



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOPOLİMER ESASLI GIDA AMBALAJ FİMLERİN GIDA TAZELİĞİNİN
BELİRLENMESİNDE KULLANIMI

Saida HUSEYNOVA

DANIŞMAN

Doç. Dr. SALİHA ESİN ÇELİK

(danışman imzalı olacaktır)

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya, Tezli Yüksek Lisans Programı

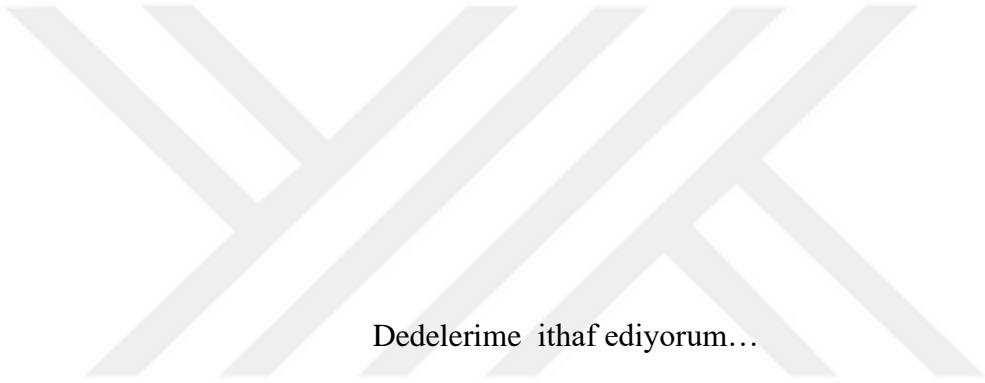
Haziran, 2024

TEZ KABUL VE ONAYI

Saida HUSEYNOVA tarafından, **Doç. Dr. Saliha Esin ÇELİK** danışmanlığında hazırlanan "**Biyopolimer esaslı gıda ambalaj filmlerin gıda tazeliğinin belirlenmesinde kullanımı**" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **13/06/2024** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Doç. Dr. Saliha Esin ÇELİK İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kimya Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Prof. Dr. Aslı BAYSAL İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Doç. Dr. Burcu BEKDEŞER İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kimya Anabilim Dalı	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret



Dedelerime ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

BİYOPOLİMER ESASLI GIDA AMBALAJ FİMLERİN GIDA TAZELİĞİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANIMI

Bu tez çalışması için herhangi bir kurumdan bütçe desteği alınmamıştır.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansa başladığım ilk günden beri bana her konuda yardımcı olan, çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Saliha Esin ÇELİK'e desteği ve değerli rehberliği için çok minnettarım.

Sevgili hocalarım Öğr. Gör. Dr. Ayşe Nur ÖNEM'e, Doç. Dr. Esin AKYÜZ'e ve Doç. Dr. Burcu BEKDEŞER'e katkıları için çok teşekkür ediyorum.

Bu hayattaki en büyük şansım olan babam Faig HUSEYNOV'a, annem İlhame BABANLI'ya, kardeşlerim Nureddin HUSEYNOV'a ve Ülker HUSEYNOVA'a her zaman, her konuda bana destek oldukları için teşekkür ederim.

Değerli arkadaşım Şayida MAMMADALI'e tez çalışma sürecimdeki destekleri için minnettarım.

Haziran 2024

Saida HUSEYNOVA

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ.....	xiv
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xv
ÖZET	xvi
ABSTRACT	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	3
2.1. Biyopolimerler	3
2.1.1. Selüloz.....	4
2.1.2. Nişasta	5
2.1.3. Kitin - Kitosan.....	5
2.1.4. Aljinat.....	6
2.1.5. Polivinil alkol (PVA)	7
2.1.6. Polilaktik asit (PLA)	7
2.1.7. Poliglikolid acid (PGA).....	8
2.1.8. Whey proteini.....	8
2.1.9. Jelatin	9
2.1.10. Albumin.....	9
2.2. Aronya meyvesi (Aronia Melanocarpa L.) ve genel özellikleri	9
2.3. Antosiyaninler ve genel özellikleri	11
2.4. Antosiyaninlerin enkapsülasyonu	13
2.4.1. Püskürterek kurutma (Spray-drying).....	14
2.4.2. Dondurarak kurutma (Freeze-drying)	14

2.4.3. Elektrospreyleme/Elektrospinning	15
2.4.4. İnküzyon kompleksleşme	15
2.5. Antosiyaninlerin enkapsülasyonuna ait literatür çalışmaları	17
2.6. Biyopolimerlerin gıda ambalajlamada kullanımı	18
2.6.1. Biyobozunur ambalaj filmler	19
2.6.2. Aktif ambalaj filmler	19
2.6.3. Akıllı ambalaj filmler	20
3. YÖNTEM	23
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	23
3.2. Kullanılan cihazlar	23
3.3. Çözeltilerin hazırlanması	24
3.3.1. Biyopolimer çözeltilerinin hazırlanması	24
3.3.2. CUPRAC yöntemi reaktiflerinin hazırlanması	24
3.3.3. pH-diferansiyel yöntemi çözeltilerinin hazırlanması	24
3.3.4. DPPH radikal çözeltilisinin hazırlanması	24
3.4. Endüstriyel aronya posası ultrasonik-destekli ekstraksiyonu	25
3.4.1. Çözücü oranı	26
3.4.2. Ekstraksiyon süresi	26
3.5. Beta-siklodekstrinlerle freeze-drying yöntemi ile inküzyon komplekslerinin eldesi ...	26
3.5.1. Mikroenkapsülasyon ürün yüzdesinin belirlenmesi	27
3.5.2. Mikroenkapsülasyon veriminin belirlenmesi	27
3.5.3. Yapı karakterizasyon analizi	28
3.5.4. İnküzyon komplekslerinin stabilite testleri	28
3.6. Aronya posası ekstraktlarının ve mikroenkapsüle toz ekstraktların spektroskopik analizleri	29
3.6.1. CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan kapasite analizi	29
3.6.2. DPPH yöntemi ile radikal süpürme aktivite analizi	29
3.6.3. pH-diferansiyel yöntemi ile toplam monomerik antosiyanin içerik analizi	30
3.7. Antosiyaninlerin kromatografik analizi	30
3.8. Biyopolimer filmlerin hazırlanması	31
3.9. Biyopolimer filmlerin fiziksel analizleri	32
3.9.1. Kalınlık	32
3.9.2. Işık absorpsiyonu ve geçirgenliği	32
3.9.3. Opaklık	32
3.9.4. Nem içeriği (%)	33

