

## MEYVE-SEBZE İŞLEME ENDÜSTRİSİNDE KİTOSAN KULLANIMI

Özge Taştan\*, Taner Baysal

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir

Geliş tarihi / *Received*: 02.12.2012

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 04.02.2013

Kabul tarihi / *Accepted*: 14.02.2013

### Özet

Kitosan, kitinin kısmi deasetilasyonu ile elde edilen, glukozamin ve N-asetil glukozamin kopolimerini içeren, modifiye ve doğal bir karbonhidrat polimeridir. Mikrobiyel bir polisakkarit olan kitosan, meyve-sebze endüstrisinde, bakteriyosidal ve fungisidal özellik göstererek antimikrobiyel madde görevi görmesinin yanı sıra, yenilebilir film oluşturma, meyve sularının asitliğini azaltma, durultma yardımcı maddesi, esmerleşmeyi önleyici ve renk koruyucu olarak da kullanılmaktadır. Doğada bulunan kaynaklardan elde edilebilen bir biyopolimer olan kitosan, canlılara karşı toksik özelliğinin olmaması, biyolojik olarak parçalanabilirliği, biyoyumluluğu, kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından diğer biyopolimerlere göre üstün özellikler göstermesi nedeniyle meyve-sebze endüstrisi için geniş kullanım alanına sahiptir. Bu derlemede, gıda sanayi için henüz yaygın kullanımı bulunmayan kitosanın meyve-sebze işleme endüstrisindeki kullanım alanları özetlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kitosan, mikrobiyel polisakkarit, meyve-sebze işleme endüstrisi

## CHITOSAN IN THE FRUIT AND VEGETABLE PROCESSING INDUSTRY

### Abstract

Chitosan is a modified and natural carbohydrate polymer which is obtained from the partial deacetylation of chitin, and includes the copolymer of glucosamine and N-acetyl glucosamine. Chitosan, which is a microbial polysaccharide, is used as an antimicrobial agent for its bacteriocidal and fungicidal functions. In addition to these properties, it is also used for edible film-forming, reducing the acidity of fruit juices, fining agent, browning inhibitor, and color preservative in the fruit and vegetable industry. Chitosan as a biopolymer can be obtained from many natural sources, has a wide application area in the fruit and vegetable industry due to its non-toxic properties involving living organisms, its biodegradability, biocompatibility, chemical, and physical properties because it shows superior features compared to the other biopolymers. In this review, the use of chitosan, which has not been used as a widespread application in the fruit and vegetable processing industry, will be summarized.

**Keywords:** Chitosan, microbial polysaccharide, fruit and vegetable processing industry

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ otastan07@gmail.com,

☎ (+90) 232 388 23 95,

(+90) 232 342 75 92

## GİRİŞ

Kitosan, polisakkaritler içerisinde oldukça önemli bir yeri olan ve doğada yaygın olarak bulunan bir biyopolimerdir. İlk kez 1859 yılında Rouget tarafından kitinin derişik potasyum hidroksit çözeltisinde ısıtılması esnasında keşfedilmiştir (1). Kitosan, biyolojik yolla parçalanabilir nitelikte olması ve toksik olmayışı nedeniyle gelecek vaat eden yenilebilir bir polimerik materyal olarak önem kazanmaktadır (2, 3).

Kitin ve kitosan, yapısal olarak selüloza benzeyen ve dünyada selülozdan sonra en çok bulunan biyopolimerlerdir (18). Selüloz, kitin ve kitosanın yapısal farklılığı; selülozun ikinci karbon atomundaki hidroksil (-OH) yerine, kitinde asetamid (-NHCOCH<sub>3</sub>), kitosanda ise amin (-NH<sub>2</sub>) grubu bağlı olmasıdır. Kitosanın kitine kıyasla ilgi çekici materyal olma özelliği, ticari olarak elde edilebilirliği ve birçok formda kullanılabilirliğidir. Kitini çözmek için lityum klorür ve dimetilasetamid gibi toksik özellikte olabilen çözümler kullanılmaya karşın, kitosan seyreltik asetik asit içinde kolayca çözünebilmektedir. Azot içeriği selüloza göre yüksek olan kitosan, özellikle metal bağlayıcı (kelatlama maddesi) olarak büyük avantaj sağlamaktadır (4).

Kitosan, kitin türevidir doğal bir polisakkarittir. Kitinin yüksek sıcaklıkta, sodyum hidroksit veya potasyum hidroksit içeren heterojen ortamda veya kitin deasetilaz enzimi yardımıyla deasetilasyonu sonucu yapı kitosana [β-(1-4) 2 amino-2-deoksi D-glukoz] dönüşür. Bu yolla farklı oranlarda (% 40 -% 98) deasetillenmiş kitosan elde etmek mümkündür (5, 6).

