık kaybı 3. grup çilek numunelerinde, en yüksek sertlik ise 4. grup çilek numunelerinde gözlenmiştir. 3. grup, 4. grup ve 5. grup çilek numunelerde meyvelerin antioksidan bileşikleri ve antioksidan kapasitelerini koruduğu anlaşılmıştır. Kaplamalara nanopartikül ilavesi meyvelerin duyusal özelliklerini değiştirmede bulunmuştur. Bu çalışma ile yenilebilir kaplamalara KNP ve P ilavesinin meyve kalitesi ve antioksidan kapasiteyi korumada uygun olabileceği anlaşılmaktadır (Martinez-González et al. 2009).

Bir diğer çalışmada kitosan nanopartikülleri (KNP) hazırlanmış ve taze kesilmiş ‘Gala’ elma dilimlerine uygulanarak 5 °C’de 10 gün depolama boyunca meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. Bu amaçla (1) 110 nm KNP, (2) 330 nm KNP, (3) %2 sitrik

asit içinde çözündürülmüş 2 g/L kitosan ile kaplanmış elma dilimleri ve (4) kontrol olarak kaplanmamış elma dilimleri hazırlanmıştır. Renk ve canlılıkta bir ton artış saptanmıştır. Kontrol grubu ve kitosan ile kaplanmış elmalarda esmerleşme, KNP içeren kaplamalara kıyasla daha yoğun olduğu anlaşılmıştır. 110 nm KNP içeren kaplamalarda antimikrobiyal aktivite diğer gruplara kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu çalışma taze kesilmiş elma dilimlerinde mikrobiyal aktivite kontrolü için yenilebilir kaplama olarak KNP kullanılabileceği anlaşılmaktadır (Pilon et al. 2015).

Bir diğer çalışmada, kitosan kaplamalara propolis özütü ilave edilerek ıstakoz etinin raf ömrü (16 gün) boyunca depolama kalitesini korumada etkisi araştırılmıştır. Istakozlar, propolis özütü içeren kitosan çözeltisiyle kaplanmıştır. Daha sonra 4 °C’de saklanmıştır. Istakoz örneklerinin pH, tiyobarbitürik asit, peroksit değeri, toplam uçucu bazik nitrojen ve K değerleri belirlenmiştir. Ayrıca mikrobiyal analizler ve koku, tat, sertlik gibi duyuşal özellikler açısından değerlendirilmiştir. Kitosan kaplamaya propolis ilavesi kaplamanın etkinliğini artırmıştır. Yapılan kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal analizlere göre propolis içeren kitosan kaplamayla ıstakozların 4 °C’lik depolamada kalitesi artmış ve raf ömrü kontrol grubuna kıyasla 7 gün kadar uzamıştır. Bu çalışma kaplamaya ilave edilen propolis özütünün, deniz ürünleri işleme sektöründe kullanım potansiyeli olduğunu göstermektedir (Çoban vd. 2021).

Kitosan, et, balık, süt ürünleri vb. kolay bozulabilir gıdaların kalitesini korumak ve raf ömrünü artırmak için kullanılan bir ambalaj bileşenidir. Yapılan bu çalışmada tavuk filetolarında, propolis özütü içeren kitosan kaplamaların mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal özellikleri meydana getirdiği değişiklikler araştırılmıştır. Mikrobiyal analizde, kaplamanın 4 °C’de 12 gün boyunca bakteri büyümesini önemli ölçüde engellediği belirlenmiştir. Kaplanan tavuk örneklerinde, tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri, toplam uçucu azot ve peroksit değerlerindeki artış kontrol grubuna kıyasla daha az bulunmuştur. Kaplamasız numunelerin raf ömrünün 3 gün olduğu, kitosan ve propolis uygulanmış numunelerin ise 10 günden fazla olduğu gözlemlenmiştir. Kitosan ve propolisin kombinasyonu kimyasal ve mikrobiyal özellikleri önemli ölçüde iyileştirerek gıdaların raf ömrünü artırmak için kullanılabileceği belirlenmiştir (Jonaidi Jafari et al. 2018).

Yapılan bir çalışmada polifenol içeriği yüksek olan propolis ekstresi kitosan filmlere ilave edilmiştir. Filmlerin çekme kuvveti, kopmaya olan direnci, toplam fenolik içeriği ve antiosidan aktivitesinde artış gözlenmiştir. Propolis konsantrasyonu arttıkça su buhar geçirgenliği ve oksijen geçirgenliği azalmıştır. Artan propolis konsantrasyonu ile açık sarı kontrol filmlerine kıyasla turuncu renkli filmler elde edilmiştir. Agar difüzyon tekniği kullanılarak filmlerin *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'yı inhibe etme yetenekleri araştırılmıştır. Propolis içeren kitosan filmlerde test edilen tüm bakterilere karşı inhibisyon gözlenmiştir. Kitosan filmleri propolis ile birleştirildiğinde mekanik ve bariyer özellikleri yanında antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri geliştirebilir. Propolis ilavesi filmlerin gaz ve nem bariyeri özelliklerini iyileştirmiştir. Filme eklenen belirli miktarda propolis, esneklikte artış sağlamıştır. Antioksidan aktivite ve toplam fenolik içerikte artış olmuştur. Ayrıca antibakteriyel aktivite görülmüştür. Kitosan ile propoliste bulunan polifenol ve diğer aktif bileşenler arasındaki etkileşimler, filmin özelliklerindeki değişikliklerin kaynağı olarak gösterilebilir. Geliştirilen film, gıda sektöründe geniş bir kullanım potansiyeline sahip olabilir (Siripatrawan et al. 2016).

Yapılan bir çalışmada yeşil çay özütü içeren kitosan filmler, domuz sosislerinin raf ömrünün uzatmak için aktif ambalaj olarak kullanılmıştır. Hazırlanan filmler ile sarılmış domuz sosisler ve kaplama yapılmamış domuz sosislerinin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal nitelikleri 4 °C'de depolama sürecinde değerlendirilmiştir. Koku, renk, balçık oluşumu ve genel kabul edilebilirlik gibi duyuşal özellikler Kantitatif Tanımlayıcı Analiz kullanılarak değerlendirilmiştir. Yeşil çay özü içeren kitosan filmle sarılmış numunelerde renk, doku, TBA değeri, mikrobiyal büyüme ve duyuşal özelliklerde, daha düşük değişiklikler meydana getirdiği saptanmıştır. Domuz sosislerinde lipit oksidasyonu ve mikrobiyal büyümenin etkili şekilde inhibisyonu, yeşil çay özütü içeren kitosan filmlerle mümkün olmuştur. Elde edilen verilere göre, yeşil çay ekstraktının kitosan filmlere ilavesinin, filmin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini artırarak sosislerin raf ömrünü uzatabileceği anlaşılmaktadır (Siripatrawan et al. 2012).

Yapılan bir çalışmada kitosanın modifiye polisakkaritleri kullanılarak hazırlanan kaplamalar çileklere uygulanarak depolama sırasında raf ömrünü artırmak için araştırılmıştır. İlk olarak çileklerden küf ve toplam flora izole edilerek seçilen uçucu

yağlarla anitmikrobiyal testler yapılmıştır. Kırmızı kekik (RT) ve kekik özütü (OR) çileklerden izole edilen küf ve toplam floraya karşı güçlü biyoaktif ajanlar olduğu, limon (LIM) ve nane (PM) daha düşük antimikrobiyal özellik gösterdiği bulunmuştur. Bu uçucu yağlar çileklerin üzerine püskürtülen biyoaktif bileşikler olarak kullanılmış ve 4 °C’ de depolama sürecinde raf ömrünü artırma üzerine etkisi incelenmiştir. RT, PM ve LIM 14 günlük depolama sürecinde koruyucu ajanlar olduğu anlaşılmıştır. Kitosan, hidrofobikliği artırmak, kontrollü bir salımı ve stabilizeyi sağlamak, çileğe yapışmasını geliştirmek için palmitoil klorür ile asilasyon yoluyla işlevselleştirilmiştir. Yenilebilir kaplama oluşturmak için modifiye kitosan içine LIM ve Tween ®80 ilavesi çileklerin raf ömrünü uzatmak için kullanım potansiyeli olduğunu göstermektedir (Vu et al. 2011).

Yapılan bir çalışmada, kitosan ve kitosan nanopartikülleri kullanılarak hazırlanan yenilebilir kaplamalar muz meyvesine uygulanmıştır. Uygulama sonrası oda sıcaklığında depolanan meyvelerin raf ömrünün uzatılması ve kalite üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Muzun raf ömrü, nişasta içeriği, ağırlık kaybı, posa/kabuk oranı, toplam çözünür katı içeriği, kabuk yüzey morfolojisi ve duyu parametreler analiz edilmiştir. Elde edilen veriler kitosan nanopartikülleri ve kitosan uygulamasının muzun raf ömrünü uzatabileceği ve kaliteyi koruyabileceği anlaşılmaktadır (Lustriane et al. 2018).

Çilek üzerinde yapılan bir çalışmada, *Aloe vera* (AV) jeli, muz nişastası-kitosan kullanılarak kompozit filmler hazırlanmıştır. *Aloe vera* jeli ilavesi mantar kontaminasyonunu azalttığı belirlenmiştir. Çilek raf ömrü, en yüksek AV jel konsantrasyonunda (%20) 15 güne kadar uzatılabileceği ayrıca renk, sertlik gibi özellikleri koruduğu anlaşılmıştır. Kaplama yapılmamış meyve numuneleriyle kıyaslandığında ağırlık kaybı %5 kadar azalmıştır. Elde edilen veriler nişasta ve AV jeli çapraz bağlanma etkisiyle, çileklerin raf ömrünü uzatmak ve daha kontrollü çürümesini oluşturmada kullanım potansiyeli olduğu anlaşılmaktadır (Pinzon et al. 2020).

Yenilebilir kaplama hazırlanarak yumuşak kabuklu taze fıstıkların hasat sonrası kalitesi üzerine etkisi çalışılmıştır. %0,5 asetik asit çözeltisinde çözünmüş %2 (w/v) kitosan (CT), 2 mmol/L salisilik asit (SA) ve CT-SA kombinasyonu ile çözeltiler hazırlanmış ve numuneler çözeltilere daldırılmıştır. Bu numuneler delikli polietilen tereftlat (PET) içinde paketlenerek 28 gün boyunca 4 °C’de saklanmıştır. Kaplanmış numunelerde ağırlık kaybı, peroksit, serbest yağ asidi değerleri kontrole kıyasla azalmıştır. CT ve SA ile muamele edilen fıstıklarda, daha açık (L^*), daha kırmızı (a^*) ve daha sarı (b^*) renkte olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca CT ve SA tek başına veya kombinasyon halinde bakteri ve mantar büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiği tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre SA ve CT-SA uygulaması soğuk depolamada taze fıstığın güvenliğini ve kalitesi koruyabileceği anlaşılmaktadır (Molamohammadi et al. 2020).

Endonezya’da yapılan bir çalışmada bambu kullanılarak gıda saklama odası (FSC) tasarlanmıştır ve kitosan ile kaplanmış muz numuneleri kullanılmıştır. Yeşil olgunluk seviyesindeki Cavendish muzunu, %1’lik kitosan ile kaplanarak FSC içerisine yerleştirilmiştir. Kontrol grubu olarak açık alana yerleştirilmiş kaplama uygulanmamış muzlar ve FSC içine yerleştirilmiş kaplama uygulanmamış muzlar seçilmiştir. 25 °C’de depolanan numuneler 9 gün boyunca incelenmiştir. FSC ve kitosan uygulaması yapılan muzların olgunlaşma süreci geciktirilerek raf ömrünü artırabileceği anlaşılmıştır (Pratiwi et al. 2015).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihazlar

- Spektrofotometre
- Eliza reader
- GC-MS
- Etüv
- Çeker ocak
- pH metre

3.2. Kullanılan Kimyasal Çözeltiler ve Hazırlanması

3.2.1. Keratin Ekstraksiyonu İçin Hazırlanan Çözeltiler

- 0,125 M KOH Çözeltisi için; 250 mL saf suda 28 gr KOH çözdürüldü.

3.2.2. Hücresel Enzim Ekstraksiyonu İçin Hazırlanan Çözeltiler

- 1 M KH_2PO_4 (pH:7,0) çözeltisi için; 1,36 gr KH_2PO_4 75 mL saf su içerisinde çözdürüldü ve pH:7,0 olarak ayarlandı. Daha sonra içerisine 1 gr PVP ve 0,038 gr EDTA eklenerek total hacim 100 mL'ye tamamlandı.

3.2.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Miktarının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

- %1 100 mL TCA çözeltisi için; 1 gr TCA 100 mL saf su içerisinde çözdürülerek hazırlandı.

- 10 mM 100 mL KH_2PO_4 pH:7,0 çözeltisi için; 0,0136 gr KH_2PO_4 70 mL saf su içerisinde çözüldükten sonra pH:7,0 olacak şekilde ayarlandı. pH istenilen değere ayarlandıktan sonra çözelti saf su ile 100 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.
- 1 M 50 mL KI çözeltisi için; 8,3 gr KI saf su ile toplam hacim 50 mL olacak şekilde çözdürülerek hazırlandı.
- 0,01 M 100 mL KH_2PO_4 pH:7,0 0,136 gr KH_2PO_4 70 mL saf su içerisinde çözdürülerek pH:7,0 olacak şekilde ayarlanmıştır ve daha sonra saf su ile 100 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

3.2.4. Süperoksit Anyon Miktarının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

- 65 mM KH_2PO_4 , pH:7,8 çözeltisi için; 0,884 gr KH_2PO_4 70 mL saf suda çözüldü pH:7,8'e ayarlandıktan sonra saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- 10 mM Hydroxilamine çözeltisi için; 0,0138 gr Hydroxilamine alınıp 20 mL saf suda çözdürülerek hazırlandı.
- 17 mM amonyum benzono sülfonik asit (ABSA) çözeltisi için; 0,2944 gr alındı ve 100 mL saf suda çözüldürülerek hazırlandı.
- 17 mM 1-Naftilamine çözeltisi için; 0,243 gr 1- Naftilamine alındı 10 mL asetonda çözüldükten sonra hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

3.2.5. Lipid Peroksidasyon Aktivitesinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

- %5'lik TCA (trikloroasetik asit) çözeltisi için; 200 mL saf su içerisinde 10 gr TCA çözdürüldü ve tamamen homojen bir karışım olana kadar manyetik karıştırıcıda bekletildi.
- %0,5'lik TBA (tiyobarbutirik asit) çözeltisi için; 100 mL saf su içine 20 gram TCA çözdürüldü. Hazırlanan çözelti içine 0,5 gr TBA eklenerek karışım hazırlandı.