3.9.5. Suda çözünürlük (%).....	33
3.9.6. Su buharı geçirgenliği	33
3.9.7. Çekme direnci ve kopmada uzama yüzdesi	34
3.10. Biyopolimer filmlerin karakterizasyonu	34
3.10.1. İnfrared spektrumlarının (FT-IR) eldesi.....	34
3.10.2. Termogravimetrik (TGA) analiz	34
3.10.3. Diferansiyel taramalı kalorimetrik (DSC) analiz	34
3.10.4. Taramalı elektron mikroskopisi ile görüntüleme	34
3.11. Biyopolimer filmlerin antioksidan/radikal süpürme/antosiyanın içerik analizi	35
3.12. Biyopolimer filmlerin antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi	35
3.13. Biyopolimer filmlerin renk analizleri	35
3.14. Biyopolimer filmlerin stabilite testleri.....	36
3.15. Amonyak hassasiyeti testi.....	36
3.16. Akıllı sensör olarak gıda ambalajı uygulanması.....	36
4. BULGULAR	38
4.1. Ultrasonik-Destekli Ekstraksiyon Optimizasyonu.....	38
4.1.1. Optimum ekstraksiyon çözücüsünün belirlenmesi.....	38
4.1.2. Optimum ekstraksiyon süresinin belirlenmesi	38
4.2. Aronya posalarının mikroenkapsülasyonu-freeze drying işlemi	39
4.3. Mikroenkapsüle posa örneğinin FTIR spektrumunun eldesi	39
4.4. Mikroenkapsüle posa örneğinin UV-Vis spektrumunun eldesi	40
4.5. Aronya posası ekstraktı ve mikroenkapsüle posa örneğinin DSC ile termal özelliklerinin belirlenmesi	41
4.6. Aronya posası ekstraktı ve mikroenkapsüle toz ekstraktların toplam antioksidan kapasite, radikal süpürme aktivite ve toplam antosiyanın içeriğinin belirlenmesi	41
4.7. Aronya posası ekstraktı ve mikroenkapsüle toz ekstraktların kromatografik analizi	42
4.8. Toz aronya posası ekstraktı ve mikroenkapsüle aronya posası numunesinin pH'a bağlı renk değişimleri	43
4.9. Mikroenkapsüle posa örneğinin stabilite testi	45
4.10. Karboksi metil selüloz-polivinil alkol esaslı kontrol ve aronya atık posası katkı biyopolimer filmlerin eldesi.....	47
4.11. CMC:PVA biyopolimer filmlerin fiziksel özellikleri.....	48
4.12. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin toplam antioksidan kapasite, radikal süpürme aktivite ve toplam antosiyanın içerikleri.....	49
4.13. CMC:PVA biyopolimer filmlerin mekanik özellikleri.....	49
4.14. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin optik özellikleri	50

4.15. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi	52
4.16. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin termal özelliklerinin belirlenmesi	52
4.17. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi	53
4.18. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin kolorimetrik analizi	54
4.19. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin amonyak testi uygulaması	54
4.20. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin gıda uygulaması	55
5. TARTIŞMA.....	58
5.1. Endüstriyel aronya posasından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu	58
5.2. Aronya posası ekstraktlarının mikroenkapsülasyonu ve karakterizasyonu	59
5.3. Aronya posası ekstraktı ve mikrokapsüllerin antioksidan kapasite, radikal süpürme aktivitesi	61
5.4. Aronya posası ekstraktı ve mikrokapsüllerin toplam antosiyanin içeriğinin belirlenmesi ve pH duyarlılığının izlenmesi	61
5.5. Aronya posası ekstraktı ve mikrokapsüllerin stabiliteleri	63
5.6. CMC:PVA aktif/akıllı filmlerin fizikokimyasal özellikleri	63
5.6.1. FTIR spektrumu	66
5.6.2. Termal özellikleri	66
5.6.3. SEM görüntüleme	67
5.7. CMC:PVA aktif/akıllı biyofilmlerin antioksidan özellikleri	67
5.8. CMC:PVA aktif/akıllı biyofilmlerin mekanik özellikleri	68
5.9. CMC:PVA aktif/akıllı biyofilmlerin antimikrobiyal özellikleri	68
5.10. CMC:PVA aktif/akıllı biyofilmlerin kolorimetrik analizi	69
5.11. CMC:PVA aktif/akıllı biyofilmlerin gıda kalitesinin belirlenmesinde kullanımı	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR.....	72
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	80
ETİK KURUL İZİN YAZISI	81
KURUM İZİN YAZILARI.....	82
ÖZGEÇMİŞ	83

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Biyopolimerlerin sınıflandırılması.....	3
Şekil 2.2. Selülozun moleküler yapısı.....	4
Şekil 2.3. Karboksi metil selülozun moleküler yapısı.....	4
Şekil 2.4. Nişastanın moleküler yapısı	5
Şekil 2.5. Kitin ve kitosanın moleküler yapısı.....	6
Şekil 2.6. Aljinatın moleküler yapısı	6
Şekil 2.7. Polivinil alkolün moleküler yapısı	7
Şekil 2.8. Polilaktik asidin moleküler yapısı	8
Şekil 2.9. Poliglikolid asid moleküler yapısı.....	8
Şekil 2.10. Aronya meyvesi genel görünümü	10
Şekil 2.11. Antosiyaninlerin genel moleküler yapısı.....	11
Şekil 2.12. Antosiyaninlerin pH'a bağlı moleküler yapıları ve renk değişimleri.....	12
Şekil 2.13. Mikro kapsül genel gösterimi.....	13
Şekil 2.14. Siklodekstrinlerin moleküler yapıları	16
Şekil 2.15. Akıllı ambalaj sistemlerinin kullanım alanları	21
Şekil 3.1. Endüstriyel posa örneklerinin analize hazırlanmasında kullanılan ultrasonik homojenizatör	25
Şekil 3.2. Kurutulmuş ve öğütülmüş aronya posası (sol), aronya posası toz ekstrakt (sağ)	26
Şekil 3.3. Aronya toz ekstraktların mikroenkapsülasyonu.....	27
Şekil 3.4. Biyofilmlerin hazırlanmasının şematik gösterimi	32
Şekil 3.5. Akıllı gıda ambalaj filmi uygulamasının gösterimi.....	37
Şekil 4.1. Optimum etanol:su ekstraksiyon çözücüsü oranının belirlenmesi.....	38