Deasetilasyon derecesine (DD) bağlı olarak kitosandaki azot içeriği % 5-8 arasındadır. Amino gruplarının bulunması, kitosanı kimyasal modifikasyon için uygun hale getirir. Kitosan, asit ortamda amino gruplarının protonasyona uğraması sonucunda suda çözünebilir bir özellik kazanır (7). Kitosanı çözmek için kullanılacak çözeltideki proton konsantrasyonunun, en az kitosanın içerdiği amino (-NH<sub>2</sub>) gruplarının konsantrasyonu kadar olması gerektiği belirlenmiştir (8). Asit derişiminin azalması ile çözünebilirlik azalmaktadır. Kitosanın kitin ve selülozdan farklı olarak sahip olduğu amin grubu, çözünme sırasında protonlanır ve bundan dolayı da kitosan pozitif yüklenmiş olur. Bu özellik, kitosanın katyonik bir polisakkarit olduğunu gösterir. Diğer

polimerlerin aksine kitosan, pozitif yüklü (zayıf bazik gruplardan dolayı) hidrofilik bir polimerdir. Sahip olduğu bu özelliklerden dolayı, negatif yüklü polimerlerle, makromoleküllerle, polianyonlarla vs. etkileşme yeteneğine sahiptir. Bu özelliklerinin yanında su ve yağ bağlama kapasitesi oldukça fazla olup, çok iyi film oluşturma özelliğine sahiptir (9).

Kitosanın özelliklerine etki eden parametreler; deasetilasyon derecesi, molekül ağırlığı, viskozite, çözünebilirlik ve renk özellikleridir. Düşük deasetilasyon derecesine sahip kitosanın, sadece pH 9.0 ve üzerinde çözünebilir olduğu, buna karşın yüksek deasetilasyon derecesine sahip kitosanın, pH 6.5 ve altında çözünür olduğu, nötral ve alkali pH değerlerinde ise çözünmediği belirlenmiştir. Yüksek deasetilasyon derecesine sahip kitosanlar; glutamik asit, hidroklorik asit, laktik asit ve asetik asit gibi organik ve inorganik asitlerle tuz oluşturularak çözünür. Organik asit çözeltilerinde (pH<6) çözünebilir kitosanın çözünebilirliği; inorganik asit çözeltilerinde sınırlıdır (4, 10, 11).

Sıcaklık ve pH'nın kitosanın çözünebilirliği üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; nötral pH'da ve gliserol-2-fosfat varlığında elde edilen suda çözünebilir özellikteki kitosanın, pH 7-7.1'de ve oda sıcaklığında stabil olduğu, sıcaklık 40 °C olduğunda ise çözeltinin jel formunu aldığı saptanmıştır (12).

Kitosanın katyonik doğası NH<sub>3</sub><sup>+</sup>(pKa=6,3)'dan ve antimikrobiyel özelliği ise polikasyonik yapısından kaynaklanmaktadır. Bakteri membranının polianyonik doğası, polikasyonik kitosana elektrostatik etkileşime girmesini sağlar ve bu etkileşim sonucu bakteri hayati fonksiyonlarını yerine getirecek yetiden yoksun hale gelir. Ayrıca DNA ile etkileşime girebiliyor olması da kitosanın antimikrobiyel madde olarak kullanımına olanak sağlamaktadır (13, 14).

## KİTOSANIN ANTİMİKROBİYEL MADDE OLARAK KULLANIMI

Kitosanın antimikrobiyel aktivitesinin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte pozitif yüklü kitosan moleküllerinin negatif yüklü hücre membranına bağlanarak fonksiyonunu bozması; intrasellüler içeriğin dışarı sızmasını teşvik etmesi ve aynı zamanda besin elementlerinin hücreye transportunu inhibe etmesi; kelat yapıcı bir madde olarak rol oynayarak iz elementlere bağlanması ve bu suretle mikrobiyel gelişme ile toksin üretimini inhibe etmesi; suyu

bağlayarak enzimleri inhibe etmesi; DNA ile bağlanması ve mRNA sentezini engelleyerek üremeyi durdurması gibi çeşitli teoriler ileri sürülmüştür (3, 15, 16).

Kitosanın antimikrobiyel etkisi; deasetilasyon ve polimerizasyon derecesi, substrat veya her ikisinin kimyasal ve besin bileşimi, çevre koşulları gibi iç faktörlerden etkilenir. Bu anlamda, daha fazla yük yoğunluğu ve daha fazla çözünürlüğü nedeniyle, yüksek oranda deasetile edilmiş kitosanın daha yüksek antimikrobiyel özelliği vardır (17, 18). Deasetilasyon derecesi arttıkça, hücre membranına elektrostatik bağlanma ve geçirgenlik etkisi artarken; kitosanın molekül ağırlığı arttıkça, hücre çekirdeği içine nüfuz azalmaktadır (19).

Kitosan, genel olarak %0.1 konsantrasyonda gram pozitif bakteriler üzerinde gram negatif bakterilere göre daha güçlü bakterisidal etki gösterir. Kitosanın minimum inhibisyon konsantrasyonu; bakteri türlerine ve molekül ağırlığına bağlı olarak %0.05 ile %1 arasında değişmektedir (20).

Yapılan bir çalışmada, kitosanın ( $M_w=3.10^4$ , %75 ve %95 DD) değişen bir antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir: *Enterobacter aerogenes* > *Salmonella typhimurium* > *Staphylococcus aureus* > *Escherichia coli*. %95 DD'ye sahip kitosanın antibakteriyel aktivitesi, %75 DD olan kitosandan daha yüksek bulunmuş ve kitosanın antibakteriyel aktivitesinin temas süresi ile arttığı belirlenmiştir (21).