3.2.6. Süperoksid Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

- 50 mM KH_2PO_4 (pH:7,8) çözeltisi için; 200 mL saf suda 1,7 gr KH_2PO_4 çözdürüldü ve pH:7,8'e ayarlandıktan sonra hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

- 13 mM metionin çözeltisi için; 0,485 gr metionin alınıp önceden hazırlanan KH_2PO_4 tamponu içerisine ilave edildi.
- 63 μM NBT (Nitroblue Tetrazolium Klorür) çözeltisi için; 0,0128 gr NBT alınıp önceden hazırlanan KH_2PO_4 tamponu içerisine ilave edildi.
- 0,1 mM EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik asit) çözeltisi için; 0,009 gr EDTA alınıp önceden hazırlanan KH_2PO_4 tamponu içerisine ilave edildi.
- 13 μM riboflavin çözeltisi için; 0,0012 gr riboflavin, 250 mL saf suda çözündürülerek hazırlandı.

3.2.7. Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

- 0,1 M NaH_2PO_4 , pH:5,5 çözeltisi için; 3,54 gr NaH_2PO_4 alınarak 150 mL saf suda çözöldü ve pH:5,5'e ayarlandıktan sonra 108 μL quairol ve 90 μL H_2O_2 eklenerek 4toplam hacim saf su ile 200 mL'ye tamamlandı.

3.2.8. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi İçin Hazırlanan Çözeltiler

- 103.5 mM KH_2PO_4 , pH:7,5 çözeltisi için; 2,8 gr KH_2PO_4 , 150 mL saf suda çözöldü ve pH:7,5'e ayarlandıktan sonra hacim saf su ile 200 mL'ye tamamlandı.
- 40 mM H_2O_2 çözeltisi için; 408 μL H_2O_2 alınıp hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

3.2.9. Total Fenol İçeriği Tayini İçin Hazırlanan Çözeltiler

- %2'lik Na_2CO_3 (sodyum karbonat) çözeltisi; 2 gr Na_2CO_3 alınarak hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) için; satın alındığı şekliyle kullanıldı.

3.2.10. Total Flavanoid İçeriği Tayini İçin Hazırlanan Çözeltiler

- %15'lik NaNO_2 çözeltisi için: 15 gr NaNO_2 alınarak hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- %4'lük NaOH çözeltisi için: 4 gr NaOH alınarak hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

- %10'luk AlCl_3 çözeltisi için: 10 gr AlCl_3 alınarak hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- Standart quercetin çözeltisi için; 10 mg quercetin 10 mL metanolde çözüldü.

3.3. Yöntemler

3.3.1. Kitosan ve Keratin elde edilmesi ve uygulamaların yapılması

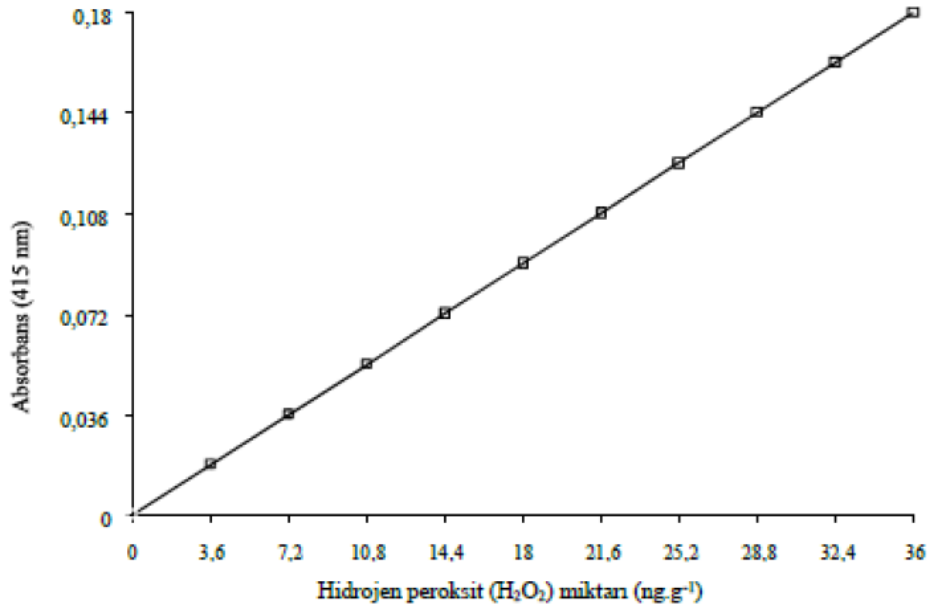
Bu araştırmada kullanılan meyvelerden biri klimakterik meyve (muz) diğeri ise non-klimakterik meyve (çilek) ticari işletmelerden elde edildi. Çalışılan meyveler fiziksel olarak sağlam, eşit büyüklükte uniform olacak şekilde seçilerek laboratuvara getirildi. Çalışmamızda meyvelere uygulanan bileşiklerin konsantrasyonları literatür bilgileri ve yapılan ön deneme çalışmalarına göre belirlendi. Buna göre çalışmada keratin özellikli atık maddeler olarak koyunyünü kullanıldı. Kitosan ise ticari firmalardan elde edildi. Keratin kaynağı olarak kullanılan yün, ilk önce musluk suyu ile daha sonrada deiyonize su ile iki kez yıkandı. Oda sıcaklığında 48 saat boyunca kurutmaya bırakıldı. Yünler Metanol- Kloroform (1/2 oranında) karışımı içerisinde 2 saat kadar oda sıcaklığında ara ara karıştırıldı, sonrasında oda sıcaklığında bekletilerek lipidlerinden arındırma işlemi yapıldı. Takiben 2 saat sonunda yünler solventten uzaklaştırılıp 48 saat boyunca kurumaya bırakıldı. Kuruyan yünden 100 gr alınarak 0,125 M KOH çözeltisi içerisine eklendi ve 48 saat +4 °C te bekletildi. 48 saat sonunda çözelti bir süzme kağıdı yardımıyla süzöldü. Daha sonra fosforik asit ile nötralleştirme işlemi yapıldı akabinde 72 saat 80 °C'de bekletildi. Kurutulmuş olan numune havanda toz haline getirildi. Yapılan ön denemeler sonunda kitosan için %1, keratin için %2 konsantrasyonları seçildi. Çalışmada kontrol, %1 kitosan, %2 keratin ve %1 kitosan + %2 keratin grupları olmak üzere 4 farklı grup kullanıldı. Çalışılan bileşiklerin %1 Kitosan, %2 Keratin, %1 Kitosan + %2 Keratin konsantrasyonları bir atomizer ile meyve üzerine püskürtöldü ve meyvelerin yüzeylerindeki ıslaklığın kuruması beklendi. Püskürtme işlemi meyve yüzeyinin tamamen ıslanması sağlanıncaya kadar yapıldı. Yüzeyleri kuruyan meyveler ortam sıcaklığı 25 °C ve nem oranı %75 olan karanlık şartlarda hasat zamanına kadar bekletildi. Kitosan çözeltileri %1 asetik asitte hazırlandığı için tek başına keratin ve kitosan gruplarında da aynı oranda asetik asit kullanıldı.

Her bir sürenin sonunda, o gruba ait meyvelerin bir kısmı kurutuldu diğer bir kısmı da biyokimyasal analizler için -80 °C koşullarında saklandı. Her bir grup için muzda 3 adet, çilekte ise 9 adet meyve kullanıldı.

3.3.2. Reaktif Oksijen Türleri Miktarının Belirlenmesi

3.3.2.1. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarının Belirlenmesi

Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi için; 0,5 gr bitki örnekleri alındı. Alınan örnekler %1'lik TCA'dan 4 mL alınarak homojenize edildi. Sonra homojenat 15'lik falkonlara alınarak 10000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi. Daha sonra elde edilen süpernatantın 0,8 mL'si alınıp, önce 10 mM KH₂PO₄ (Potasyum hidrojen fosfat) tamponundan 0,8 mL, sonra 1 M KI (Potasyum iyodür) çözeltisinden 1,6 mL eklendi. Örnekler spektrofotometrede 390 nm'de köre karşı absorbansı ölçülerek kaydedildi. Hazırlanan standart grafik yardımıyla ortalama absorbans değerleri nanogram cinsinden H₂O₂ miktarına dönüştürüldü. Sonuçlar g yaprak başına düşen H₂O₂ miktarı (ng/g-1) olarak değerlendirildi. (He et al. 2005; Esim 2011)

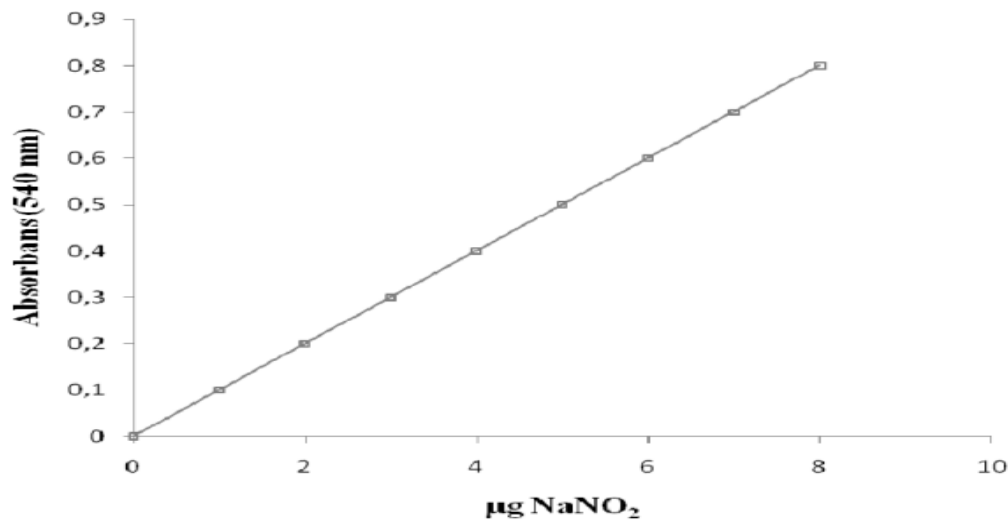


Şekil 3.1. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Standart Grafiği

H₂O₂ miktarını belirlemede kullanılan hidrojen peroksit standardı için; 1 mL H₂O₂ üzerine 9 mL distile su ilave edildi ve karışım vortexlendi. Oluşan karışımdan 1 mL alındı ve üzerine 9 mL distile su eklenerek karışım tekrar vortexlendi ve bu işlem iki kez daha tekrarlandı. Stok çözeltiden tüplere; 0, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL, 500 µL, 600 µL, 700 µL, 800 µL, 900 µL ve 1000 µL konuldu. Her tüpün hacmi 1 mL'ye tamamlanacak şekilde 0,01 M KH₂PO₄ tamponundan eklendi. Daha sonra üzerine 1 M KI çözeltisinden 1 mL ilave edilip oluşan karışım 390 nm'de absorbans köre karşı okundu. Absorbans değerlerine karşılık gelen nanogram H₂O₂ değerleri kullanılarak standart grafik oluşturuldu.

3.3.2.2. Süperoksit Anyon Miktarının Belirlenmesi

Süperoksit anyon miktarının belirlenmesi için; 0,5 gr bitki dokusu 5 mL 65 mM KH₂PO₄ pH: 7,8 tamponu ile homojenize edildi. Homojenat 10000 rpm'de +4 °C 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan süpernatanttan 1 mL, 10 mM hidroksilamin çözeltisinden 0,1 mL ve aynı fosfat tamponundan 0,9 mL alınıp karıştırıldı. Karışım 25 °C'de 20 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübe edilen karışımın 1 mL'si alınıp üzerine 17 mM ABSA'dan (aminobenzene sülfonik asit) 1 mL ve 17 mM 1-naftilamin'den 1 mL eklendi. Karışım tekrar 25 °C'de 20 dakika inkübe edildikten sonra spektrofotometrede 530 nm'de ölçüm alındı. Sonuçlar NaNO₂ standart grafiğine bakılarak değerlendirildi (Eltner and Heupel 1976; Esim 2011).



Şekil 3.2. Süperoksit Anyon (O₂⁻) Standart Grafiği

3.3.3. Lipid Peroksidasyon Aktivitesinin Belirlenmesi

0,5 gr bitki dokusu üzerine %5'lik TCA çözeltisinden 5 mL alınıp homojenize edildikten sonra falkon tüplere alındı. 10000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi. Başka bir falkon tüpe oluşan süpernatant kısmından 4 mL alındı ve üzerine %0,5'lik TBA'dan 1mL eklenerek kaynayan suda 30 dakika boyunca bekletildi. Kaynar sudan alınan örnekler buza konularak reaksiyon durduruldu ve örneklerin soğuması beklendi. Soğuyan örnekler 10000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminin ardından örneklerden spektrofotometre küvetlerine 3 mL alınıp köre karşı 532 ve 600 nm'de okuma yapıldı. MDA miktarının ölçümü için 1 ml çözeltideki MDA (nmol/ml): $[(A_{532}-A_{600})/155000] \times 10^6$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır (Ananieva et al. 2002; Esim 2011).

3.3.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.3.4.1. Hücresel Enzim Ekstraksiyonunun Belirlenmesi

Hücresel enzimlerin ekstraksiyonu için; 0,5 gr bitki dokusu üzerine 5 mL tampon çözelti (%1 PVP ve 1 mM EDTA ihtiva eden 0,1 M KH_2PO_4 pH:7,0) eklenerek homojenize edildi. Daha sonra 10000 rpm'de +4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonucunda elde edilen süpernatant, antioksidan enzimlerin aktivite ölçümleri için kullanıldı (Angelini ve Faderico 1990; Esim 2011).

3.3.4.2. Süperoksid Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesi için; 3 mL'lik reaksiyon karışımı; 50 mM KH_2PO_4 (pH:7,8), 13 mM metiyonin, 63 μ M NBT, μ M riboflavin ve 0,1 mM EDTA'dan oluşmaktadır. Spektrofotometre küvetlerine riboflavin içermeyen reaksiyon karışımından 2,58 mL alındı, üzerine 30 μ L enzim ekstraktı eklendi. Küvet içerisine 13 μ M'lık riboflavin çözeltisinden 390 μ L eklendi ve beyaz bir ışık kaynağı önünde reaksiyon başlatılarak 15 dakika bekletildi. Örnekler bekleme süresinden sonra beyaz ışık önünden alınıp reaksiyon durduruldu ve 560 nm'de köre karşı okuma yapıldı.

Süperoksit dismutaz aktivitesinin 1 ünitesi, 560 nm’de gözlenen NBT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edildi ve değerler EU/g protein olarak sunuldu (Agarwal and Pandey 2004; Esim 2011).

3.3.4.3. Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Peroksidaz (POD) aktivite tayini için; 3 mL’lik spektrofotometre küvetlerine 0,1 M NaH_2PO_4 (pH:5,5) ile guaikol ve H_2O_2 içeren substrat çözeltisinden 3 mL konuldu. Üzerine 30 μL enzim ekstraktı ilave edildi. Daha sonra örneklerin 470 nm’de 0. Ve 5. dakikalarda absorbans artışı okundu (Yee et al. 2002; Esim 2011).