Şekil 4.2. Optimum ekstraksiyon süresinin belirlenmesi.....	39
Şekil 4.3. β -CD, Aronya ekstraktı ve mikroenkapsülasyon ürününün FTIR spektrumları	40
Şekil 4.4. β -CD, Aronya ekstraktı ve mikroenkapsülasyon ürününün UV-Vis spektrumları.....	40
Şekil 4.5. Aronya posası toz ekstrakt ile mikrokapsüllerinin sıcaklığa bağlı DSC eğrileri	41
Şekil 4.6. (A) Antosiyanidin standartlarına ait kromatogram (λ : 520 nm) (1: siyanidin-3-o-galaktozid, 2: siyanidin-3-o-glukozid) (B)Atık Aronya posası toz ekstraktına ait HPLC kromatogramı (λ : 520 nm) (1: siyanidin-3-o-galaktozid, 2: siyanidin-3-o-glukozid, 3: siyanidin-3-o-arabinozid) (C) Atık Aronya posası toz ekstraktına ait HPLC kromatogramı (λ : 360 nm) (kaffeoil-kuinik asit türevleri, kuersetin glukozidleri, kuersetin).....	43
Şekil 4.7. (A) Siyanidin klorür standardına ait kromatogram (λ : 520 nm) (B)Atık Aronya posası hidrolizatına ait HPLC kromatogramı (λ : 520 nm).....	43
Şekil 4.8. Mikroenkapsüle aronya örneklerinin toplam antosiyanin ve yüzey (enkapsülenmemiş) antosiyanin içeriğine ait kromatogram (λ : 520 nm) (1: siyanidin-3-o-galaktozid, 2: siyanidin-3-o-glukozid, 3: siyanidin-3-o-arabinozid).....	43
Şekil 4.9. Aronya posası toz ekstraktının pH'a bağlı renk değişimleri ve UV-vis spektrumları.....	44
Şekil 4.10. Mikroenkapsüle aronya posasının pH'a bağlı renk değişimleri ve UV-vis spektrumları.....	45
Şekil 4.11. Aronya toz ekstraktların ve aronya:BCD mikrokapsüllerin süreye bağlı stabilite değişim grafiği	46
Şekil 4.12. Aronya toz ekstraktların ve aronya:BCD mikrokapsüllerin sıcaklığa bağlı stabilite değişim grafiği	46
Şekil 4.13. Biyofilm görselleri	47
Şekil 4.14. Biyopolimer film çözeltilerinin pH'a bağlı UV-Vis spektrumları	48
Şekil 4.15. Kontrol ve APTE katkılı biyopolimer filmlerin UV-Vis spektrumları.....	50
Şekil 4.16. Kontrol ve APTE katkılı biyopolimer filmlerin transmittans spektrumları ...	51
Şekil 4.17. Kontrol ve APTE katkılı biyopolimer filmlerin FTIR spektrumları.....	51
Şekil 4.18. CMC:PVA biyofilmlerin termogravimetrik eğrileri	52
Şekil 4.19. Kompozit filmlere ait DSC eğrileri.....	53

Şekil 4.20. Biyofilmlerin morfolojik görüntüleri (A: CMCPVA-Kontrol; B: CMCPVA-APTE60mg; C:CMCPVA-APTE90mg; D:CMCPVA-APTE120mg; E: CMCPVA-MAPTE (iç grafik: mikrokapsüllerin boyutları); F: toz mikrokapsül.....	53
Şekil 4.21. Kontrol ve APTE katkıli biyopolimer filmlerin renk analiz sonuçları.....	54
Şekil 4.22. Kontrol ve APTE katkıli biyopolimer filmlerin zamana bağlı renk değişim grafiği.....	55



TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1. Biyopolimerler, sınıflandırılması ve genel özellikleri.....	19
Tablo 4.1. Endüstriyel aronya posası toz ekstraktı ve mikroenkapsüle aronya posası toz ekstraktının antioksidan, radikal süpürme aktivite ve toplam antosiyanin içerikleri....	42
Tablo 4.2. Kontrol ve antioksidan katkılı filmlerin fiziksel özellikleri.....	48
Tablo 4.3. CMC:PVA biyofilmlerin toplam antioksidan, radikal süpürme aktivite ve toplam antosiyanin içerikleri.....	49
Tablo 4.4. Sentezlenen biyofilmlerin mekanik özellikleri.....	49
Tablo 4.5. CMC:PVA biyofilmlerin antimikrobiyal özellikleri	52
Tablo 4.6. CMC:PVA biyofilmlerin renk analiz verileri	54
Tablo 4.7. CMC:PVA biyofilmlerin gıda uygulaması verileri.....	56

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
L*	: açıklık/koyuluk
a*	: kırmızı/yeşil
b*	: sarı/mavi
ΔE	: Toplam kromatik kayma
λ	: Dalgaboyu
β	: Beta

Kısaltmalar	Açıklama
APTE	: Aronya posası toz ekstrakt
MAPTE	: Mikroenkapsüle aronya toz ekstrakt
DSC	: Diferansiyel taramalı kalorimetre
TGA	: Termogravimetrik analiz
SEM	: Taramalı elektron mikroskopu
CD	: Siklodekstrin
β-CD	: Beta-siklodekstrin
TS	: Çekme direnci
EAB	: Kopmada uzama
BHA	: Butillenmiş hidroksi anizol
BHT	: Butillenmiş hidroksi toluen
TBHQ	: Tert-butil hidrokinon
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikril hidrazil radikali
CUPRAC	: Bakır(II) iyonu indirgeme kapasite
PVA	: Polivinil alkol
CMC	: Karboksi metil selüloz
TAİ	: Toplam antioksidan kapasite
Cys-3-o-glc	: sistein-3-o-glukozid
UV-Vis	: Ultraviyole-görünür