### **KİTOSANIN HASAT SONRASI HASTALIKLARI ÖNLEMEDE KULLANIMI**

Taze meyve ve sebzeler çok çabuk bozulabilen ve hassas ürünlerdir, bunların hasat sonrası hastalıkları raf ömrü ve depolama sürelerini kısıtlamaktadır. İnsan sağlığı üzerine olası olumsuz etkilerinden dolayı sentetik fungusitlerin gelişigüzel kullanımı üzerine endişe artmaktadır. Bu yüzden, hasat sonrası hastalıkların kontrolü için yeni alternatiflere acil talep vardır. Kitosan, doğal yapısı, antimikrobiyel aktivitesi ve bitki dokusu savunma tepkilerini ortaya çıkarması gibi özellikleri nedeniyle, meyve ve sebzeler için ileriye dönük bir alternatif uygulama haline gelmiştir (22).

Yapılan bir çalışmada, kitosan ve oligokitosan uygulamaları ile hem spor çimlenmesinin hem de *M. fructicola*'nın misel gelişiminin büyük ölçüde inhibe edildiği ve şeftalilerde kahverengi çürümenin kontrolü için doğal fungusit olarak kullanımlarının umut verici olduğu saptanmıştır (23). Benzer çalışmada, kitosan (350 kDa) ve

oligokitosanın (6 kDa) patojenik küfler üzerindeki inhibisyon etkisi ve armutta çürüme kontrolünde kullanım olanağı araştırılmış, bu uygulamaların *Alternaria kikuchiana* ve *Phylospora piricola* misel gelişimini inhibe ettiği ve meyve hasat sonrası hastalıklarının kontrol etmek için sentetik fungusitlere alternatif olarak kullanılabilceği belirlenmiştir (24).

Kayısıda meyve çürüğüne neden olan patojen *Burkholderia seminalis*'e karşı suda ve asitte çözünebilir kitosanın etki mekanizması ve invitro antibakteriyel aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, 1 mg/ml'den daha düşük konsantrasyondaki kitosan uygulamaları zayıf bir antibakteriyel aktivite göstermiş olmasına rağmen, 2 mg/ml asitte çözünebilir kitosanın, *B. seminalis*'e karşı güçlü bir antibakteriyel aktivite gösterdiği ve sonuç olarak, *B. seminalis*'in neden olduğu kontaminasyonunun kontrolünde asitte çözünebilir kitosanın potansiyel olarak kullanılabilir olduğu saptanmıştır (25).

*Colletotrichum sp*'a karşı domates ve üzümün kitosan uygulaması ile korunmasının değerlendirildiği bir çalışmada; enfekte dokulara 5 farklı konsantrasyonda (% 0, 1, 1.5, 2, 2.5) kitosan uygulanmış ve lezyon çapları ölçülerek etkili olup olmadığı belirlenmiştir. Kitosanın, 7 günlük inkübasyondan sonra en yüksek üç konsantrasyonda, bu küfün gelişimini önemli ölçüde ( $P<0.05$ ) inhibe ettiği belirlenmiştir (26).

Domateslerde *Botrytis cinerea* (Pers.) tarafından oluşturulan gri küf üzerine, farklı molekül ağırlıklı ( $0.5 \times 10^4$ ,  $3.7 \times 10^4$ ,  $5.7 \times 10^4$  ve  $2.9 \times 10^5$  g/mol) kitosanların etkinliğini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada; kitosanın molekül ağırlığı arttıkça, antifungal aktivitesinin arttığı, 2000 ve 4000 mg/L konsantrasyonlarda yaralı dokuya inoküle edilmiş kitosan çözeltilerinin, domateslerde tam bir küf kontrolü sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca, kitosan uygulamasının, PPO (polifenol oksidaz) aktivitesini azalttığı, toplam protein ve fenolik bileşikler arttırdığı saptanmıştır. Bu bulguların, domates meyvesinde gri küf kontrolünde, kitosanın doğrudan fungitoksik patojene karşı olan antimikrobiyel etkisi ve meyve biyokimyasal savunma tepkilerini ortaya çıkarma etkisi ile ilgili olduğu düşünülmektedir (27).

### **KİTOSANIN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ**

Portakal suyunun raf ömrünü uzatmak için yapılan bir optimizasyon çalışmasında; kitosan uygulamasının meyve suyu kalitesi ve besin değerlerine olan etkisi incelenmiş, 1 g/L'den fazla konsantrasyonlarda kitosan kullanımının, portakal

suyunda depolama süresi boyunca askorbik asit ve karotenoid içeriğini koruyarak kaliteyi geliştirdiği saptanmıştır. Yapılan analizler; kitosanın enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşmeyi azalttığı ve depolama sırasında bozulmayı kontrol etmede kullanıldığı, ayrıca kitosana zenginleştirilmiş portakal suyunun kalitesinin önemli ölçüde ( $P<0.05$ ) arttığı gözlenmiştir (28).