3.3.4.4. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Katalaz (CAT) aktivite tayini için; 3 mL’lik spektrofotometre küvetlerine 103,5 mM KH_2PO_4 fosfat tamponundan 1,475 mL, 40 mM H_2O_2 çözeltisinden 1,5 mL ilave edildikten sonra 25 μL enzim ekstraktı eklenerek örnekler 240 nm’de 0. ve 3. dakikalarda ölçümleri alındı. Sonuçlar H_2O_2 standart grafiğine göre değerlendirildi (Esim 2011).

3.3.5. Yağ asitleri profilinin Belirlenmesi

Numunelerin uçucu yağ profili, Bingöl Üniversitesi Merkezi Laboratuvarında 2 g kuru örneklerin GC-MS cihazında Heat Space yöntemi ile analiz edilmesi sonucu elde edilmiştir.

3.3.6. Antioksidan Aktivite Testleri

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri için 5 gr bitki örnekleri üzerine 100 mL Metanol eklenerek 48 saat boyunca çalkalayıcıda bekletildi. Daha sonra evaporatör yardımıyla metanol uçurularak bitki ekstraktı elde edildi. Elde edilen bitki ekstraktlarından 2 mg alınarak 2 mL metanolde içerisinde çözündürülerek stok çözelti hazırlandı.

3.3.6.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde tayini için Folin-Ciocalteu metodu kullanıldı. Bir falkona 125 µl bitki ekstraktı, 125 µl Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edildi. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildikten sonra 125 µl %2'lik Na₂CO₃ eklendi. Hazırlanan bu karışım içerisine 875 µl saf su eklenerek tüp vortexlendi. Daha sonra 25 °C'de 90 dakika boyunca karanlıkta bekletildi ve Elisa cihazında 760 nm'de absorbanları ölçüldü.

3.3.6.2. Toplam Flavonoid Bileşiği Tayini

Toplam flavonoid tayini için 500 µl bitki ekstraktından alındı ve üzerine 60 µl NaNO₂ eklendikten sonra karışım 3 dakika boyunca vortexlendi. Vortex işlemi sonrası 30 µl AlCl₃ karışıma eklenip oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. 450 µl NaOH ve 1 mL saf su eklendikten sonra vortex işlemi yapıp 415 ve 510 nm dalga boyunda Eliza Reader cihazında okuma yapıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Seviyesi

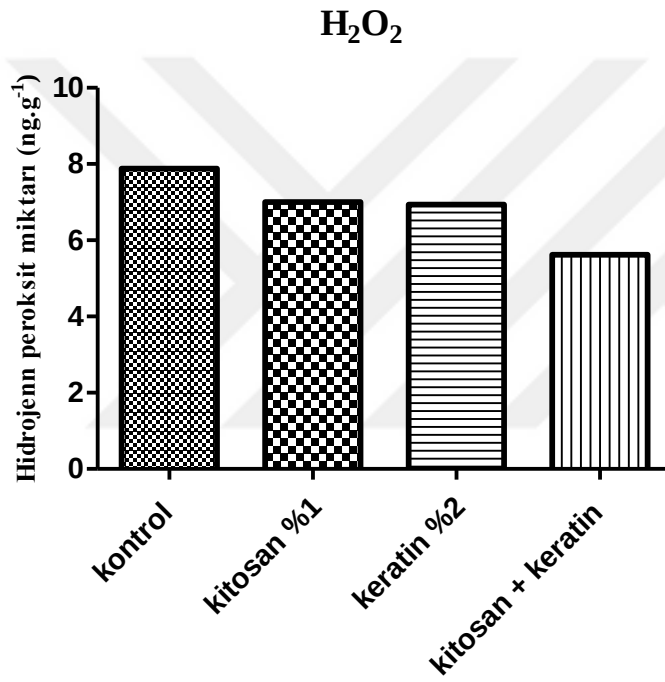
4.1.1. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarı

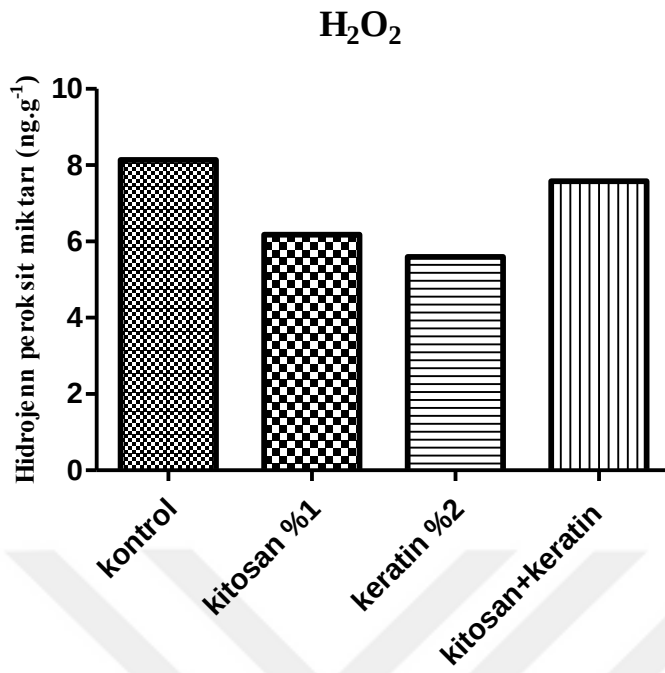
Her iki bitkide de kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarının hidrojen peroksit (H₂O₂) üzerine etkisi tablo 4.1. de belirtilmiştir. Her üç uygulamada muz meyvesinin iç-dış kısımları ve çilek meyvesinin H₂O₂ miktarında önemli azalmalara neden olmuştur. Muz meyvesinin iç kısmının kontrol grubunda H₂O₂ miktarı 7,8 ng.g⁻¹ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla 7 ve 6,94 ve 5,62 ng.g⁻¹'ye kadar azalmıştır (Tablo 4.1 ve Şekil 4.1.1). Buna göre her üç uygulama kontrolleri ile kıyaslandığında H₂O₂ miktarını sırasıyla %11,1, %11,9 ve %28,6 gibi önemli (P<0.05) oranlarda düşürmüştür. Muz meyvelerinin dış kısmında da H₂O₂ miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Muz meyvesinin dış kısmında H₂O₂ miktarı 8,14 ng.g⁻¹ olarak ölçülürken, kitosan, kreatin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla 6,18, 5,6 ve 7,58 ng.g⁻¹ ye kadar düşmüştür (Tablo 4.1 ve Şekil 4.1.2). Buna göre her üç uygulama kontrol ile kıyaslandığında muz meyvesinin dış kısmında H₂O₂ miktarını sırasıyla %24, %31,2 ve %6,8 gibi önemli (P<0.05) oranlarda düşürmüştür.

Çilek meyvesinde kontrol grubunda H₂O₂ miktarı 11,02 ng.g⁻¹ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla 9,38, 12,77 ve 19,33 ng.g⁻¹ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1 ve Şekil 4.1.3). Buna göre tek başına kitosan uygulaması kontrol ile kıyaslandığında çilek meyvesinde H₂O₂ miktarını %14,8 gibi önemli (P<0.05) oranda azaltmıştır. Ancak keratin ve kitosan + keratin uygulamaları ise çilek meyvesinde H₂O₂ miktarını sırasıyla %15,8 ve %75,4 gibi önemli oranlarda artırmıştır.

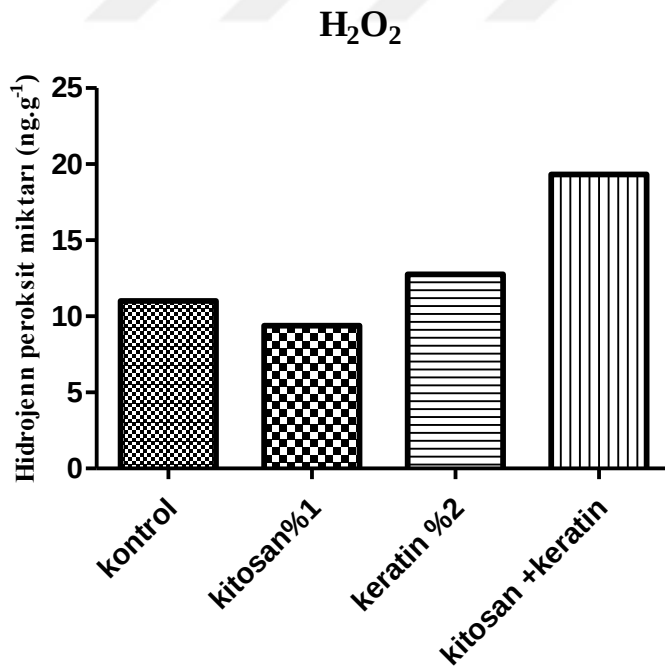
Tablo 4.1. Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde H₂O₂ miktarı üzerine etkisi

Gruplar	Muz (iç)	Muz (Dış)	Çilek
Kontrol	7,88	8,14	11,02
Kitosan (%1)	7,00	6,18	9,38
Keratin (%2)	6,94	5,60	12,77
Kitosan + Keratin	5,62	7,58	19,33

Şekil 4.1.1. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısımında H₂O₂ Miktarı Üzerine Etkisi



Şekil 4.1.2. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında H_2O_2 Miktarı Üzerine Etkisi



Şekil 4.1.3. Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde H_2O_2 Miktarı Üzerine Etkisi

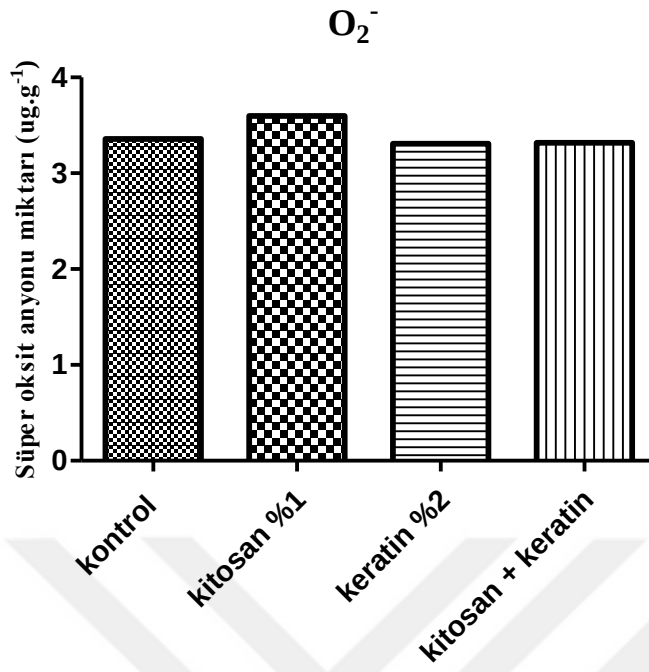
4.1.2. Süperoksit Anyonu (O_2^-) Miktarı

Her iki bitkide de kitosan, kreatin ve kitosan + keratin uygulamalarının süperoksit anyonu (O_2^-) üzerine etkisi tablo 4.2. de belirtilmiştir. Her üç uygulamada muz meyvesinin iç-dış kısımları ve çilek meyvesinin O_2^- miktarında önemli azalmalara neden olmuştur. Muz meyvesinin iç kısmının kontrol grubunda O_2^- miktarı $3,36 \mu g.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, kreatin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla 3,6, 3,31 ve 3,32 $\mu g.g^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2 ve Şekil 4.2.1). Buna göre her üç uygulama kontrolleri ile kıyaslandığında kitosan tek başına O_2^- miktarını %7,14 oranında arttırırken keratin ve kitosan + keratin uygulamaları ise O_2^- miktarını etkilememiştir. Muz meyvelerinin dış kısmında da O_2^- miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Muz meyvesinin dış kısmında O_2^- miktarı $5,91 \mu g.g^{-1}$ olarak ölçülürken, kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla 4,62, 4,31 ve 4,38 $\mu g.g^{-1}$ ye kadar düşmüştür (Tablo 4.2 ve Şekil 4.2.2). Buna göre her üç uygulama kontrol ile kıyaslandığında muz meyvesinin dış kısmında O_2^- miktarını sırasıyla %21,8, %27 ve %25,8 gibi önemli ($P<0.05$) oranlarda düşürmüştür.

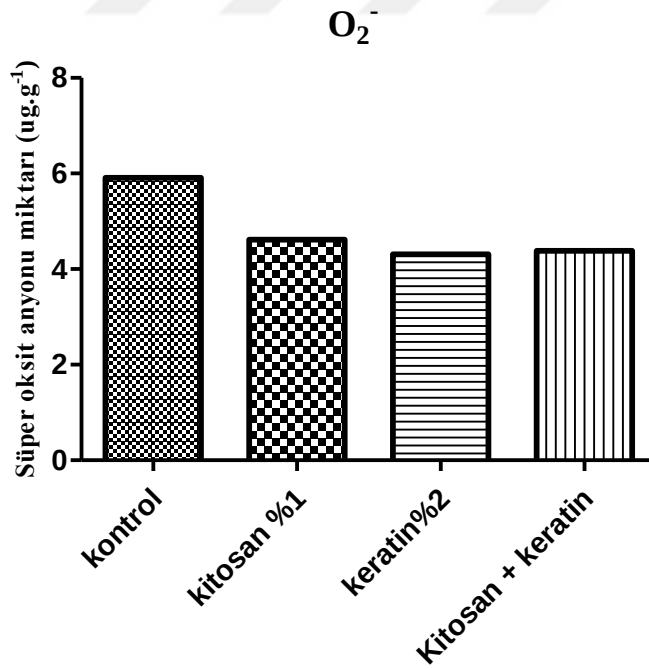
Çilek meyvesinde kontrol grubunda O_2^- miktarı $5,2 \mu g.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, kreatin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla 4,53, 6,23 ve 5,88 $\mu g.g^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2 ve Şekil 4.2.3). Buna göre tek başına kitosan uygulaması kontrol ile kıyaslandığında çilek meyvesinde O_2^- miktarını %12,8 gibi önemli ($P<0.05$) oranda azaltmıştır. Ancak keratin ve kitosan + keratin uygulamaları ise çilek meyvesinde O_2^- miktarını sırasıyla %19,8 ve %13 gibi önemli oranlarda artırmıştır.