ÖZET

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

[BİYOPOLİMER ESASLI GIDA AMBALAJ FİLMERİN GIDA TAZELİĞİNİN BELİRLENMESİNDE KULLANIMI]

[Saida HUSEYNOVA]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya, Tezli Yüksek Lisans Programı

[Danışman : Doç. Dr. Saliha Esin ÇELİK]

[Bu tez çalışmasında, gıda tazeliğinin belirlenmesinde alternatif olarak kullanılabilen çevre dostu, biyopolimer esaslı akıllı gıda ambalaj filmlerinin geliştirilmesi ve karakterizasyonu amaçlanmıştır. Karboksi metil selüloz (CMC) (%2, v/v) ve polivinil alkol (PVA) (%8, v/v) polimer çözeltilerinin, gliserol (toplam biyopolimer ağırlığının %30'u) varlığında 1:1 oranında karıştırılmasıyla kasting tekniği kullanılarak CMC:PVA aktif kontrol filmler hazırlanmıştır. pH indikatör materyali olarak pH'a duyarlı antosiyaninlerden yararlanılarak, biyopolimer filmlerin gıda tazeliğinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Antosiyanin kaynağı olarak endüstriyel aronya meyve suyu posasından yararlanılarak çevresel atığın tekrar değerlendirilmesi söz konusu olmuştur ve ultrasonik ekstraksiyon yöntem şartları optimize edilerek aronya posası toz ekstraktları (APTE) elde edilmiştir. Antosiyaninlerin ışık, sıcaklık gibi dış etkenlerden kararlılıkları azaldığından β -siklodekstrinlerle moleküler inklüzyon kompleksi oluşturularak daha kararlı mikroenkapsüle aronya toz ekstraktı (MAPTE) sentezlenmiştir. Enkapsülasyon verimi, spektroskopik yolla %51, kromatografik yolla %52 bulunmuştur. FTIR, UV-Vis spektroskopisi, DSC analizi ve SEM görüntüleriyle kapsüllerin oluştuğu kanıtlanmıştır.

Stabilite testleriyle APTE ve MAPTE örneklerinin zamana ve sıcaklığa bağılı değişimleri incelenmiş, mikroenkapsülasyon ile antosiyaninlerin stabilitelerinin arttığı gözlenmiştir. Kontrol, APTE (60 mg, 90 mg ve 120 mg) katkılı ve MAPTE katkılı akıllı film numunelerinin fiziksel (kalınlık, opaklık, nem yüzdesi, suda çözünürlük, su buharı geçirgenliği), optik (absorpsiyon ve ışık geçirgenliği), kolorimetrik (L, a, b, ΔE değerleri), mekanik (çekme direnci, çekme modülü, kopmada uzama yüzdesi), termal (TGA, DSC eğrileri) ve morfolojik (SEM) özellikleri belirlenmiştir. Toplam antioksidan kapasite (CUPRAC yöntemi), radikal süpürme (DPPH yöntemi) ve toplam antosiyanin içerikleri (pH-diferansiyel yöntemi) ile incelenmiştir. Pozitif ve negatif bakteri türlerine olan antibakteriyel davranışları izlenmiştir. Amonyak testine pozitif cevap veren akıllı filmlerin kullanımıyla, balık numunesinin tazeliğinin oda sıcaklığında 0-96 saat, +4°C’de 48-96 saat boyunca izlenmesi neticesinde film renklerinde hem gözle hem de kolorimetrik olarak değişimin izlendiği başarıyla tespit edilmiştir. |

Haziran 2024 , |102| sayfa.

Anahtar kelimeler: |Aronya posası, endüstriyel atık, mikroenkapsülasyon, aktif/akıllı biyobozunur film, gıda ambalajı, gıda tazeliği kontrolü |

ABSTRACT

[M.Sc. THESIS]

**[USE OF BIOPOLYMER BASED
FOOD PACKAGING FILMS IN DETERMINING FOOD FRESHNESS]**

[Saida HUSEYNOVA]

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Analytical Chemistry, M.Sc. Programme

[Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Saliha Esin ÇELİK]

[In this thesis study, it was aimed to develop and characterise environmentally friendly, biopolymer-based smart food packaging films that can be used as an alternative for determining food freshness. By mixing carboxy methyl cellulose (CMC) (2%, v/v) and polyvinyl alcohol (PVA) (8%, v/v) polymer solutions at a 1:1 ratio in the presence of glycerol (30% of the total biopolymer weight) CMC:PVA active control films were prepared by casting technique. pH sensitive anthocyanins were used as pH indicator material to determine the food freshness of biopolymer films. Industrial aronia fruit juice pulp was used as an anthocyanin source to reuse the environmental waste and aronia pulp powder extracts (APTE) were obtained by optimising the ultrasonic extraction method conditions. Since the stability of anthocyanins decreases due to external factors such as light and temperature, more stable microencapsulated aronia powder extracts (MAPTE) were synthesised by forming molecular inclusion complexes with β -cyclodextrins. Encapsulation efficiency was found as 51% by spectroscopic method and 52% by chromatographic method. FTIR, UV-Vis spectroscopy, DSC analysis and SEM images proved the formation of capsules. The time and temperature dependent changes of APTE and

MAPTE samples were investigated by stability tests and it was observed that the stability of anthocyanins increased with microencapsulation. Physical (thickness, opacity, moisture percentage, water solubility, water vapour permeability), optical (absorption and light transmittance), colorimetric (L, a, b, ΔE values), mechanical (tensile strength, tensile modulus, elongation at break percentage), thermal (TGA, DSC curves) and morphological (SEM) properties of control, APTE (60 mg, 90 mg and 120 mg) and MAPTE-additive smart film samples were determined. Total antioxidant capacity (CUPRAC method), radical scavenging (DPPH method) and total anthocyanin contents (pH-differential method) of APTE, MAPTE and biofilms were analysed. Antibacterial behaviour against positive and negative bacterial species was monitored. With the use of smart films that responded positively to the ammonia test, it was successfully determined that the freshness of the fish sample was monitored for 0-96 hours at room temperature and 48-96 hours at +4°C and that the film colours changed both visually and colorimetrically. |

June 2024, |102| pages.