Yapılan bir çalışmada yeni bir gıda koruyucu madde olarak kitosan glukoz kompleksi (CGC) incelenmiştir. Sadece glukoz ya da kitosanın önemli bir antioksidan aktivitesi olmadığı halde, CGC'nin mükemmel bir antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. CGC'nin, gıdalarda bozulmaya neden olan *E. coli*, *Pseudomonas*, *S. aureus* ve *Bacillus cereus*'a karşı kitosana benzer antimikrobiyel aktivite gösterdiği ve çeşitli gıda formülasyonları için gelecek vaat eden yeni bir koruyucu madde olarak kullanılabilceği bildirilmektedir (29).

#### **KİTOSANIN YENİLEBİLİR FİMLERDE KULLANIMI**

Yenilebilir filmler; basit üretim teknolojisi gerektirmeleri, ucuz olmaları, doğal bileşiklerden elde edilmeleri, fonksiyonel özelliklerindeki çeşitlilik ve biyolojik olarak bozunabilmeleri nedeniyle son yılların dikkat çeken ambalaj materyalleri olarak bilinmektedirler (30). Plastikler gibi geleneksel ambalaj malzemelerinin çevreye olumsuz etkileri ve gıda ürünleri ile ilgili kontaminasyon ile ilişkili artan endişeler, kitosan ve bunun türevleri gibi biyoaktif malzemelerin önemli bir potansiyel kazanmasına sebep olmuştur (31). Kitosan kaplama uygulaması, yarı geçirgen bir bariyer oluşturur ve su kaybını azaltır, gaz değişimini kontrol eder, böylece, doku sıklığı sağlar ve hasat edilmiş sebzelerin mikrobiyel bozulmaları uzun süre engellenmiş olur. Bu durum özellikle meyve ve sebzelerin olgunlaştırılmasının kontrolünde oldukça önemlidir (17, 32). Ayrıca, bu uygulama ile fenolik maddelerin oksidasyonuna neden olan PPO aktivitesi inhibe edilerek enzimatik esmerleşme reaksiyonlarının azaltıldığı ve dolayısıyla gıdaların duyu özelliklerinin de olumlu yönde etkilendiği belirlenmiştir (3). Nitekim 5 ml/L konsantrasyonunda kitosan içeren yenilebilir kaplama ile kaplanan tüketime hazır havuçlarda depolama süresince (4 °C sıcaklıkta 12 gün) renk kalitesinin korunduğu ve yüzey renginde meydana gelen beyazlaşmanın azaldığı ortaya konmuştur (33).

Krasaekoopt ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada, taze dilimlenmiş kavunları kitosan (%0-2, w/w) içeren metilselüloz çözeltisi ile kaplamışlar ve 10 °C'de 15 gün süreyle depolamışlardır. Farklı derişimdeki kaplama çözeltileri içinde mikroorganizmalar üzerinde en yüksek logaritmik azalma, %1.5 (w/w) oranında kitosan içeren kaplama çözeltileri ile sağlanmıştır. Depolama süresi sonunda bu çözelti ile kaplanmış örneklerdeki mezofilik, psikrotrof, laktik asit, toplam koliform bakteri ve maya-küf sayısında sırasıyla 3.3, 3.9, 3.1, 3.8 ve 1.1 log kob/g azalma görülmüştür. Kavun dilimlerinin raf ömrü 10 °C'de 10 gün artmıştır (34).

Hernandez-Munoz ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada; çileklere kalsiyum glukonat çözeltisi (%1), kitosan (%1.5) ve %1.5 kitosan+%1 kalsiyum glukonat içeren kaplama uygulamaları yapılmıştır. 20 °C'de 4 gün depolama sonrasında; %1.5 kitosan kaplama uygulaması ile ağırlık kaybının azaltıldığı ve fungal çürüme belirtisinin olmadığı bulgulanmıştır (35). Yapılan benzer bir çalışmada; dilimlenmiş çilekler %1'lik kitosan çözeltisi ile kaplanmış, yüksek (%80) ve düşük (%5) oksijen içeren modifiye atmosferde paketlenmiştir. Yüksek oranda oksijen içeren modifiye atmosfer paketleme ve kitosan kaplama uygulamasının kombine edilmesi ile enzimatik kararım kontrol altına alındığından renk üzerinde pozitif bir etki görüldüğü, kitosanın antimikrobiyel aktivitesi nedeniyle mikroorganizma gelişiminin inhibe edilerek ürünün mikrobiyel raf ömrünün arttığı saptanmıştır (36).

Whang ve Gao (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, kitosan esaslı yenilebilir kaplamaların; antioksidanlar, antioksidan enzim sistemi ve çileklerin (*Fragaria x ananassa* Duch.) hasat sonrası kalitesine etkileri araştırılmış, 20 °C de 5 dakika 0.5, 1 ve 1.5 g/100 ml kitosan çözeltilerine daldırılıp, 5 ve 10 °C de depolanan çileklerin raf ömrünün uzadığı ve çürüme kontrolünün sağlandığı saptanmıştır. Aynı zamanda, kitosan film ile kaplanan çileklerde; fenolik maddeler, antosiyaninler, flavonoidler ve antioksidan enzim aktivitesi, işlem görmemiş meyvelere göre daha yüksek düzeylerde bulunmuştur (37).