Tablo 4.2. Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde O_2^- Miktarı Üzerine Etkisi

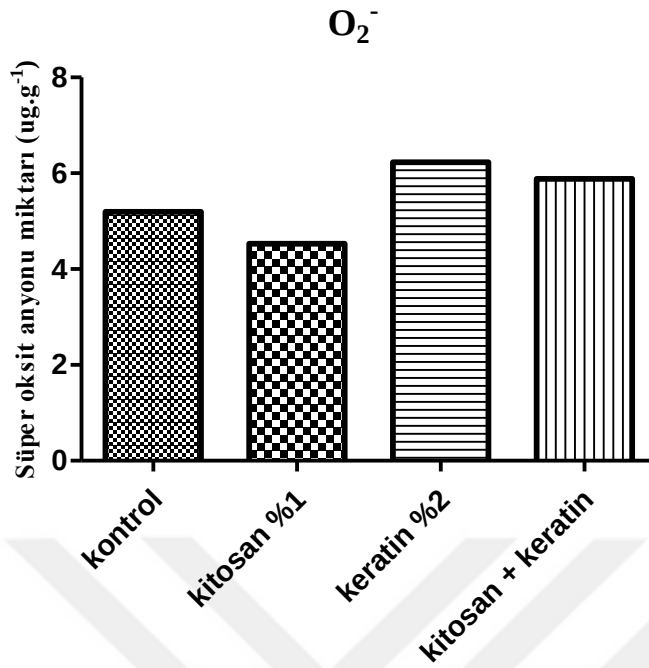
Gruplar	Muz (iç)	Muz (Dış)	Çilek
Kontrol	3,36	5,91	5,20
Kitosan (%1)	3,60	4,62	4,53
Keratin (%2)	3,31	4,31	6,23
Kitosan + Keratin	3,32	4,38	5,88



Şekil 4.2.1. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısımında O_2^- Miktarı Üzerine Etkisi



Şekil 4.2.2. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında O_2^- Miktarı Üzerine Etkisi



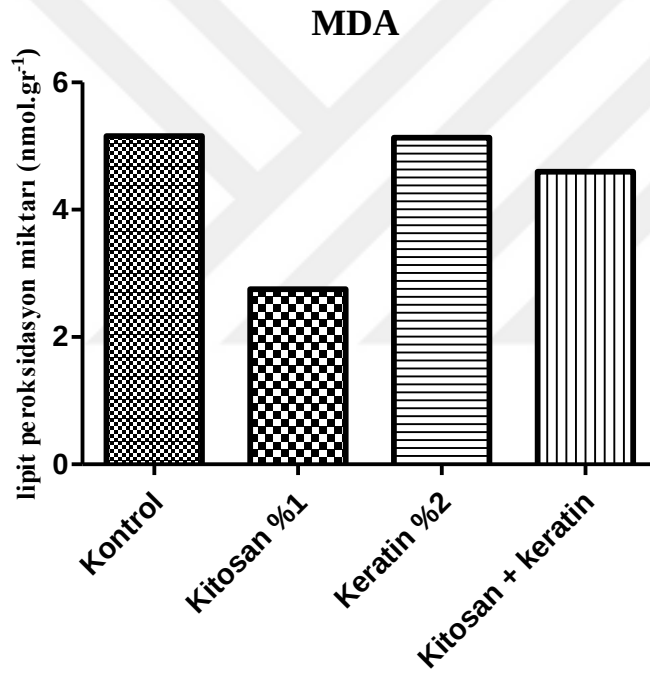
Şekil 4.2.3. Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde O_2^- Miktarı Üzerine Etkisi

4.2. Lipid Peroksidasyon Miktarı

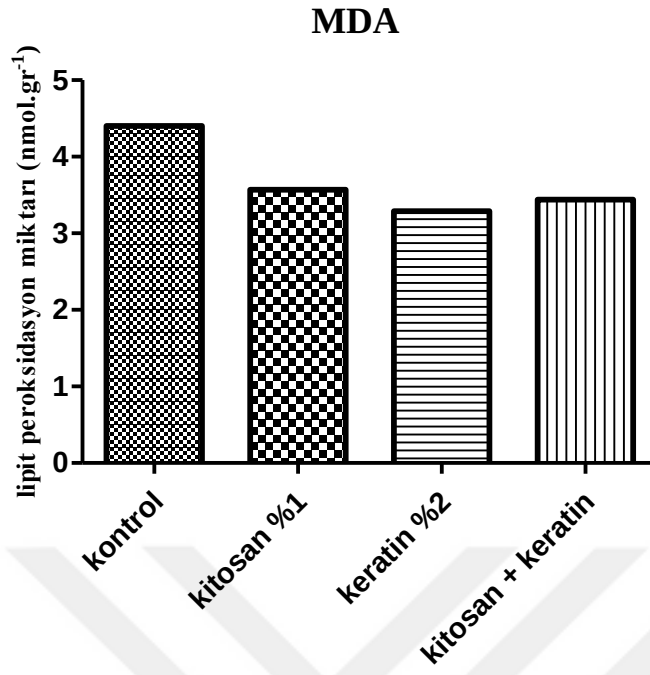
Bu çalışmada kullanılan muz ve çilek meyvelerinde kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarında lipid peroksidasyon seviyeleri Tablo 4.3. de belirtilmiştir. Muz meyvesinde uygulamalar sonrasında yenilen kısmı (muz-iç) ve kabuğu (muz-dış) ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Tablo 4.3. ve şekil 4.3.1. e göre muz- iç kısmında hem kitosan hem de kitosan + kreatin uygulamaları lipid peroksidasyonun bir indikatörü olan malondialdehid (MDA) içeriğini sırasıyla %46,8 ve %10,8 gibi önemli oranlarda azaltırken tek başına keratin uygulaması ise MDA içeriğini kontrole göre etkilememiştir. Muz dış kısmında ise kitosan, keratin ve kitosan + keratinin her üç uygulaması da kontrole göre MDA'yı sırasıyla %18,8, %25,2 ve %21,8 gibi önemli oranlarda azaltmıştır (Tablo 4.3 ve Şekil 4.3.2). Çilek meyvesinde ise MDA içeriğini tek başına kitosan uygulaması %6,5 oranında azaltırken keratin ve kitosan + keratin uygulamaları (Tablo 4.3 ve Şekil 4.3.3).

Tablo 4.3. Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde MDA Miktarı Üzerine Etkisi

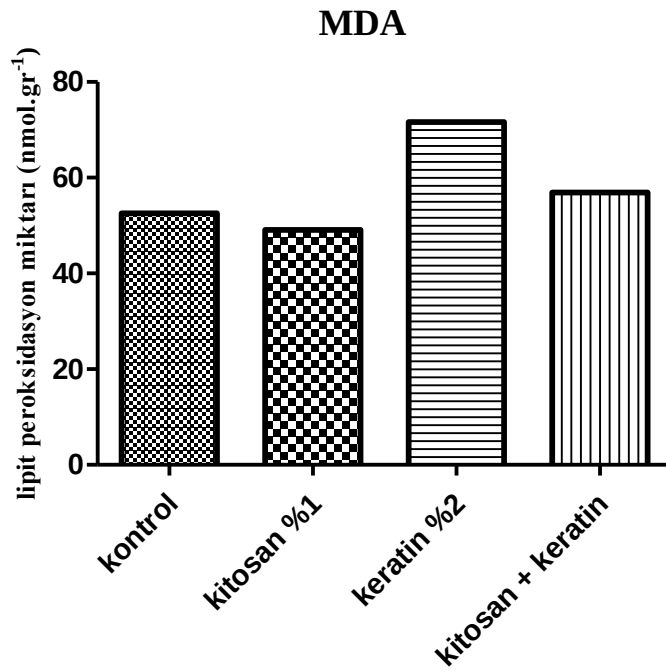
MDA (nmol/g)			
Gruplar	Muz (iç)	Muz (Dış)	Çilek
Kontrol	5,16	4,40	52,55
Kitosan (%1)	2,75	3,57	49,13
Keratin (%2)	5,13	3,29	71,66
Kitosan + Keratin	4,60	3,44	56,88



Şekil 4.3.1. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısımında MDA Miktarı Üzerine Etkisi



Şekil 4.3.2. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında MDA Miktarı Üzerine Etkisi



Şekil 4.3.3. Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde MDA Miktarı Üzerine Etkisi

4.3. Antioksidan Enzimler

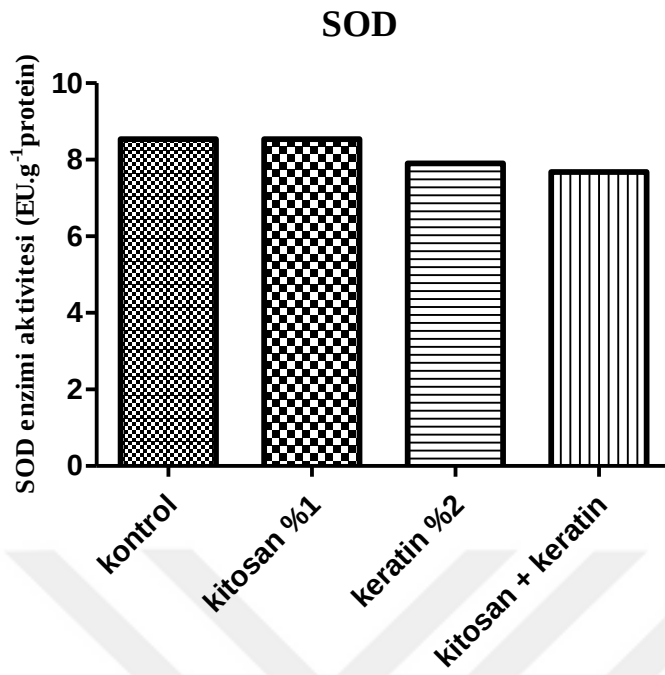
4.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi

Her iki meyve çeşidinde de kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarının süperoksit dismutaz (SOD) enzimi üzerine etkisi tablo 4.4. de belirtilmiştir. Muz iç kısmının kontrol grubunda SOD aktivitesi $8,54 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla $8,54$, $7,90$ ve $7,68 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.4 ve Şekil 4.4.1). Buna göre kitosan SOD aktivitesini kontrole göre etkilemezken keratin ve kitosan + keratin ise aktiviteyi sırasıyla %7,4 ve %10 gibi önemli ($P<0.05$) oranlarda azaltmıştır. Muz dış kısmının kontrol grubunda SOD aktivitesi $7,17 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla $7,71$, $6,94$ ve $7,19 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Buna göre kitosan SOD aktivitesini kontrole göre %7,5 oranında artırırken diğer iki uygulama ise SOD aktivitesini etkilememiştir (Tablo 4.4 ve Şekil 4.4.2).

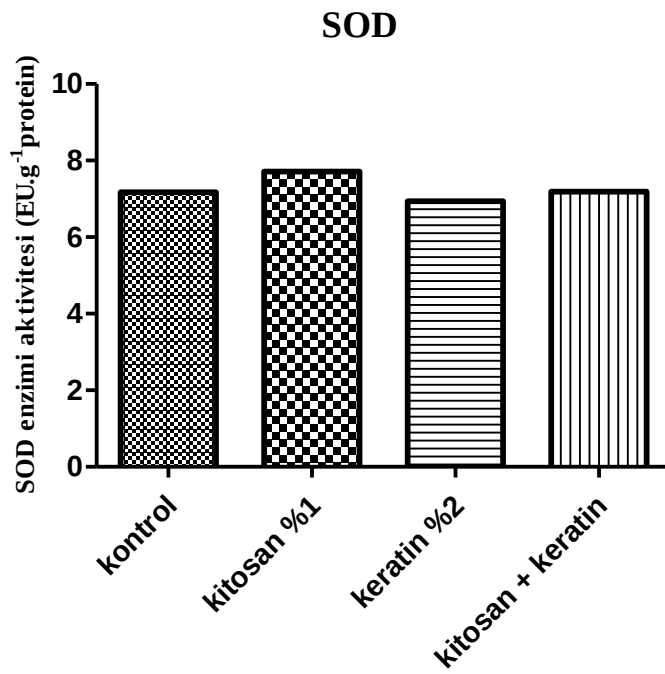
Çilek meyvesinin kontrol grubunda SOD aktivitesi $2,34 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla $2,68$, $3,68$ ve $2,56 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.4 ve Şekil 4.4.3). Buna göre kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamaları SOD aktivitesini kontrole göre sırasıyla %14, %57,2 ve %9,4 gibi önemli ($P<0.05$) oranlarda arttırmıştır.

Tablo 4.4. Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde SOD Miktarı Üzerine Etkisi

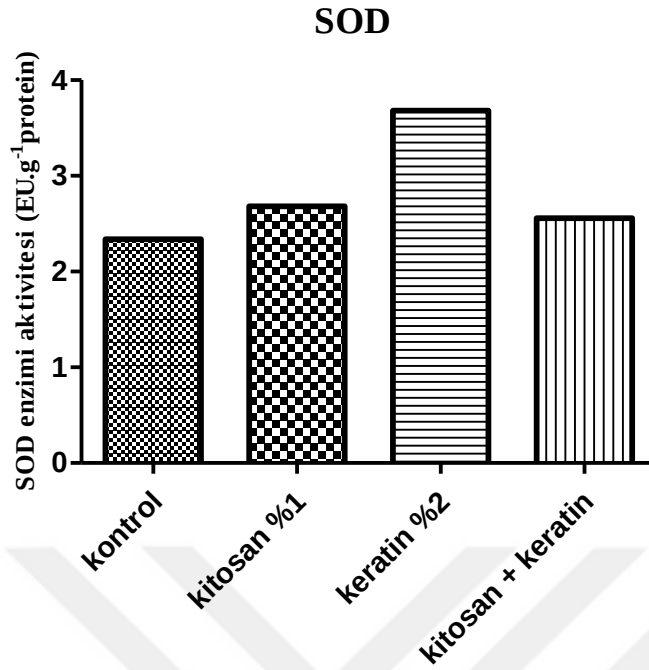
SOD (EU/g doku)			
Gruplar	Muz (iç)	Muz (Dış)	Çilek
Kontrol	8,54	7,17	2,34
Kitosan (%1)	8,54	7,71	2,68
Keratin (%2)	7,90	6,94	3,68
Kitosan + Keratin	7,68	7,19	2,56



Şekil 4.4.1. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısımında SOD Miktarı Üzerine Etkisi



Şekil 4.4.2. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında SOD Miktarı Üzerine Etkisi



Şekil 4.4.3. Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde SOD Miktarı Üzerine Etkisi

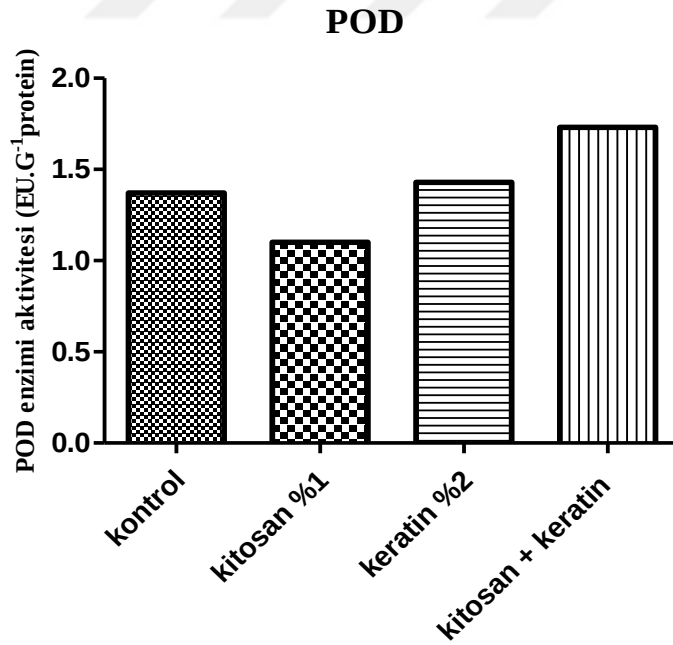
4.3.2. Peroksidaz (POD) Enzim Aktivitesi

Her iki meyve çeşidinde de kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarının peroksidaz (POD) enzimi üzerine etkisi tablo 4.5. de belirtilmiştir. Muz iç kısmının kontrol grubunda POD aktivitesi $1,37 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla 1,1, 1,43 ve $1,73 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5.1). Buna göre tek başına keratin POD aktivitesini kontrole göre etkilemezken kitosan ve kitosan + keratin ise aktiviteyi sırasıyla %19,7 ve %26,2 gibi önemli ($P < 0.05$) oranlarda artırmıştır. Muz dış kısmının kontrol grubunda POD aktivitesi $10,87 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla 15,4, 12,63 ve $12,43 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Buna göre kitosan, keratin ve kitosan + keratin SOD aktivitesini kontrole göre sırasıyla %41,6, %16,1 ve %14,3 oranlarında artırmıştır (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5.2).