Keywords: |Aronia pulp, industrial waste, microencapsulation, active/smart biodegradable film, food packaging, food freshness control |

1. GİRİŞ

Polisakkaritler doğada bol miktarda bulunmakla birlikte güvenli, toksik olmayan ve doğada biyolojik olarak yok olabilen çevre dostu maddelerdir. Petrol bazlı ambalaj malzemelerinin katı atıklar üzerindeki çevresel etkisi, biyolojik olarak parçalanabilen polimer malzemelerin kullanılmasıyla aşılabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda, selüloz, nişasta, kitosan, aljinat, pektin, mum, sakız ve bunların farklı oranlarda bileşimleri yenilebilir ve biyobozunur çevre dostu gıda ambalajlarının geliştirilmesi için kullanılmaya başlanmıştır. Polifenoller, esansiyel yağ ve diğer aktif bileşenler gibi biyoaktif maddeler, gıda tazeliğinin korunmasına yardımcı olmak ve gıda bozulmasını önlemek için yenilebilir filmlere dahil edilebilmektedir. Ancak bu biyoaktif bileşenlerle fonksiyonize edilen aktif gıda ambalajları tüketicilere gıdanın tazeliği hakkında gerçek zamanlı bilgi sağlayamaz. Gıdaların korunması ve ürün kalite kontrolünü kolaylaştırmak amacıyla paketlenmiş gıdaların tazeliğinin gerçek zamanlı olarak değerlendirilmesi için çok işlevli aktif ve akıllı gıda ambalajlarının geliştirilmesine giderek daha fazla önem verilmektedir.

Gıda bozulması pH değişimiyle yakından bağlantılıdır. Bu özellikten yararlanılarak, belirteç filmin gözle görülür renk değişimi izlenebilmektedir. Bu amaçla, akıllı gıda ambalajlarında kullanılan kimyasal indikatörler (polianilin, metil kırmızısı ve klorofenol gibi) migrasyon nedeniyle potansiyel güvenlik sorunlarına sahiptir. Bu bileşiklerin yerine doğal pigmentlerin (antosiyanın, kurkumin, klorofil ve karotenoid) akıllı ambalaj filmlerinde kullanılabilirliği büyük ilgi görmüştür. Bunlar arasında antosiyanınler, geniş kaynakları nedeniyle doğal indikatör olarak en yaygın kullanılanıdır. Antosiyanınler, pH değişimine duyarlı olup, kolorimetrik indikatör filmler hazırlamak için ideal bir seçimdir. Antosiyanınler kaynağına bağlı olarak değişmekle birlikte genel itibarıyla pH 2-3 arası kırmızı, pH 4-5'de pembe-mor, pH 6-7'de mor, pH 8-9 gri, pH 9'dan itibaren yeşil ve sarı renklidirler. Bu alandaki araştırmaların öneminin artması nedeniyle tez konusu, gıda tazeliğinin belirlenmesinde alternatif olarak kullanılacak biyopolimer esaslı akıllı gıda ambalaj filmlerinin geliştirilmesi ve karakterizasyonudur. Bu bağlamda, tez çalışmasında antosiyanın kaynağı olarak meyve suyu işletme atığı aronya posası kullanılmıştır. Karboksi metil selüloz ile polivinil alkol biyopolimer olarak seçilmiş, gliserol ilavesiyle kontrol biyopolimerler casting yöntemi ile hazırlanmış ve 48

saat boyunca 40°C’de kurutulmuştur. Antosiyanin kaynağı olarak kullanılan aronya posası toz ekstraktı (APTE) 60 mg, 90 mg ve 120 mg biyofilm çözeltilerine eklenerek akıllı biyofilmler oluşturulmuştur. Antosiyaninlerin ışık ve sıcaklığa olan duyarlılığı sebebiyle stabiliteleri zamanla düşmektedir. Bu durumun önüne geçmek için APTE beta-siklodekstrin ile inklüzyon kompleksleşme tekniğiyle mikroenkapsüle edilmiştir. Mikroenkapsüle aronya toz ekstraktının (MAPTE) enkapsülasyon verimi belirlenmiş ve FTIR, UV-Vis spektroskopisi, DSC analizi ve SEM görüntüleriyle kapsüllerin oluştuğu kanıtlanmıştır.

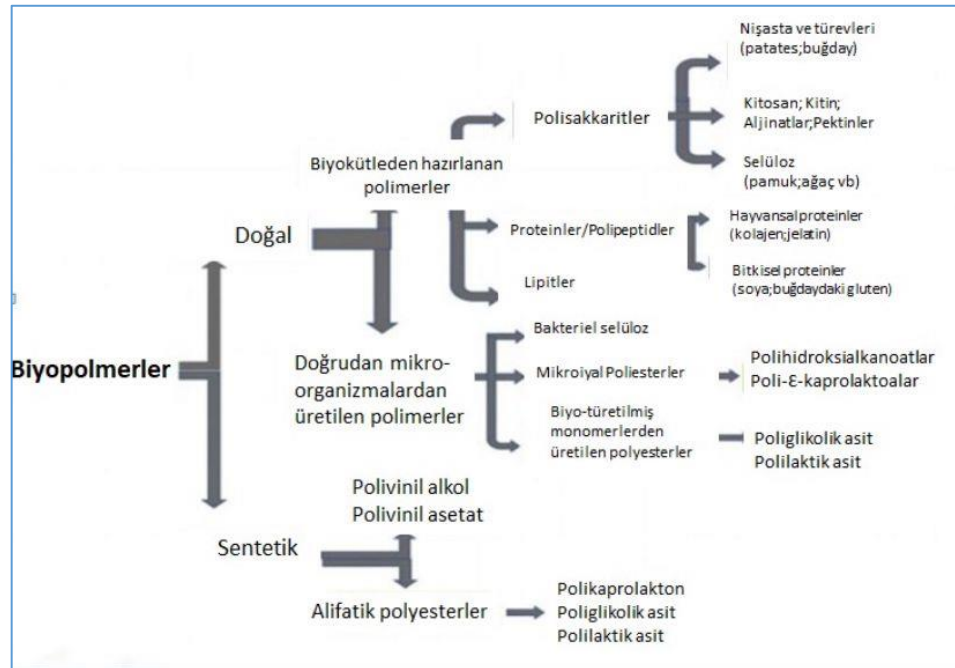
Üretilen biyopolimer filmlerin fiziksel özellikleri, su buharı geçirgenliği, mekanik özellikleri, termal, optik ve morfolojik özellikleri araştırılmıştır. Antioksidan, radikal süpürme ve toplam antosiyanin içerikleri belirlenmiştir. Gıda tazeliğinin belirlenmesinde akıllı film olarak kullanımı değerlendirilmiştir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. Biyopolimerler