Vu ve ark. (2011) yaptığı bir çalışmada, çileklerin raf ömrünü artırmak için modifiye edilmiş kitosana, limonen ve nane ekstraktı ilave edilmiş ve depolama sırasında özellikleri test edilmiştir.



Limonen ve tween 80 içeren modifiye kitosan formülasyonlarının, diğer formülasyonlardan (kekik ve mercanköşk ekstraktı içeren) daha iyi özellikler gösterdiği belirlenmiştir (38).

Chien ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada; farklı konsantrasyonlarda kitosan çözeltileri ile (% 0, 0.5, 1.0 ve 2.0) muamele edilen dilimlenmiş meyveler PVCD ile kaplandıktan sonra 25 °C'de muhafaza edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda kitosanın su kaybını geciktirmesi ve duyu kaliteyi korumasının yanı sıra mikroorganizma gelişimini inhibe ettiği saptanmıştır (39).

Zhang ve ark. (2011)'nin yaptığı bir çalışmada, düşük molekül ağırlıklı kitosan ile kaplanan turuncgillerin; 25 C'de 14 gün depolamadan sonra, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, *Botrydiploia lecanidion* ve *Botrytis cinerea* bozulmalarını önemli ölçüde inhibe ettiği belirlenmiştir. Öte yandan; sertlik, toplam suda çözünebilir kuru madde, titre edilebilir asitlik ve askorbik asit içeriğinin de olumlu yönde etkilendiği bulgulanmıştır (22).

Soğukta saklanan brokolinin mikrobiyolojik ve duyu kalitesi üzerine kitosan film ile kaplama uygulamasının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; kitosan kaplama uygulamasının, depolama süresi boyunca toplam koliform gelişimini engellediği, kontrol örneklerine göre toplam mezofil ve psikrofil bakteri sayılarında önemli azalmalar olduğu saptanmıştır. Ayrıca, kitosan uygulaması toplam E.coli sayımı üzerinde de bakterisidal bir etki meydana getirmiş, sararma ve renk açılmalarını (klorofil parçalanması) inhibe etmiştir (17).

Hasat sonrası sofralık üzümün kalite özelliklerini korumak ve mikrobiyel güvenliğini sağlamak için HPMC (hidroksi propil metil selüloz) ve kitosan (CH) yenilebilir filmlerinin etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada; film uygulamaları hem direkt olarak hem de bergamot yağı ile birleştirilmiş olarak kompozit film şeklinde uygulanmıştır. Bergamot yağı eklenmiş kitosan kaplamaların; saf CH ve HPMC kaplamalardan daha etkili olduğu, depolama sırasında su kaybını çok iyi bir şekilde kontrol ettiği ve bu yüzden yüksek antimikrobiyel aktivite gösterdiği, ayrıca; renk değişimini inhibe edip, esmerleşme oranını azalttığı belirlenmiştir (40).

Pranoto ve ark. (2005) sarımsak yağı (100 µL/g kitosan), potasyum sorbat (100 mg/g kitosan) veya nisin (51x10<sup>3</sup> IU/g kitosan) ilave edilen kitosan

filmlerin, *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* ve *B. cereus* gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel aktivitelerini incelemişler; *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *B. cereus* üzerine antimikrobiyel etki gösteren kitosan filmlerden en güçlü antimikrobiyel etkiyi sarımsak yağı içeren kitosan filmlerin gösterdiğini rapor etmişlerdir (41). Yapılan bir çalışmada; kitosan filmlerin içerisine farklı konsantrasyonlarda çay ağacı esansiyel yağı eklenerek, CH-TTO (kitosan-çay ağacı esansiyel yağı) kompozit filmlerin *Listeria monocytogenes* ve *Penicillium italicum*'a karşı antimikrobiyel etkinliği incelenmiştir. TTO:CH oranı 1'den büyük olan kompozit filmler, 3 günlük depolamadan sonra *Penicillium*'a karşı sınırlı bir antifungal etki göstermiş ayrıca, CH:TTO oranı 1:2 olduğunda bu filmlerin antimikrobiyel özelliklerinin arttığı saptanmıştır (42).

Diğer bir çalışmada ise, kitosan ve HPMC bazlı filmlere, farklı konsantrasyonlarda bergamot, limon ve çay ağacı esansiyel yağları eklenerek, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı filmlerin antibakteriyel etkinliği 10 °C'de 12 günlük depolama süresince incelenmiştir. HPMC-EO (esansiyel yağ) ve CH-EO kompozit filmler, 3 patojen bakteriye karşı önemli bir antimikrobiyel aktivite göstermiş, tüm film matrisleri içinde en yüksek antimikrobiyel aktiviteyi çay ağacı esansiyel yağı içeren filmlerin gösterdiği saptanmıştır. Mikrobiyel gelişme için tam bir inhibisyon; *E.coli* için HPMC-TTO veya CH filmlerde; *L.monocytogenes* için HPMC-TTO ve *S.aureus* için HPMC-BO filmlerde belirlenmiştir (43).