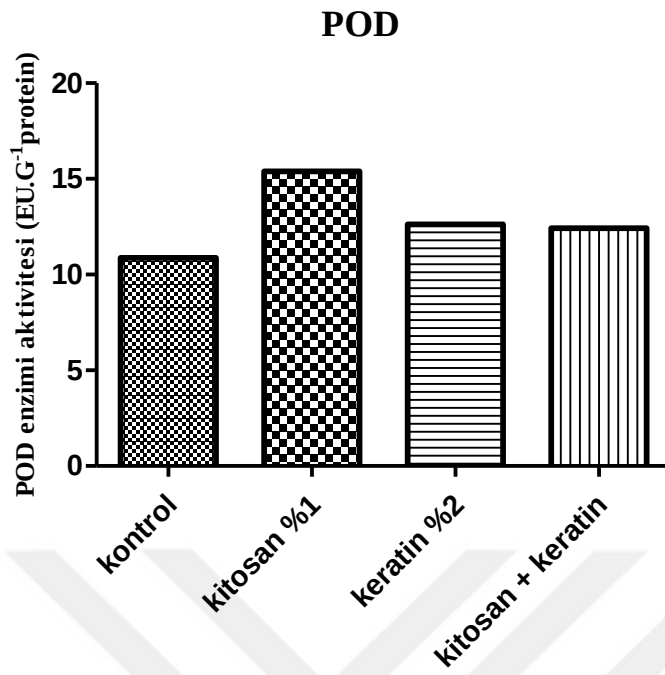
Çilek meyvesinin kontrol grubunda POD aktivitesi $0,13 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla $0,13$, $0,0$ ve $0,03 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5.3). Buna göre kitosan POD aktivitesi etkilemezken, kreatin ve kitosan + keratin uygulamaları POD aktivitesini kontrole göre sırasıyla %100 ve %76 gibi önemli ($P<0.05$) oranlarda azaltmıştır.

Tablo 4.5. Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde POD Miktarı Üzerine Etkisi

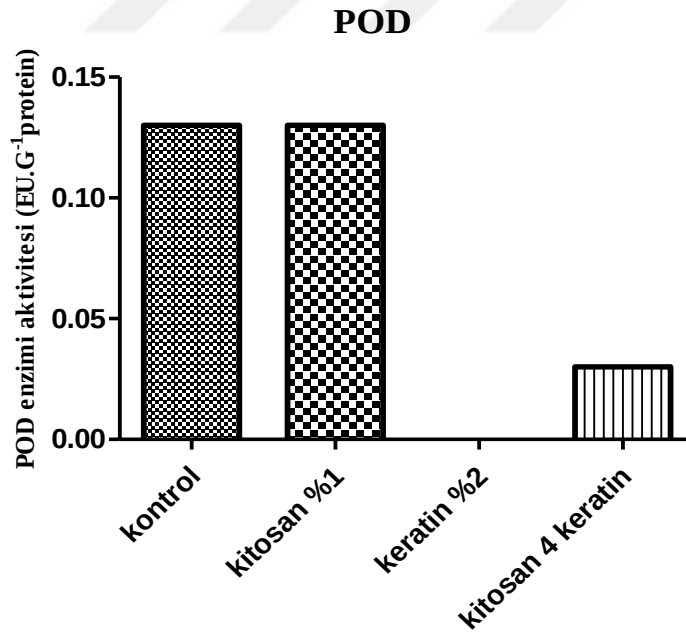
POD (EU/g doku)			
Gruplar	Muz (iç)	Muz (Dış)	Çilek
Kontrol	1,37	10,87	0,13
Kitosan (%1)	1,10	15,40	0,13
Keratin (%2)	1,43	12,63	0,00
Kitosan + Keratin	1,73	12,43	0,03



Şekil 4.5.1. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısımında POD Miktarı Üzerine Etkisi



Şekil 4.5.2. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında POD Miktarı Üzerine Etkisi



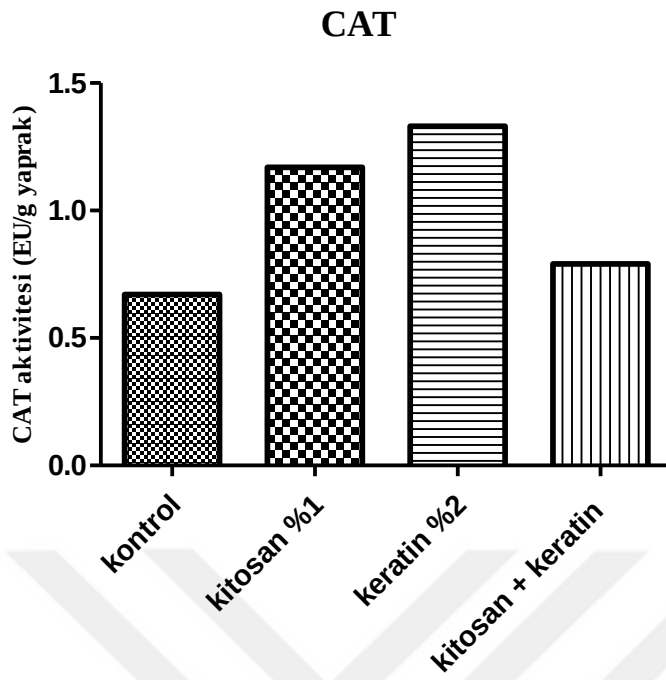
Şekil 4.5.3. Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde POD Miktarı Üzerine Etkisi

4.3.3. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi

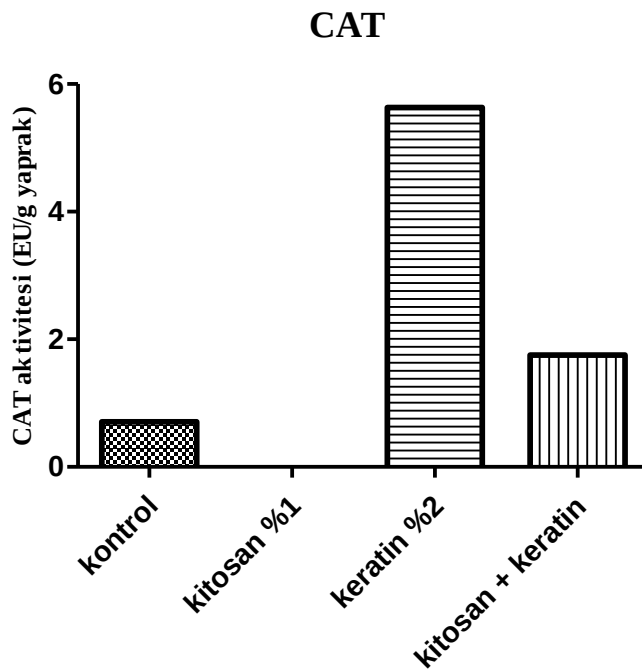
Her iki meyve çeşidinde de kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarının katalaz (CAT) enzimi üzerine etkisi tablo 4.6. de belirtilmiştir. Muz iç kısmının kontrol grubunda CAT aktivitesi $0,67 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla 1,17, 1,33 ve $0,79 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4.6 ve Şekil 4.6.1). Buna göre CAT aktivitesi kontrole göre kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamaları aktiviteyi sırasıyla %74,6 %98,5 ve %17,9 gibi önemli ($P<0.05$) oranlarda artırmıştır. Muz dış kısmının kontrol grubunda CAT aktivitesi $0,71 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarıyla sırasıyla 0,0, 5,63 ve $1,75 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Buna göre keratin ve kitosan + keratin CAT aktivitesini kontrole göre çok önemli oranlarda artırmıştır (Tablo 4.6 ve Şekil 4.6.2). Çilek meyvesinin kontrol grubunda CAT aktivitesi $0,08 \text{ EU.g}^{-1}$ olarak ölçülürken, kitosan, kreatin ve kitosan + keratin uygulamalarında ise tespit edilmemiştir.

Tablo 4.6. Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinde CAT Miktarı Üzerine Etkisi

CAT (EU/g doku)			
Gruplar	Muz (iç)	Muz (Dış)	Çilek
Kontrol	0,67	0,71	0,08
Kitosan (%1)	1,17	0.0	
Keratin (%2)	1,33	5,63	
Kitosan + Keratin	0,79	1,75	



Şekil 4.6.1. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısımında CAT Miktarı Üzerine Etkisi



Şekil 4.6.2. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında CAT Miktarı Üzerine Etkisi

4.4. Yağ Asitleri Profilinin Belirlenmesi

Muz meyvesine uygulanan kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarının muz iç kısmının uçucu bileşenleri üzerinde önemli değişimlere neden olduğu görülmektedir (Tablo 4.7). Kontrol uygulamasında ilk beş majör bileşik; Palmitik asit (%28,94), 2,4-di-tert-butilfenol (%14,91), omega-6 (%9,81), stearik asit (%5,5) ve omega-3 (%5,52) olarak belirlenmiştir. Tek başına kitosan uygulamasında ilk beş majör bileşik; palmitik asit (%25,51), 2,4-di-tert-butilfenol (%15,28), omega-6 (%7,76), omega-3 (%5,35) ve pentadekan (%4,12) olarak tespit edilmiştir. Keratinin tek başına uygulamasında ilk beş major bileşik; Palmitik asit (%24,84), 2,4-di-tert-butilfenol (%14,49), omega-6 (%10,00), omega-3 (%4,95) ve stearik asit (%4,05) olarak belirlenmiştir. Kitosan ve keratinin aynı anda uygulanması ile muz meyvesinin iç kısmında tespit edilen ilk beş majör bileşik ise palmitik asit (%24.06), 2,4-di-tert-butilfenol (%15.25), omega-6 (%10.06), omega 3 (%5.06) ve stearik asit (%3.75) olarak tespit edilmiştir. Tablo 4.7. incelendiğinde uygulamalarla kontrol grubunda sentezlenen bazı uçucu bileşenlerin ya hiç sentezlenmediği ya da oranlarının değiştiği görülmektedir. Benzer şekilde uygulamalar ile yeni uçucu bileşenlerin sentezlendiği belirlenmiştir. 1-iodo- octadekan, pentakosan, hentriakontan, tetradekonat, hentriakontan, ve huperzın "S" bileşikleri sadece tek başına kitosan uygulamasında üretilmiştir. Triakontan, izopropil linoleat ve 2,8-di(t-butil) fenazin bileşikleri sadece keratin uygulamasında üretilmiştir. n-undekan trikosa, tridekan, heptadekan, etil oleat ve linoelaidik asid bileşikleri ise sadece kitosan + keratin uygulamasında üretilmişlerdir.

Tablo 4.7. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin İç Kısımında Uçucu Bileşen Miktarı Üzerine Etkisi

Bileşik adı	RT	Kontrol	Kitosan	Keratin	Kitosan + Keratin
		Miktarı (%)	Miktarı (%)	Miktarı (%)	Miktarı (%)
Dekan	6,18	0,73	1,29	1,45	1,30
Oktan	6,19	-	-	0,64	0,64
Dodekan	6,32	1,69	-	3,37	-
Undekan	6,61	0,59	-	-	-
n-Undekan	7,66	-	-	-	1,00
1-iyodo- Oktadekan	7,66	-	2,56		
Pentadekan	8,72	-	4,12	-	0,46
n-tetrakosan	8,73	1,38	-	0,42	
Eikosan	8,81	0,68	0,52	1,75	1,01
Oktadekan	9,59	-	0,13	1,23	0,22
Trikosan	9,70	-	-	-	0,27
Pentakosan	9,71	-	0,32	-	-
Tetradekan	9,76	-	-	1,50	2,69
1-iodo- heksakosane	9,77	1,26	-	0,77	-
1-iyodo- dokosan	9,82	0,51	--		-
Tridekan	9,82	-	-	-	0,60
Hekzaakosan	9,88	1,26	-	-	-
Dokosan	10,04	0,43	1,50	2,04	0,88
Heptakosan	10,90	0,89		0,51	
Heptadekan	10,90	-	-	-	1,19
Triakontan	10,99	-	-	0,45	-
Hentriakontan	11,06	-	0,63	-	-
Oktakosan	11,06	-	-	0,93	1,81
2,4-dimetilbenzaldehit	11,18	1,24	1,35	1,86	1,77
Nonadekan	11,22	-	0,43	0,19	
3,4-dimetil benzoik asit	11,89	1,69	1,86	1,57	1,93
Tetradekanoat	12,30	-	0,83	-	-
Hentriakontan	12,62	-	0,42	-	-
Pentadesilik asit-C:15	13,26	1,02	1,06	1,25	1,06
Tetrakosan	14,19	0,33	0,95		
Palmitik asit (C 16:0)	14,38	28,94	25,51	24,84	24,06
Isopropilpalmitat	14,62	2,96	2,56	2,85	2,55

Palmitoleik Asit-C 16:1(cis-9)	14,75	1,91	1,78	2,35	1,95
2,4-di-tert-butilfenol	15,34	14,91	15,28	14,49	15,25
9,12-hekzadekadienoik asid	15,53	1,82	1,61	-	2,06
Heptadekanoik asit- C 17:0	15,68	0,40	0,34	0,44	0,34
Stearik asit C 18:0	17,15	5,5	3,76	4,05	3,75
9-oktadekenoik asid,	17,53	0,9	-	0,52	-
Omega-9	17,64	4,00	-	3,40	-
Etil oleat	17,64	-	-	-	3,91
Omega-6	18,34	9,81	7,76	10,00	10,06
Isopropil linoleate	18,60	-	-	0,95	-
Linoelaidik asid	18,61	-	-	-	1,34
9,12-oktadekadienoik asid (Z,Z)-	18,61	1,06	0,81	1,77	-
Omega 3	19,6	5,52	5,35	4,95	5,06
2,8-di(t-butil)fenazin	19,87	-	-	0,75	-
Huperzin "S"	19,87	-	0,77	-	-

Muz meyvesine uygulanan kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarının muz dış kısmının uçucu bileşenleri üzerinde önemli değişimlere neden olduğu görülmektedir (Tablo 4.8). Kontrol uygulamasında ilk beş majör bileşik; Palmitik asit (%28,94), 2,4-di-tert-butilfenol (%14,91), omega-6 (%9,81), stearik asit (%5,5) ve omega 3 (%5,52) olarak belirlenmiştir. Tek başına kitosan uygulamasında ilk beş majör bileşik; Palmitik asit (%25,51), omega-6 (%7,76), 2,4-di-tert-butilfenol (%15,28), omega-3 (%5,35) ve stearik asit (%4,88) olarak tespit edilmiştir. Keratinin tek başına uygulamasında ilk major bileşik; palmitik asit (%28,94), omega-6 (%9,81), 2,4-di-tert-butilfenol (%14,91), stearik asit (%5,5) ve omega-3 (%5,52) olarak belirlenmiştir. Kitosan ve keratinin aynı anda uygulanması ile muz meyvesinin dış kısmında tespit edilen ilk beş majör bileşik ise palmitik asit (%24,06), omega-6 (%10,06), 2,4-di-tert-butilfenol (%15,25), stearik asit (%3,75) ve omega-3 (%5,06) olarak tespit edilmiştir. Tablo 4.8. incelendiğinde uygulamalarla kontrol grubunda sentezlenen bazı uçucu bileşenlerin ya hiç sentezlenmediği ya da oranlarının değiştiği görülmektedir. Benzer şekilde uygulamalar ile yeni uçucu bileşenlerin sentezlendiği belirlenmiştir. Oktan, okzalik asit, 3-etilkosan, etil oleat, etil 6,9,12-hekzadekatrienoat, metil 18-metilnonadekanoat bileşikleri sadece tek başına kitosan uygulamasında üretilmiştir. Dekan, 3,9-dimetilundekan, pirolol[3,2,1-jk] karbazol bileşikleri sadece keratin uygulamasında üretilmiştir. n-tetrakosan,

tetratriakontan, dokosan, 1-iodo- heneikosan, 9,12-oktadekadienoik asit (Z,Z)- bileşikleri ise sadece kitosan + keratin uygulamasında üretilmişlerdir.