Biyopolimerler, genellikle canlı organizmalar tarafından üretilen doğal olarak oluşan polimerik makromoleküllerdir ve her bir monomerik birim, büyük polimerik birimler oluşturmak için kovalent bir bağ ile bağlanır. Bu biyopolimerler düşük C-C bağ enerjisine sahiptir, bu nedenle enzimlerin, nemin, ısının ve radyasyonun etkisiyle kırılırlar. Biyopolimerlerin bazı örnekleri selüloz, nişasta, jelatin, keratin, DNA, RNA, lipidler vb.dir. Biyopolimer ambalaj malzemeleri genellikle polisakkaritler, lipidler ve çevre dostu malzemelerin bir kombinasyonu şeklinde ortaya çıkar. Sentetik polimerlere kıyasla geri dönüşümde daha büyük bir avantaja sahiptirler. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerler, mükemmel oksijen bariyeri ve su buharı iletim hızı özelliklerine sahiptir (Singh ve diğ., 2021).

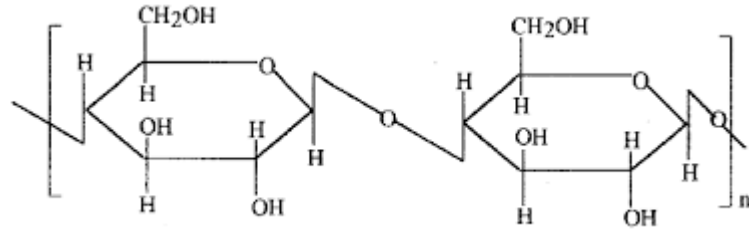
Biyopolimerler genel olarak doğal ve sentetik olarak sınıflandırılabilir. Şekil 2.1'de biyobozunur ve biyobozunur olmayan polimerleri içeren biyopolimerlerin kapsamlı sınıflandırması gösterilmiştir.



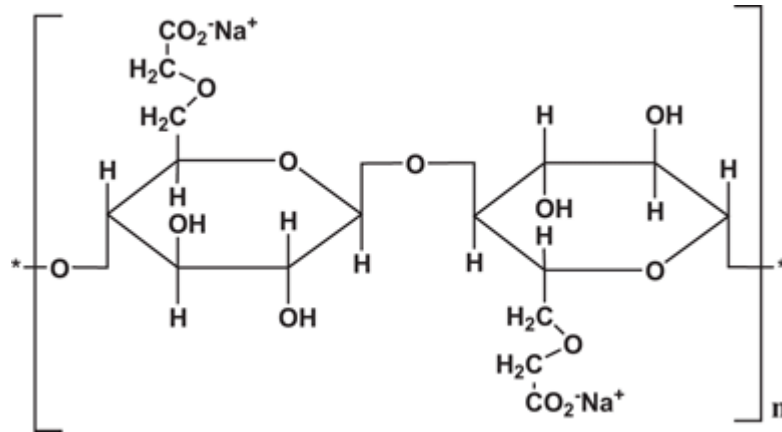
Şekil 2.1. Biyopolimerlerin sınıflandırılması

2.1.1. Selüloz

Selüloz ilk termoplastik polimer olarak tanımlanır ve genellikle bitkilerde bulunur (Şekil 2.2). Selülozun kimyasal formülü $(C_6H_{10}O_5)_n$ 'dir. Yüksek molekül ağırlıklı, yani (1-4) beta bağlı glikoz birimlerinin (100×1000) tekrar eden birimi olan doğrusal bir yapıya sahip bir polisakkarittir. Kristal formda bulunan kokusuz, tatsız bir tozudur. Selüloz %100 kristal yapıya sahip olduğu için herhangi bir camsı geçiş sıcaklığına sahip değildir. Toksik olmayan, biyolojik olarak parçalanabilen bir polimerdir. Selüloz mükemmel gerilme ve basınç dayanımlarına sahiptir ve selülozun çapraz bağlanma yapısı ona maksimum dayanımını verir. Karboksimetilselüloz (CMC; E466), alkali ve kloroasetik asit ile reaksiyonu sonucu oluşan selülozun kimyasal olarak modifiye edilmiş bir türevidir (Şekil 2.3.) (Singh ve diğ., 2021).



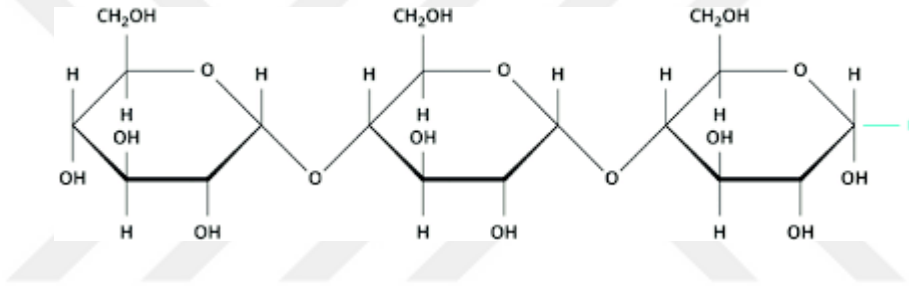
Şekil 2.2. Selülozun moleküler yapısı



Şekil 2.3. Karboksi metil selülozun moleküler yapısı

2.1.2. Nişasta

Nişasta, genellikle tahılların ağırlığının %60-75'ini oluşturan birincil enerji kaynağıdır. İnsan vücudu ve diğer canlı organizmalar tarafından tüketilen kaloringin yaklaşık %70-80'ini sağlar. Nişasta jelleştirici, kıvam arttırıcı, yapıştırıcı, nem tutucu olarak ve diğer birçok uygulamada kullanılabilir. Nişasta temel olarak d-glikozun doğal bir biyopolimeridir. Nişastanın yapısı selüloza benzer, ancak sadece iç bağlanma bakımından farklılık gösterir. d-Glikoz, piranoz adı verilen açık zincir yapısına sahiptir. Nişasta, d-glukopiranozun homopolimeridir (Şekil 2.4). Piranoz halkasının konfigürasyonu termodinamik olarak en kararlı ve çözültideki şeker konfigürasyonudur. Nişasta genellikle alfa (1 → 4) ve (1 → 6) glikozidik bağlarla birbirine bağlanan d-glukopiranoz alt birimlerine bağlıdır (Singh ve diğ., 2021).