Zivanovic ve ark. (2005) yaptıkları bir çalışmada; anason, fesleğen, kişniş, kekik esansiyel yağlarını içeren kitosan filmlerin *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyel aktiviteleri belirlenmiştir. Esansiyel yağların, tek başlarına ve film içerisinde kullanıldıklarında aynı antimikrobiyel aktiviteyi gösterdikleri saptanmıştır. Ayrıca %1 ve %2 oranında kekik esansiyel yağı içeren kitosan filmlerin *L. monocytogenes* sayısını sırayla 3, 6 ve 4 logaritmik evre azalttığı bildirilmiştir (44).

%0.5, %1, %2 ve %3 (w/w) bergamot esansiyel yağı (BO) içeren kitosan (CH) esaslı kompozit filmlerin (CH-BO) *Penicillium italicum*'a karşı antifungal etkinliğinin incelendiği bir çalışmada, bergamot yağı ile birleştirilen filmlerde su buharı geçirgenliğinde bir azalma görülmüş, 3:1 oranında

BO-CH kullanıldığında, bu azalmanın yaklaşık %50 olduğu saptanmıştır. Filmlerin antifungal etkinliğinin depolama süresi boyunca azalmasına rağmen, yüksek bergamot yağı konsantrasyonu kullanılarak oluşturulan filmlerde, 20 °C'de 12 gün depolamadan sonra, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında 2 logaritmik azalma meydana geldiği belirlenmiştir (45).

### **KİTOSANIN DURULTMA YARDIMCI MADDESİ OLARAK KULLANIMI**

Meyve suyu üretiminde, presten alınan bulanık meyve suları, farklı irilikte meyve dokusu parçacıkları, protein-tanen kompleksleri, çözünmeyen proteinler, aktif enzimler, canlı ve ölü mikroorganizmalar gibi unsurları süspansiyon yapmış olarak içerirler. Meyve sularını bulanık gösteren unsurlar esas olarak bunlardır. Durultma aşamalarından biri olan depektinizasyon işlemi, durultma tanklarına alınan bulanık meyve suyuna pektolitik ve gerekirse amilolitik enzim eklenerek pektin ve nişasta gibi kolloidler parçalanır ve bu kolloidler flok yapabileceği özelliği kazanır. Berraklaştırma aşamasında ise, ön deneylerle dozajları saptanmış miktarlarda "durultma yardımcı maddeleri" eklenir. Meyve suyu endüstrisinde kullanılan geleneksel durultma yardımcı maddeleri; jelatin, kiselsol, bentonit, PVPP ve aktif kömürdür (2, 46).

Kitosan, güçlü pozitif yükler taşıması nedeniyle, meyve suyundaki negatif yüklü kolloidlerle elektrostatik etkileşime girerek, bulanıklığa neden olan bu parçacıkların çökmesini sağlamaktadır. Dolayısıyla kitosan, geleneksel durultma yardımcı maddelerine alternatif olan, etkili bir durultma yardımcı maddesi olarak kullanılabilir (32, 47). Greyfurt ve elma sularında kitosanın ve kitosana birlikte pektinazın etkili bir durultma yardımcı maddesi olduğu ve 0.8 kg/m<sup>3</sup> kitosanın üründeki bulanıklığı tamamen giderebildiği bildirilmiştir (2).

Domingues ve ark.(2011) tarafından yapılan çalışmada, karides kabuklarından elde edilen kitosanın çarkifelek meyvesi (maruçya) (passion fruit) suyunu durultmak için doğal ve çevre dostu bir adsorban olduğu belirlenmiştir. Yapılan denemelerde kitosan uygulaması için en iyi durum, santrifügasyon (4000-12000 rpm) ve enzimatik uygulamalar (1 ml/L pektinex 3X L, 50 °C'de 90 dakika) ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada, viskozite azalışı açısından enzimatik uygulama ile kitosan uygulamasının aynı düzeyde etki gösterdiği

belirlenmiş, santrifüj işleminden (4000 rpm) sonra pH 6'da 300 ppm kitosan kullanılarak yapılan durultma uygulamasının ise meyve sularını durultmak için en uygun koşul olduğu bildirilmiştir (48).

Elma suyunun durultulmasında fungal kaynaklı kitosanın kullanıldığı bir çalışmada; kitosanın üretimi, *Absidia glauca var. paradoxa* IFO 4007, 24 °C'de, sıvı ortamda ve karıştırma hızı 100 ve 200 rpm olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, fungal kaynaklı kitosan ve deniz kabuklarından hazırlanan ticari kitosan ile yapılan durultma uygulamaları sonucunda, elma sularının bulanıklık değerleri 3.038 NTU ve 3.212 NTU olarak ölçülmüştür. 40 °C'de 0.7 g/L fungal kaynaklı kitosan uygulaması ile maksimum berraklığa ulaşılmıştır (49).