Tablo 4.8. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Dış Kısımında Uçucu Bileşen Miktarı Üzerine Etkisi

Bileşik adı	RT	Kontrol	Kitosan	Keratin	Kitosan + Keratin
		Miktarı (%)	Miktarı (%)	Miktarı (%)	Miktarı %
Dekan	6,19	-	-	0,51	-
Oktan	6,14	-	0,15	-	-
Oksalik asid	6,19	-	0,27	-	-
Dodekan	6,33	-	-	1,25	-
Undekan	7,71	0,22	0,16	0,10	1,19
3,9-dimetilundekan	8,73	-	-	1,01	-
n-tetrakosan	9,85	-	-	-	0,40
Eicosane	9,76	-	-	1,12	0,85
n-Eicosan	8,81	0,78	-	-	-
Tetratriakontan	9,02	-	-	-	0,12
3-Etilkosa	8,74	-	1,81	-	-
Trikosa	9,75	-	1,01	-	1,24
Dokosa, 1-iyodo-	9,88	-	-	-	0,79
Heneikosan	10,04	-	-	-	0,48
Hekzakosa	9,77	0,71	-	-	-
Dokosa	8,74	1,23	0,42	1,02	-
Oktakosa	10,89	0,35	-	0,19	1,05
2,4dimetilbenzalhid	11,17	0,98	0,94	-	1,21
Benzoik asid	11,88	0,78	0,55	0,78	0,91
dodekanoik asit C 12:0	10,78	0,32	0,65	0,42	0,48
tetradekanoik asit C 14:0	12,31	0,93	1,18	0,90	1,09
Pentadesilik asit-C:15	13,25	0,78	0,66	0,56	0,71
Azelaik asid	13,55	-	1,16	-	-
Nonanedioik asid	13,55	0,82		1,79	1,23
Palmitik asit (C 16:0)	14,38	41,73	46,40	46,27	42,56
Isopropil palmitate	14,62	3,55	3,54	2,78	3,23
Palmitoleik Asit- C 16:1 (cis - 9)	14,74	1,12	-	0,71	0,52
2,4-di-tert-butilfenol	15,34	11,11	7,54	7,95	9,14
pirolo[3,2,1 jk]karbazol	15,53	-	-	0,40	-

9,12-hekzadekadienoik asid	15,53	0,72	-	-	-
Heptadekanoik asit- C 17:0	15,68	0,39	0,40	0,36	0,34
Stearik asit C 18:0	17,15	4,88	5,20	5,64	5,29
Omega-9	17,52	3,92	2,67	1,25	3,20
Etil oleat	17,63	-	0,78		
Omega-6	18,34	9,88	8,85	9,93	9,16
Isopropil linoleat	18,61	0,73	0,81	-	-
9,12-oktadekadienoikasid (Z,Z)-	18,61	-	-	-	0,77
Omega 3	19,60	5,95	5,64	5,48	4,54
Eikosanoik asid	21,00	-	-	0,26	0,10
Etil 6,9,12-hekzadekatrienoat	19,86	-	0,74	-	-
Metil 18-metilnonadekanoat	21,00	-	0,32	-	-
dokosanoik asit C 22:0	26,85	-	0,59	0,75	0,55
4-(2',3',5',6'-Tetrametilfenil)	13,74	0,35	-	-	-

Çilek meyvesine uygulanan kitosan, keratin ve kitosan + keratin uygulamalarının meyvenin uçucu bileşenleri üzerinde önemli değişimlere neden olduğu görülmektedir (Tablo 4.9). Kontrol uygulamasında ilk beş majör bileşik; omega-6 (%28,14), omega-3 (%27,01), omega-9 (%13,22), 2,4-di-tert-butilfenol (%7,94), palmitik asit (%6,88) olarak belirlenmiştir. Tek başına kitosan uygulamasında ilk beş majör bileşik; omega-6 (%26,77), omega-3 (%22,44), etil oleat (%11,08), 2,4-di-tert-butilfenol (%6,96), palmitik asit (%6,15) olarak tespit edilmiştir. Keratinin tek başına uygulamasında ilk beş major bileşik; omega-6 (%26,24), omega-3 (%25,80), 2,4-di-tert-butilfenol (%7,16), palmitik asit (%6,04), izopropil linoleat (%2,84) olarak belirlenmiştir. Kitosan ve keratinin aynı anda uygulanması ile çilek meyvesinde tespit edilen ilk beş majör bileşik ise omega-6 (%27,74), omega-3 (%27,19), 2,4-di-tert-butilfenol (%6,71), palmitik asit (%6,15), izopropil linoleat (%3,10) olarak tespit edilmiştir. Tablo 4.9. incelendiğinde uygulamalarla kontrol grubunda sentezlenen bazı uçucu bileşenlerin ya hiç sentezlenmediği ya da oranlarının değiştiği görülmektedir. Benzer şekilde uygulamalar ile yeni uçucu bileşenlerin sentezlendiği belirlenmiştir. n-undekan, tetradekan, hentriakontan, 2-metiloktakosan, tetrapentakontan, 1-oktadekanetol, etil oleat bileşikleri sadece tek başına kitosan uygulamasında üretilmiştir. oktan, pentatriakontan, i-propil 14-metil-pentadekanoat, i-propil 9-oktadekenoat, beta-amiron, 1,1'-bifenil bileşikleri sadece

keratin uygulamasında üretilmiştir. dekan, pentadekan, heptadekanoik asit- C 17:0 bileşikleri ise sadece kitosan + keratin uygulamasında üretilmişlerdir.

Tablo 4.9. Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinde Uçucu Bileşen Miktarı Üzerine Etkisi

Bileşik adı	RT	Kontrol	Kitosan	Keratin	Kitosan +Keratin
		Miktarı (%)	Miktarı (%)	Miktarı %	Miktarı (%)
Dekan	6,19	-	-	-	0,28
Oktan	6,19	-	-	0,29	-
Dodekan	6,33	0,50	0,87	-	-
Undekan	7,60	0,52	0,11	0,82	-
n-Undekan	6,41	-	0,12	-	-
Pentadekane	8,73	-	-	-	1,45
n-tetrakosan	11,05	-	-	-	0,29
Eicosane	9,63	-	0,37	0,51	0,78
n-Eikosan	8,80	0,23	-	-	-
Oktadekan	9,69	-	-	0,32	0,29
Triakosan	9,86	0,69	0,22	-	-
Tetradekan	7,61	-	0,04	-	-
Heneikosan	9,60	-	-	0,59	0,19
Dokosan	8,64	0,33	1,39	0,71	1,29
Heptadekan	12,72	0,18	-	0,10	-
Hentriacontan	10,94	-	0,17	-	-
Oktakosan	9,82	0,19	0,54	-	-
Pentatriakontan	9,86	-	-	0,39	-
Dodekanoik asid	10,78	0,09	-	0,19	-
8-heptilpentadekan	10,88	0,36	-	-	-
2,4 dimetilbenzaldehyd	11,17	0,85	0,49	0,91	0,55
Benzoik asid	11,89	0,52	0,46	0,55	0,50
Hentriakontan	10,94	0,17	-	0,43	-
2-metiloktakosan	11,05	-	0,20	-	-
Tetrakosan	9,77	0,68	1,76	0,29	0,10
Metil sinamat	13,21	0,35	0,27	0,19	0,15
Palmitik asit (C 16:0)	14,36	6,88	6,15	6,04	6,15
i-Propil 14-metil-pentadekanoat	14,60	-	-	0,71	-
Isopropil palmitate	14,60	0,72	0,87		0,68

2,4-di-tert-butilfenol	15,32	7,94	6,96	7,16	6,71
Hekzadekanoik asid	15,65	0,11	-	-	-
Tetrapentakontan	16,81	-	1,21	-	-
1-oktadekanetol	17,42	-	1,09	-	-
Heptadekanoik asit- C 17:0	15,65		-	-	0,11
Stearik asit C 18:0	17,13	2,70	3,66	2,51	2,58
Omega-9	17,51	13,22	-	0,46	0,53
i-propil 9-oktadekenoat	17,77	-	-	1,21	-
Oleik Asid	17,77	1,26	2,64	-	1,35
Etil oleat	17,51	-	11,08	-	-
Okzasiklotrikosan-2-on	17,62	-	1,45	-	-
Omega-6	18,33	28,14	26,77	26,24	27,74
Isopropil linoleate	18,59	2,61	3,30	2,84	3,10
.beta.-Amiron	19,23	-	-	1,35	-
Omega 3	19,58	27,01	22,44	25,80	27,19
Eikosanoik asid C20:0	21,00	0,37	0,40	0,54	0,53
1,1'-Bifenil	21,26	-	-	0,06	-
3-Keto-Urs-12-Ene	26,18	0,07	-	-	-

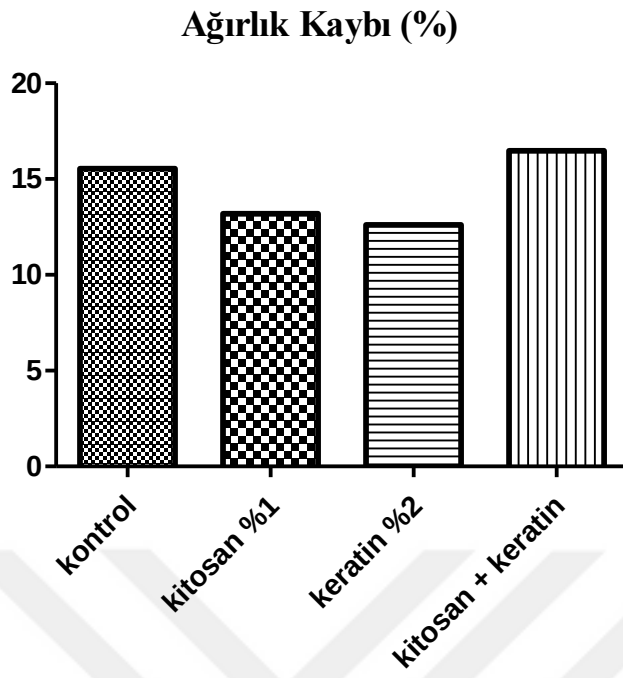
4.5. Ağırlık Kaybı

Çalışmada kullanılan muz ve çilek meyvelerine uygulama sonrası depolama süresince çilek için 8 gün ve muz için 12 gün bekletildi. Bu süreler sonunda meyvelerde meydana gelen ağırlık kayıpları tablo 4.10. de belirtilmiştir. Buna göre muzda kontrol bitkisinde ağırlık kaybı %15,54 olarak belirlenirken özellikle tek başına kitosan ve keratin uygulamalarında daha az ağırlık kaybı oluşarak sırasıyla bu kayıpla %13,19 ve %12,60 olarak belirlenmiştir. Kitosan + keratin uygulamasında ise kontrole göre ağırlık kaybı %6,04 oranında daha da artarak %16,48 oranında bir kayıp oluşmuştur.

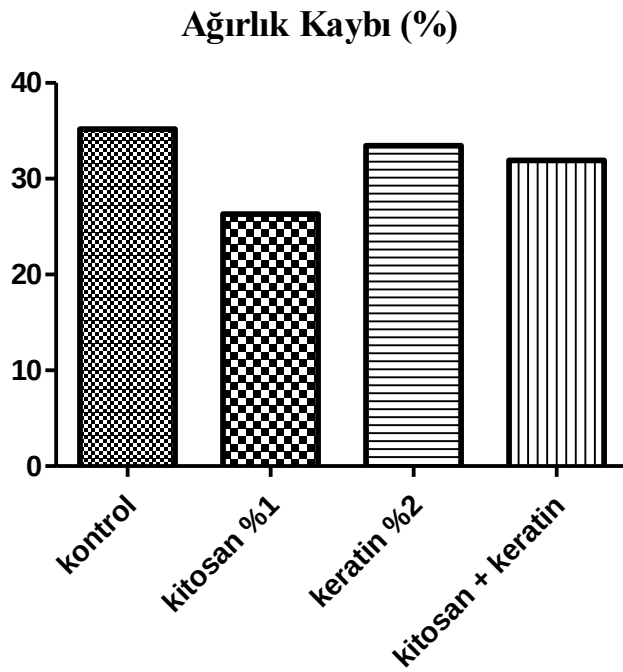
Çilek meyvesinde ise kontrol grubunda %35,08'lik bir oranla en yüksek ağırlık kaybı oluşurken diğer tüm uygulamalarda daha az ağırlık kaybı oluşmuştur. Tek başına kitosan uygulamasında kontrole göre %25,13 oranında daha az ağırlık kaybı oluşmuştur. Kitosan+keratin uygulamasında ise kontrole göre %9,24 oranında daha az ağırlık kaybına neden olmuştur. Tek başına keratin uygulamasında ise kontrole oranla ağırlık kaybı %4,8 oranında daha az olmasına rağmen istatistiksel olarak bu fark önemsiz kabul edilmiştir (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Kitosan ve Keratinin, Muz ve Çilek Meyvelerinin Ağırlıkları Üzerine Etkisi

Gruplar	Ağırlık kaybı (%)	
	Muz	Çilek
Kontrol	15,54	35,17
Kitosan (%1)	13,19	26,33
Keratin (%2)	12,60	33,46
Kitosan + Keratin	16,48	31,92



Şekil 4.8. Kitosan ve Keratinin, Muz Meyvesinin Ağırlığı Üzerine Etkisi



Şekil 4.9. Kitosan ve Keratinin, Çilek Meyvesinin Ağırlığı Üzerine Etkisi

4.6. Antioksidan Aktivite Testleri

Muz meyvelerinin iç kısmından oluşan numuneler içerisindeki toplam fenol ve flavonoit madde içerikleri spektrofotometrik olarak değerlendirildiğinde keratin uygulamasında muzun iç kısmında toplam fenolik madde içeriği açısından $3,35 \pm 1,2 \mu\text{g GAE/mg Kİ}$ değeri ile en zengin örnek iken, kitosan + keratin uygulaması numunesi ise $2,1 \pm 0,5 \mu\text{g GAE/mg Kİ}$ değeri ile en düşük fenol içeriğine sahiptir (Şekil 4.8). Muz iç kısmının toplam fenol içeriği ise büyükten küçüğe doğru Keratin ($3,35 \pm 1,2$) > kitosan ($2,8 \pm 0,9$) > kontrol ($2,4 \pm 0,67$) > kitosan + keratin ($2,1 \pm 0,5$) şeklinde olduğu tespit edildi (Tablo 4.11). Toplam flavonoit madde içeriği sonuçları karşılaştırıldığında ise, büyükten küçüğe doğru keratin (180 ± 8) > kitosan ($172,8 \pm 5$) > kitosan + keratin ($165,6 \pm 4$) > kontrol (156 ± 10) şeklinde toplam flavonoit içeriğine sahip oldukları gözlemlendi (Şekil 4.9).