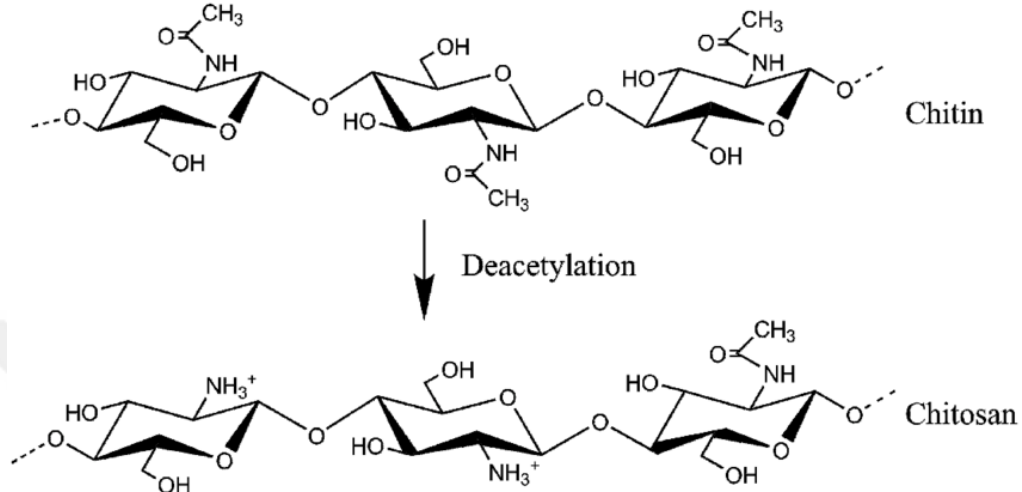


Şekil 2.4. Nişastanın moleküler yapısı

2.1.3. Kitin - Kitosan

Kitin veya kitosan, modifiye glikoz birimlerinin birçok tekrarlanan alt biriminden oluşan büyük bir nitrojen bazlı yapısal polisakkarittir (Şekil 2.5). Kitin temel olarak alglerin, böceklerin, balıkların ve birçok omurgalı hayvanın hücre duvarında bulunur. Kitinin yapısı, ek amin bileşenleri ve 2-hidroksil grubunun metil-amid süstitüenti ile değiştirildiği her bir monomer üzerindeki hidroksil süstitüentleri ile selüloza benzer. Kitin, 1-4 glikozidik bağ ile bağlı olan N-asetilglukozamin monomerik birimlerinden türetilmiştir. Keratin ve selüloza benzer. Selüloza çok benzeyen beta (1 → 4) anhidroglikozidik bağa sahiptir, ancak kitinin karakteristik özellikleri selülozdan farklıdır, bazı özellikleri ise yapısı önemli ölçüde ilişkili olduğu için selüloza benzer. Selüloz gibi suda veya bazı organik çözücülerde çözünmez, ancak mineral asitlerin sulu çözülteleri ve dimetilasetamidde çözünür. Ayrıca sert koşullar altında konsantre

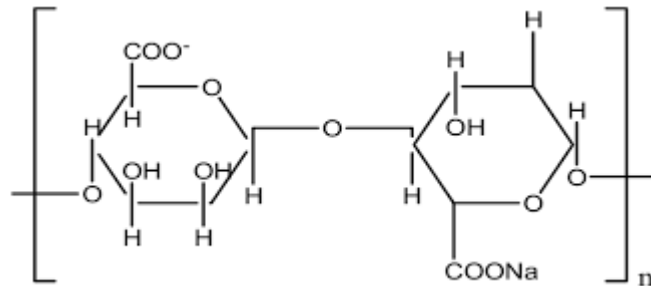
mineral asitlerle hidrolize uğrar ve saf şeker ve d-glukozamin üretir. Kitosan, katyonik bir polisakkarit olan ve daha yüksek polisakkaritlerle reaksiyona girdiğinde polielektrolit kompleksleri oluşturma eğiliminde olan kitinin deaçillenmiş türevidir. Kitosan glukana, selüloz glukana kıyasla daha kolay temin edilebilir (Singh ve diğ., 2021).



Şekil 2.5. Kitin ve kitosanın moleküler yapısı

2.1.4. Aljinat

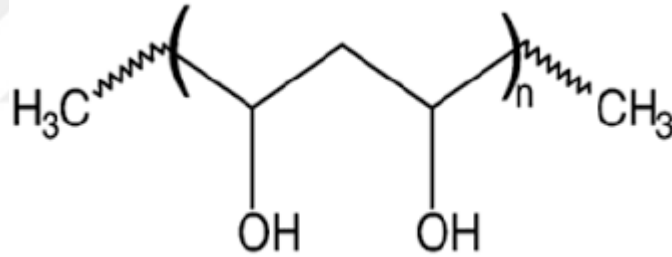
Aljinat kahverengi alglerde (hücre duvarı) ve bakterilerde (ekzopolisakkarit) bulunur. Suda çözünebilen dallanmamış bir polisakkarit olan aljinat, guluronik ve mannuronik asitten oluşur. Normal koşullarda aljinat biyolojik olarak parçalanabilir. Jel oluşumuna kalsiyum varlığı yardımcı olur. Aljinat, poliarginin, kitosan, polienimin ve polilizin ile kompleks oluşturma kapasitesine sahiptir. Aljinat, üronik asidin karboksilik grubunun varlığı nedeniyle negatif yüklüdür (Singh ve diğ., 2021).