Chatterjee ve ark. (2004)'nin yaptığı bir çalışmada; karides kabuklarından elde edilmiş, %7 asetik asitle hidrolize edilmiş suda çözünür kitosan, meyve sularına %2'lik 5 ml kitosan çözeltisi (100 mg suda çözünür kitosan) şeklinde eklenmiş, 90 dakika karıştırılıp 25 °C'de muhafaza edilmiştir. Elma, üzüm, limon ve portakal suları için, bentonit, jelatin ve kitosan durultma ajanları kullanılmış; uygulamalar arasında, meyve sularının titrasyon asitliğine etkileri bakımından önemli bir farkın olmadığı ve kitosanın farklı meyve sularını durultmak için düşük konsantrasyonlarda bile etkili olduğu saptanmıştır (50).

Kitosanın meyve sularının asiditesinin kontrolünde de önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Durultma amacıyla kullanılan kitosanın, havuç, elma ve greyfurt sularının titrasyon asitliğinde azalmaya neden olduğu; greyfurt sularına 0.015 g/ml konsantrasyonunda eklenen kitosanın sitrik, tartarik, L-malik, okzalik ve askorbik asit miktarını sırasıyla % 56.6, 41.2, 38.8, 36.8, 6.5 azalttığı belirlenmiştir (14).

### **SONUÇ**

Gelişen teknoloji ile beraber, meyve sebze endüstrisinde kitosanın kullanım potansiyelinin artırılması, gelecekte bu konuda yapılacak olan araştırmaların temel hedefi olmalıdır. Yapılacak çalışmalarla, gıda sanayinde henüz kullanımı yaygın olmayan kitosanın daha ucuz üretim yöntemlerinin geliştirilmesi, bu biyopolimerin kullanım alanlarını daha da genişletecektir.

Kitosanın bu şekilde kullanım olanaklarının genişletilmesiyle, doğada büyük miktarda atık yükü oluşturan deniz kabuklularının önüne geçilmesinin yanı sıra biyopolimer kullanımıyla başta insan sağlığı olmak üzere herhangi bir yan etki göstermeyen ürünlerin kullanım avantajından da yararlanılmış olacaktır. Sonuç olarak; kitosan konusunda yapılan çalışmalar, kitosanın meyve-sebze işleme endüstrisinin farklı alanlarında kullanılabilir, güvenli, etkili ve çok yönlü bir biyopolimer olduğunu göstermektedir.

### KAYNAKLAR

1. Yazgan İ. 2010. Kitosanın kimyasal modifikasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 98 s.
2. Cemeroglu B (ed). 2009. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*. 1. Cilt. 3. Baskı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:38, Bizim Grup Basımevi Ankara, Türkiye, 707p.
3. Koç B, Özkan M. 2011. Gıda Endüstrisinde Kitosanın Kullanımı. *GIDA*, 36 (3): 161-168.
4. Demir A, Seventekin N. 2009. Kitin, Kitosan ve Genel Kullanım Alanları. *Teknolojik Araştırmalar: TTED*, 3(2): 92-103.
5. Kurita K. 2001. Controlled functionalization of polysaccharide chitin. *Prog Polym Sci*, 26: 1921-1971.
6. Kumar MNVR. 2000. A review of chitin and chitosan applications. *React & Funct Polym*, 46: 1-27.
7. Kurita K. 1998. Chemistry and application of chitin and chitosan. *Polym Degr Stability* 59:117-120.
8. Rinaudo M, Pavlov G, Desbrieres J. 1999. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. *Polym* 40:7029-7032.
9. Gökçe Y. 2008. Kitosan Nanoparçacıklarının Sentezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, s. 3-16.
10. Tarım E. 2011. Kitosan ile sulu çözeltilerden krom uzaklaştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Isparta, Türkiye, s. 14-16.
11. Uslu B, Arbak S. 2010. Doku Mühendisliğinde Kitosanın Kullanım Alanları. *ACU Sağlık Bil Derg*, 1(3): 128-135.
12. Rinaudo M. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog Polym Sci*, 31: 603-632.
13. Prashanth KVH, Tharanathan RN. 2007. Chitin/ chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. *Trends Food Sci Technol*, 18: 117-131.
14. Shaidi F, Arachchi JKV, Jeon YJ. 1999. Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Sci Technol*, 10: 37-51.
15. Devlieghere F, Vermeulen A, Debevere J. 2004. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiol*, 21: 703-714.
16. Bostan K, Aldemir T, Aydın A. 2007. Kitosan ve antimikrobiyel aktivitesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 37(2): 118-127.
17. Moreira MR, Roura SI, Ponce A. 2011. Effectiveness of chitosan edible coatings to improve microbiological and sensory quality of fresh cut broccoli. *LWT Food Sci Technol*, 44: 2335-2341.
18. Dutta PK, Tripathi S, Mehrotra GK, Dutta J. 2009. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chem*, 114: 1173-1182.
19. Aranaz I, Mengibar M, Harris R, Panos I, Miralles B, Acosta N, Galed G, Heras A. 2009. Functional Characterization of Chitin and Chitosan. *Curr Chem Biol.*, 3: 203-230.
20. Xia W, Liu P, Zhang J, Chen J. 2011. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. *Food Hydrocoll*, 25: 170-179.
21. Chung YC, Chen CY. 2008. Antibacterial characteristics and activity of acid-soluble chitosan. *Bioresource Technol*, 99: 2806-2814.
22. Zhang H, Li R, Liu W. 2011. Effects of Chitin and Its Derivative Chitosan on Postharvest Decay of Fruits: A Review, *Int. J. Mol. Sci.*, 12: 917-934.
23. Yang LY, Zhang JL, Bassett CL, Meng XH. 2012. Difference between chitosan and oligochitosan in growth of *Monilinia fructicola* and control of brown rot in peach fruit. *LWT Food Sci Technol*, 46: 254-259.
24. Meng X, Yang L, Kennedy JF, Tian S. 2010. Effects of chitosan and oligochitosan on growth of two fungal pathogens and physiological properties in pear fruit. *Carbohydr Polym*, 81: 70-75.
25. Lou MM, Zhu B, Muhammad İ, Li B, Xie GL, Wang YL, Li HY, Sun GC. 2011. Antibacterial activity and mechanism of action of chitosan solutions against apricot fruit rot pathogen *Burkholderia seminalis*. *Carbohydr Res*, 34: 1294-1301.