Muz meyvelerinin dış kısmından oluşan numuneler içerisindeki toplam fenol ve flavonoit madde içerikleri spektrofotometrik olarak değerlendirildiğinde keratin uygulamasında muzun dış kısmında toplam fenolik madde içeriği açısından $2,55 \pm 0,8 \mu\text{g GAE/mg Kİ}$ değeri ile en zengin örnek iken, tek başına kitosan uygulaması numunesi ise $1,9 \pm 0,4 \mu\text{g GAE/mg Kİ}$ değeri ile en düşük fenol içeriğine sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4.8.). Muz dış kısmının toplam fenol içeriği ise büyükten küçüğe doğru Keratin ($2,55 \pm 0,8$) > kitosan + keratin ($2,4 \pm 0,6$) > kontrol ($2,2 \pm 0,6$) > kitosan ($1,9 \pm 0,4$) şeklinde olduğu tespit edildi (Tablo 4.11) Toplam flavonoit madde içeriği sonuçları karşılaştırıldığında ise, büyükten küçüğe doğru kitosan + keratin ($254,4 \pm 14$) > kontrol (252 ± 12) > keratin = kitosan ($230,4 \pm 10$) şeklinde toplam flavonoit içeriğine sahip oldukları gözlemlendi (Tablo 4.12).

Çilek meyvelerinin dış kısmından oluşan numuneler içerisindeki toplam fenol ve flavonoit madde içerikleri spektrofotometrik olarak değerlendirildiğinde keratin uygulamasında çilek meyve numunelerinde toplam fenolik madde içeriği açısından $2,9 \pm 0,5 \mu\text{g GAE/mg Kİ}$ değeri ile en zengin örnek iken, kitosan + keratin uygulaması numunesi ise $1,8 \pm 0,2 \mu\text{g GAE/mg Kİ}$ değeri ile en düşük fenol içeriğine sahiptir (Şekil 4.8). Çilek kısmının toplam fenol içeriği ise büyükten küçüğe doğru Keratin ($2,9 \pm 0,6$) > kitosan = kontrol ($2 \pm 0,2$) > kitosan + keratin ($1,8 \pm 0,2$) şeklinde olduğu tespit edildi (Tablo 4.11). Toplam flavonoit madde içeriği sonuçları karşılaştırıldığında ise, çilek

meyvesinde büyükten küçüğe doğru keratin + kitosan ($237,6 \pm 18$) > kontrol ($208,8 \pm 11$) > keratin ($196,8 \pm 6$) > kitosan ($189,6 \pm 6$) şeklinde toplam flavonoit içeriğine sahip oldukları gözlemlendi (Tablo 4.12).

Tablo 4.11. Kitosan ve Keratin Uygulanmış Muz ve Çilek Meyvelerinde Toplam Fenol İçerikleri ($\mu\text{g GAE/mg}$ kuru ekstre)

Fenolik içerik ($\mu\text{g GAE/mg}$ kuru ekstre)			
	Muz (İç)	Muz (Dış)	Çilek
Kontrol	$2,4 \pm 0,7$ c	$2,2 \pm 0,6$ c	$2 \pm 0,2$ b*
Kitosan	$2,8 \pm 0,9$ b	$1,9 \pm 0,4$ d	$2,05 \pm 0,2$ b
Keratin	$3,35 \pm 1,2$ a	$2,55 \pm 0,8$ a	$2,9 \pm 0,5$ a
Kitosan + Keratin	$2,1 \pm 0,5$ d	$2,4 \pm 0,6$ b	$1,8 \pm 0,2$ c

*Muz ve çilek örneklerindeki toplam fenol içeriği mg kuru ekstre içerisinde bulunan μg gallik asit ekivalenti (GAE) olarak verilmiştir. Analiz sonuçları üç tekrarlı yapılarak ortalama + standart sapma olarak verildi. Aynı sütündaki farklı harfler istatistiksel açıdan $p < 0.05$ düzeyinde farklıdır.

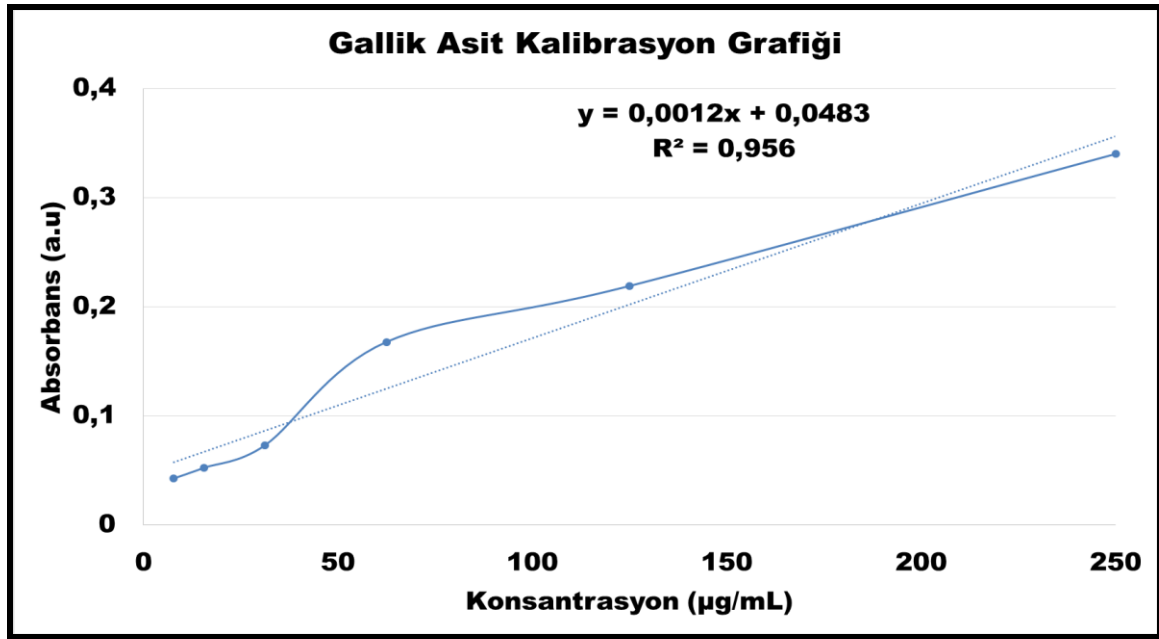
Tablo 4.12. Kitosan ve Keratin Uygulanmış Muz ve Çilek Meyvelerinde Toplam Flavonoid İçerikleri ($\mu\text{g KE/mg}$ kuru ekstre)

Toplam Flavonoid İçeriği ($\mu\text{g KE /mg}$ kuru ekstre)			
	Muz (İç)	Muz (Dış)	Çilek
Kontrol	156 ± 10 d	252 ± 12 a	$208,8 \pm 11$ b*
Kitosan	$172,8 \pm 5$ b	$230,4 \pm 10$ b	$189,6 \pm 6$ d
Keratin	180 ± 8 a	$230,4 \pm 10$ b	$196,8 \pm 6$ c
Kitosan + Keratin	$165,6 \pm 4$ c	$254,4 \pm 14$ a	$237,6 \pm 18$ a

*Muz ve çilek örneklerindeki toplam flavonoid içeriği mg kuru ekstre içerisindeki μg kersetin ekivalenti (KE) olarak verilmiştir. Analiz sonuçları üç tekrarlı yapılarak ortalama + standart sapma olarak verildi. Aynı sütündaki farklı harfler istatistiksel açıdan $p < 0.05$ düzeyinde farklıdır.

4.6.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

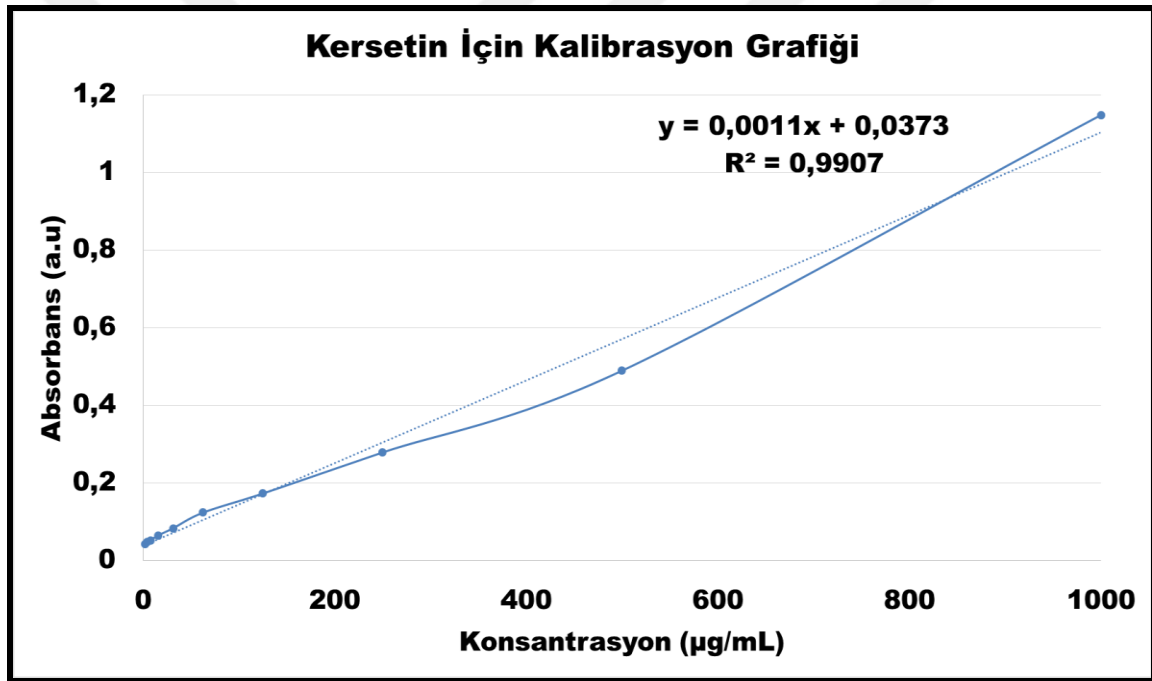
Muz ve Çilek meyvelerinin toplam fenol içeriği tayini mg kuru meyve izolatu örneklerindeki μg gallik asit eşdeğeri cinsinden ifade edildi (μg GAE/mg Kİ). Bunun için gallik asitin farklı konsantrasyonlardaki kalibrasyon grafiği elde edildi (Şekil 4.8). Farklı konsantrasyonlardaki gallik asitin absorbans okumalarının grafiğe geçirilmesi ile elde edilen lineer doğru denklemi $y=0,0012x + 0,0483$ olarak bulundu.



Şekil 4.10. Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan Gallik Asit İçin Kalibrasyon Grafiği

4.6.2. Toplam Flavonoid Bileşimi Tayini

Muz ve Çilek meyvelerinin içerisindeki toplam flavonoid içeriği kersetin standardı eşdeğeri cinsinden verildi. Bunun için öncelikle kersetinin farklı konsantrasyonları hazırlanarak linner bir doğru denklemi elde edildi. Kersetinin farklı konsantrasyondaki absorbans okumaları grafiğe geçirilmesi sonucu $y=0,0011x + 0,0373$ olan doğru denklemi elde edildi (Şekil 4.9). Denklem kullanılarak kekik numuneleri içerisindeki flavonoid miktarları mg kuru izolat (mg Kİ) içerisinde μg kersetin eşdeğeri (μg KE) cinsinden ifade edildi.



Şekil 4.11. Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan Kersetin İçin Kalibrasyon Grafiği

Beslenme açısından en önemli gıdaların biriside meyvelerdir. Dengeli sağlıklı ve dengeli bir öğünün önemli bir parçası olan meyveler insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Özellikle su ve şeker oranının fazla olması depolama koşullarını zorlaştırmakta ve hasat sonrası önemli kayıplara neden olmaktadır. Meyvelerde meydana gelen hızlı olgunlaşma, depolama esnasında olgunlaşmaya bağlı deformasyonlar ve çürümeler önemli ekonomik zararlara yol açmaktadır. Bu nedenle meyvelerin önemli bir kısmı son tüketiciye ulaşmadan trasport aşamasında zarar görmektedir.

Biyolojik anlamda ‘meyve olgunlaşması, son derece koordine edilmiş bir dizi fizyolojik, biyokimyasal ve organoleptik değişiklik içeren ve geri dönüşümü olmayan bir olgudur’ (Özgürler 2018). Ham meyve olgunlaşarak yumuşak ve yenilebilir olgun bir forma evrilir. Olgunlaşma sırasında ilk olarak aşırı miktarda dokusal yumuşama meydana gelir ve bu durum depo koşullarında problemlere neden olur. Meyvede bulunan yüksek miktardaki şekerler, olgunlaşma esnasında değişime uğratarak yapıtaşlarına dönüşür. Bu durum bazı enzimlerin aktifleşmesiyle olgunlaşma seviyelerinin artmasında sebep olur. Olgunlaşma sırasında değişime uğrayan polisakaritlerinin başlıcaları şöyle sıralanabilir. Nişasta, pektinler, selüloz ve hemiselülozlardır. Pektinler, primer hücre duvarı ve orta lamelde fazla miktarda bulunan meyve olgunlaşmasına ve kalitesinin önemli göstergelerindendir. Pektinin olgunlaşma esnasında metabolize olması, meyvelerin yumuşamasının ana nedenlerindendir. Poligalakturonaz, pektin metilesteraz, liyaz ve ramnogalakturonaz gibi pektin parçalayıcı enzimler olgunlaşma sürecinin önemli bileşenleridir (Prasanna et al. 2010).

Muz ve çilek meyvelerinin üreticiden son tüketice aktarılması esnasında bazı sorunlar olmaktadır. Çilek hızlı olgunlaşmasından dolayı depolama ve raf ömrü kısadır. Bu sebeplerden ötürü taşıma ve depolama esnasında önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Her iki meyvede trasport esnasında olgunlaşma geciktirilebilirse önemli kayıpların önüne geçilebilir. Bu çalışmada muz ve çilek meyvesinin hasat sonrası döneminde uygulanan kitosan ve keratin temelli biyomateryallerin lipid peroksidasyon, reaktif oksijen türleri, antioksidan enzim aktiviteleri, ağırlık kaybı ve yağ asitleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Kaplanmış ve kaplanmamış (kontrol) muz ve çilek meyvesinin ağırlık kaybı yüzdesi için kaydedilen sonuçlar, uzun bir depolama süresi boyunca ağırlık kaybında önemli bir artış gösteren Tablo 4.10'da gösterilmektedir ve en büyük kayıplar kontrol numunelerinde meydana gelmiştir. Tek başına kitosan ağırlık kaybı yüzdesi üzerinde önemli bir ($P < 0.05$) etki gösterdi. Kullanılan biyomateryaller ağırlık kaybı yüzdesinde önemli bir azalma gösterdi ve kitosan kontrol ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde ($P < 0.05$) daha yüksek bir azalmaya neden oldu. Depolama sırasında meyvelerin ağırlık kaybının başlıca nedeninin meyveden çevreye su göçü olduğuna inanılmaktadır (Duan et al. 2011). Sonuçlarımız, oksijen, karbon dioksit ve neme karşı yarı geçirgen bir bariyer görevi gören ve böylece solunum, su kaybı ve oksidasyon reaksiyonlarını azaltan kompozit maddelerin etkilerinden dolayı ağırlık kaybında bir azalma olduğunu gösteren önceki çalışmalarla tutarlıydı (Maqbool et al. 2011).

Kitosan ve keratin uygulamaları muz ve çilek meyvesinin oksidatif hasar gösstergesi olan lipid peroksidasyon ve ROS seviyelerini kontrole göre önemli oranda düşüşler meydana getirmiştir. Tek başına kitosan MDA ve ROS seviyeleri üzerinde önemli bir ($P < 0.05$) etki gösterdi. Kullanılan biyomateryaller oksidatif hasar üzerinde önemli bir azalma gösterdi ve kitosan kontrol ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde ($P < 0.05$) daha yüksek bir azalmaya neden oldu. Olumsuz durumlarda canlı hücrelerinde yıkımının en büyük nedenlerinden biriside hücresel seviyede meydana gelen oksidatif hasardır (Esim ve Güneş 2021). Sonuçlarımız, ROS ve MDA oranını azaltan kitosan ve keratin etkilerinden dolayı oksidatif bir azalma olduğunu gösterdi.

Antioksidan enzimler çok sayıda biyokimyasal ve fizyolojik süreçte yer alır. Oksidatif süreç esnasında oluşan ROS'lar SOD, CAT ve POD gibi antioksidan enzimler tarafından elimine edilir. Oluşan aşırı serbest radikaller oldukça fitotoksiktir. H_2O_2 birikimi bitki metabolizmasında değişikliklere neden olabilir. H_2O_2 CAT ve POD ile süpürülür. Kitosan ve keratin uygulanmış muz ve çilekte hem POD hemde CAT aktiviteleri artmıştır. Bu duruma bağlı olarak H_2O_2 seviyesi ise azalmıştır. Kitosan POD ve CAT aktivitelerinde önemli ölçüde arttırdı. CAT, hidrojen peroksitin su ve oksijene ayrışmasını katalize eder. Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif hasardan hücreyi korumada ve aşırı H_2O_2 oluşumunu önlemede çok önemli bir enzimdir (Chelikani et al. 2004).

Kaplanmamış ileklerdeki CAT aktivitesi, başlangıç değerine kıyasla 12 gün sonra önemli ölçüde azaldı. Ancak, özellikle muz da keratin bu azalmayı geciktirdi ve aktiviteler genellikle kontrollerinkinden daha yüksekti ve işleme bağlı olarak değişimler meydana geldi.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Klimakterik ve non-klimakterik meyve olgunlaşması üzerine kitosan ve keratinin etkisinin farklılık gösterdiği anlaşılmıştır. Klimakterik meyve olan muz da olgunlaşmanın kitosan tarafından daha da geciktirilebilirken non-klimakterik meyve olan çilekte ise daha farklı uygulamalar yapılmalıdır. Kitosan oksidatif hasarın oluşumunu azaltmış ama aynı etki keratin uygulamasında tespit edilmemiştir. Hem kitosan hem de keratin her iki meyvede önemli oranda ağırlık kaybını azatmıştır. Ancak birlikte uygulamaları tek başına uygulamalarından daha iyi sonuç vermemiştir. Kitosan özellikle fenolik madde içeriğini artırırken, keratin ise flavonoit içeriğini önemli oranlarda arttırmıştır. Hem kitosan hem de keratinin meyve raf ömürleri üzerine etkisini ortaya çıkarmak için daha ileri teknikler kullanılmalıdır.

KAYNAKLAR

Abbasi NA, Iqbal Z, Maqbool M, Hafiz IA (2009) Postharvest quality of mango (*Mangifera indica* L.) fruit as affected by chitosan coating. *Pak. J. Bot* 41(1): 343-357

Ahmed KBM, Khan MMA, Siddiqui H, Jahan A (2020) Chitosan and its oligosaccharides, a promising option for sustainable crop production-a review. *Carbohydrate polymers* 227: 115331

Ananieva EA, Alexieva VS, Popova LP (2002) Treatment with salicylic acid decreases the effects of paraquat on photosynthesis. *Journal of Plant Physiology* 159(7): 685-693

Angelini R, Manes F, Federico R (1990) Spatial and functional correlation between diamine-oxidase and peroxidase activities and their dependence upon de-etiolation and wounding in chick-pea stems. *Planta* 182(1): 89-96

Aparicio-García PF, Ventura-Aguilar RI, del Río-García JC, Hernández-López M, Guillén-Sánchez D, Salazar-Piña DA, Bautista-Baños S (2021). Edible chitosan/propolis coatings and their effect on ripening, development of *aspergillus flavus*, and sensory quality in fig fruit, during controlled storage. *Plants* 10(1): 112

Ashurst P (2016) The stability and shelf life of fruit juices and soft drinks in the stability and shelf life of food. Woodhead Publishing pp. 347-374

Baez-Sañudo M, Siller-Cepeda J, Muy-Rangel D, Heredia JB (2009) Extending the shelf-life of bananas with 1-methylcyclopropene and a chitosan-based edible coating. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89(14): 2343-2349

Bautista-Baños S, Ventura-Aguilar RI, Correa-Pacheco Z, Corona-Rangel ML (2017) Chitosan: a versatile antimicrobial polysaccharide for fruit and vegetables in postharvest-a review. *Revista Chapingo. Serie horticultura* 23(2): 103-122

Cao R, Liu Q, Yin B, Wu B (2012) Chitosan extends the shelf-life of filleted tilapia (*Oreochromis niloticus*) during refrigerated storage. *Journal of Ocean University of China* 11(3): 408-412

Chamchoi N (2020) Effect Of Chitosan Film For Extending Shelf Life Of Banana. *Suranaree Journal of Science & Technology* 27(2): 1-6

Chelikani P, Fita I, Loewen PC (2004) Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 61(2): 192-208

Çoban MZ (2021) Effectiveness of chitosan/propolis extract emulsion coating on refrigerated storage quality of crayfish meat (*Astacus leptodactylus*). *CyTA-Journal of Food* 19(1): 212-219

Correa-Pacheco ZN, Bautista-Baños S, de Lorena Ramos-García M, del Carmen Martínez-González M, Hernández-Romano J (2019) Physicochemical characterization and antimicrobial activity of edible propolis-chitosan nanoparticle films. *Progress in Organic Coatings* 137: 105326

Cortés-Higareda M, de Lorena Ramos-García, Correa-Pacheco ZN, Del Río-García JC, & Bautista-Baños S (2019) Nanostructured chitosan/propolis formulations: characterization and effect on the growth of *Aspergillus flavus* and production of aflatoxins. *Heliyon* 5(5): 1776

Demircan B, Özdestan-Ocak Ö (2021) Effects of lemon essential oil and ethyl lauroyl arginate on the physico-chemical and mechanical properties of chitosan films for mackerel fillet coating application. *Journal of Food Measurement and Characterization* 15(2): 1499-1508

Dursun S, Erkan N (2009) The use of edible protein films in seafood. *Journal of FisheriesSciences. com* 3(4): 352-373

El Ghaouth A, Wilson C, Wisniewski M (2004) Biologically-based alternatives to synthetic fungicides for the control of postharvest diseases of fruit and vegetables. In *Diseases of Fruits and Vegetables: Springer Dordrecht Volume II* pp. 511-535

Elstner EF, Heupel A (1976) Formation of hydrogen peroxide by isolated cell walls from horseradish (*Armoracia lapathifolia* Gilib.). *Planta* 130(2): 175-180

Ertugay MF, Tomar O (2004) Yenilebilir film ve kaplamalar. *Akademik gıda* 2(4): 8-14

Esim N (2011) Nitrik oksitin mısırdaki (*Zea mays*) düşük sıcaklık stresi toleransı üzerine etkisi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

Gessesse A, Hatti-Kaul R, Gashe BA, Mattiasson BO (2003) Novel alkaline proteases from alkaliphilic bacteria grown on chicken feather. *Enzyme and Microbial Technology* 32(5): 519-524

Grazziotin A, Pimentel FA, De Jong EV, Brandelli A (2006) Nutritional improvement of feather protein by treatment with microbial keratinase. *Animal feed science and technology* 126(1-2): 135-144

He Y, Liu Y, Cao W, Huai M, Xu B, Huang B (2005) Effects of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky bluegrass. *Crop Science* 45(3): 988-995

Jonaidi Jafari N, Kargozari M, Ranjbar R, Rostami H, Hamed H (2018) The effect of chitosan coating incorporated with ethanolic extract of propolis on the quality of refrigerated chicken fillet. *Journal of Food Processing and Preservation* 42(1): 13336

Lustriane C, Dwivany FM, Suendo V, Reza M (2018) Effect of chitosan and chitosan-nanoparticles on post harvest quality of banana fruits. *Journal of Plant Biotechnology* 45(1): 36-44

Martínez-Castellanos G, Shirai K, Pelayo-Zaldívar C, Perez-Flores LJ, Sepulveda-Sanchez JD. (2009) Effect of *Lactobacillus plantarum* and chitosan in the reduction of browning of pericarp Rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Food microbiology* 26(4): 444-449

Martínez-González MDC, Bautista-Baños S, Correa-Pacheco ZN, Corona-Rangel ML, Ventura-Aguilar RI, Río-García D, Ramos-García MDL (2020) Effect of nanostructured chitosan/propolis coatings on the quality and antioxidant capacity of strawberries during storage. *Coatings* 10(2): 90

Mastromatteo M, Danza A, Conte A, Muratore G, Del Nobile MA (2010) Shelf life of ready to use peeled shrimps as affected by thymol essential oil and modified atmosphere packaging. *International journal of food microbiology* 144(2): 250-256

Miteluț AC, Tănase EE, Popa VI, Popa ME (2015) Sustainable alternative for food packaging: chitosan biopolymer-a review. *AgroLife Scientific Journal* 4(2): 52-61

Molamohammadi H, Pakkish Z, Akhavan HR, Saffari VR (2020) Effect of salicylic acid incorporated chitosan coating on shelf life extension of fresh in-hull pistachio fruit. *Food and Bioprocess Technology* 13(1): 121-131

Montazer M, Afjeh MG (2007) Simultaneous x linking and antimicrobial finishing of cotton fabric. *Journal of Applied Polymer Science* 103(1): 178-185

Pilon L, Spricigo PC, Miranda M, de Moura MR, Assis OBG, Mattoso LHC, Ferreira MD (2015) Chitosan nanoparticle coatings reduce microbial growth on fresh-cut apples while not affecting quality attributes. *International Journal of Food Science & Technology* 50(2): 440-448

Pinzon MI, Sanchez LT, Garcia OR, Gutierrez R, Luna JC, Villa CC (2020) Increasing shelf life of strawberries (*Fragaria ssp*) by using a banana starch-chitosan Aloe vera gel composite edible coating. *International Journal of Food Science & Technology* 55(1): 92-98

Pratiwi AS, Dwivany FM, Larasati D, Islamia HC, Martien R (2015, September) Effect of chitosan coating and bamboo FSC (fruit storage chamber) to expand banana shelf life. In *AIP Conference Proceedings* 1677(1): 100005

Ramirez DOS, Carletto RA, Tonetti C, Giachet FT, Varesano A, Vineis C (2017) Wool keratin film plasticized by citric acid for food packaging. Food packaging and shelf life 12: 100-106

Siripatrawan U, Noipha S (2012) Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. Food hydrocolloids 27(1): 102-108

Siripatrawan U, Vitchayakitti W (2016) Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. Food Hydrocolloids 61: 695-702

Sotelo-Boyás M E, Correa-Pacheco ZN, Bautista-Baños S, Corona-Rangel ML (2017) Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles and nanocapsules incorporated with lime essential oil and their antibacterial activity against food-borne pathogens LWT 77: 15-20

Sotelo-Boyás M, Correa-Pacheco Z, Bautista-Baños S, y Gómez YG (2017) Release study and inhibitory activity of thyme essential oil-loaded chitosan nanoparticles and nanocapsules against foodborne bacteria. International Journal of Biological Macromolecules 103: 409-414

Struszczyk H (2001) Some Aspects on Preparation and Properties of Alginate and Chitosan Fibres. MRS Online Proceedings Library Volume 702: 231

Torlak E, Nizamlioglu M (2011) Antimicrobial effectiveness of chitosan-essential oil coated plastic films against foodborne pathogens. Journal of Plastic Film & Sheeting 27(3): 235-248

Tural S, Saricaoglu FT, Turhan S (2017) Yenilebilir film ve kaplamalar: Üretimleri, uygulama yöntemleri, fonksiyonları ve kaslı gıdalarda kullanımları. Akademik Gıda 15(1): 84-94

Volpe S, Torrieri E, Cavella S (2017). Use Of Chitosan And Chitosan-Caseinate Coating To Prolong Shelf Life Of Minimally Processed Apples. Italian Journal of Food Science p.30-35

Vu K D, Hollingsworth RG, Leroux E, Salmieri S, Lacroix M (2011) Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries. Food Research International 44(1): 198-203

Yangılar F, Oğuzhan Yıldız P (2016) Casein/natamycin edible films efficiency for controlling mould growth and on microbiological, chemical and sensory properties during the ripening of Kashar cheese. Journal of the Science of Food and Agriculture 96(7): 2328-2336

Ye Y, Tam NF, Wong YS, Lu CY (2003) Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguiera gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. Environmental and Experimental Botany 49(3): 209-221