26. Munoz Z, Moret A, Garces S. 2009. Assessment of chitosan for inhibition of *Colletotrichum* sp. on tomatoes and grapes. *Crop Protection*, 28: 36-40.
27. Badawy MEI, Rabea EI. 2009. Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. *Postharvest Biol Technol*, 51: 110-117.
28. Martin-Diana AB, Rico D, Barat JM, Barry-Ryan C. 2009. Orange juices enriched with chitosan: Optimisation for extending the shelf-life. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 10: 590-600.
29. Knatt SR, Chander R, Sharma A. 2008. Chitosan glucose complex – A novel food preservative. *Food Chem.*, 106: 521-528.
30. Ayana B, Turhan KN. 2010. Gıda Ambalajlamasında Antimikrobiyel Madde İçeren Yenilebilir Filmler/ Kaplamalar ve Uygulamaları. *GIDA*, 35(2), 151-158.
31. Aider M. 2010. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT Food Sci Technol*, 43: 837-842.
32. Kurt Ş, Zorba Ö. 2005. Kitin, Kitosan ve Türevlerinin Gıdalarda Kullanım Olanakları. *GIDA*, 30(6): 371-378.
33. Sim ADN, Tudela JA, Allende A, Puschmann R, Gil MI. 2009. Edible coatings containing chitosan and moderate modified atmospheres maintain quality and enhance phytochemicals of carrot sticks. *Postharvest Biol Technol*, 51: 364-370.
34. Krasaekoopt W, Mabumrung J. 2008. Microbiological evaluation of edible coated freshcut cantaloupe. *Nat Sci*, 42: 552-557.
35. Hernandez-Munoz P, Almenar E, Ocio MJ, Gavara R. 2006. Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Postharvest Biol Technol*, 39: 247-253.
36. Campaniello D, Bevilacqua A, Sinigaglia M, Corbo MR. 2008. Chitosan: Antimicrobial activity and potential applications for preserving minimally processed strawberries. *Food Microbiol*, 25: 992-1000.
37. Wang SY, Gao H. 2012. Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *LWT Food Sci Technol*, 1-9.
38. Vu KD, 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 Res Int*, 44: 198-203.
39. Chien P, Sheu F, Yang F. 2007. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *J Food Eng*, 78: 225-229.
40. Sánchez-González L, Pastor C, Vargas M, Chiralt A, González-Mart nez C, Cháfer M. 2011. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biol Technol*, 60: 57-63.
41. Pranoto Y, Rakshit SK, Salokhe VM. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT Food Sci Technol*, 38: 859-865.
42. Sánchez-González L, González-Mart nez C, Chiralt A, Cháfer M. 2010. Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composite films. *J Food Eng*, 98: 443-452.
43. Sánchez-González L, Cháfer M, Hernández M, Chiralt A, González-Mart nez C. 2011. Antimicrobial activity of polysaccharide films containing essential oils. *Food Control*, 22: 1302-1310.
44. Zivanovic Z, Chi S, Draughon AF. 2005. Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils. *J Food Sci*, 70 (1): 45-51.
45. Sánchez-González L, Cháfer M, Chiralt A, González-Mart nez C. 2010. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydr Polym*, 82: 277-283.
46. Cemeroğlu B, Karadeniz F. 2001. Meyve Suyu Üretim Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Dergisi Yayın No:25, Ankara, Türkiye, 384p.
47. Muzzarelli RAA, Boudrant J, Meyer D, Manno N, DeMarchis M, Paoletti MG. 2012. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. *Carbohydr Polym*, 87: 995-1012.
48. Domingues RCC, Junior SBF, Silva RB, Cardoso VL, Reis MHM. 2011. Clarification of passion fruit juice with chitosan: Effects of coagulation process variables and comparison with centrifugation and enzymatic treatments, *Process Biochem*, 1-30.
49. Rungsardthong V, Wongvuttanakul N, Kongpien N, Chotiwaranon P. 2006. Application of fungal chitosan for clarification of apple juice. *Process Biochem*, 41, 589-593.
50. Chatterjee S, Chatterjee S, Chatterjee BP, Guha AK. 2004. Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochem*, 39: 2229-2232.