Şekil 2.6. Aljinatın moleküler yapısı

2.1.5. Polivinil alkol (PVA)

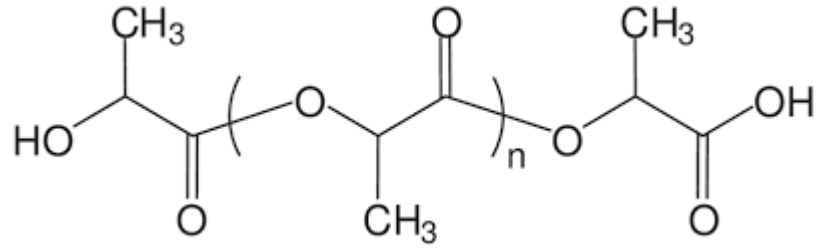
Poli(vinil alkol) (PVA), öncüsü olan polivinil asetatın hidroliz yoluyla sentezlenen termoplastik biyolojik olarak parçalanabilen bir polimerdir. Biyolojik mikroorganizmaların etkisiyle bozunur. PVA'nın genel yapısı $[\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})]_n$ 'dir ve inci şeklinde veya çözelti formunda bulunur. Yüksek kristallliği nedeniyle suda yüksek oranda çözünür. PVA likör, ameliyat ipliği ve gıda ambalajı gibi ürünlerde kullanılmaktadır. Polivinil klorür, polietilen, polipropilen vb. gibi diğer sentetik polimerler kendi monomerlerinden türetilirken, PVA, tüm asetat gruplarını çıkarmak için polivinil asetatın kısmen veya tamamen hidrolizinden elde edilir. PVA sünektir ancak oldukça esnek ve güçlü bir polimerdir. Bu nedenle, PVA ambalajlamada geniş uygulama alanı bulur. Proteinler gibi suda yüksek oranda çözünen bir polimerdir, bu nedenle PVA'nın suda çözünürlüğü ve fiziksel özellikleri hidroliz derecesi, moleküler ağırlık ve oryantasyondan büyük ölçüde etkilenir. PVA, su yüzeyinde tutulması gereken bir malzemenin yüzeyine kimyasal olarak bağlanabilen bir polimerdir (Singh ve diğ., 2021).



Şekil 2.7. Polivinil alkolün moleküler yapısı

2.1.6. Polilaktik asit (PLA)

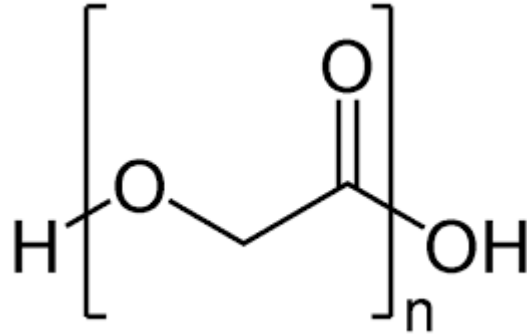
Laktik asit ve polyesterin bir kopolimeridir. Sert veya yumuşak özellikleri karışımında bulunan alifatik polyester miktarına bağlıdır. Kolay işlenebilir ve termal stabilitesi 200°C'ye kadardır. Yanma işlemi sırasında, polipropilen ve polietilene benzer şekilde ticari ürünün yarısı kadar karbondioksit açığa çıkarır. Çok kısa ömürlü, biyolojik olarak parçalanabilen bir polimerdir. 5-6 ay içinde bozunmaya başlar ancak 12 ay sonra tamamen ayrışır (Singh ve diğ., 2021).



Şekil 2.8. Polilaktik asidin moleküler yapısı

2.1.7. Poliglikolid acid (PGA)

Yüksek kristalli bir polimerdir (%45-55 kristallik). Ayrıca organik çözücülerde çok düşük çözünürlüğe sahip yüksek bir gerilme modülü sergiler. Şu anda sentetik biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerde en yaygın kullanılanlar poli (glikolik asit) ve poli (laktik asit) olarak kabul edilmektedir. Poliglikolid, mükemmel lif oluşturma kabiliyeti nedeniyle başlangıçta emilebilir sütürlerin geliştirilmesi için araştırılmıştır. Poliglikolitler glisine parçalanır veya sitrik asit döngüsü yoluyla karbondioksit ve suya dönüştürülür (Singh ve diğ., 2021).



Şekil 2.9. Poliglikolid asid moleküler yapısı

2.1.8. Whey proteini

Peynir altı suyu proteini, peynir üretiminin bir yan ürünüdür. Mükemmel gaz bariyeri özelliklerine ve yağlara karşı dirence sahiptir. Gaz bariyer özelliklerini geliştirmek için peynir altı suyu proteini, kağıt ambalajlamada kaplama malzemesi olarak kullanılır. Ayrıca

boyutlandırma maddeleri ve pigmentlere göre de avantajlıdır. Moleküller arası disülfid bağının varlığı nedeniyle, ısıtma işlemi sırasında denatürasyon meydana gelir. Yüksek çapraz bağlı yapısı nedeniyle suda çözünmez (Singh ve diğ., 2021).

2.1.9. Jelatin

Kolajenin kısmi hidrolizi ve ısıyla çözünmesi suda çözünebilen jelatin makromolekülünü ortaya çıkarır. Biyolojik olarak parçalanabilirlik, daha az antijeniklik, tahriş olmama, kanserojen olmama, toksik olmama, daha az immünojenik olma ve biyouyumluluk gibi umut verici avantajlara sahip bir taşıyıcı olarak kullanılır. Jelatin yüzeyindeki çok sayıda fonksiyonel grup nedeniyle çapraz bağlama erişilebilirdir ve bu nedenle, ilaçların hedef bölgelere iletilmesi için kanıtlanmış bir moleküldür (Verma ve diğ., 2020).

2.1.10. Albumin

Yüksek biyouyumluluk, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve düşük immünojenisite, albümin proteininin çoklu işlevselliğine atfedilen spesifik özelliklerden bazılarıdır. Antibiyotiklerin ve kemoterapötik ilaçların çoğunda, etkili ilaç dağıtımı için modifiye edilmiş albümin formu seçilmektedir. Albümin, metabolizma, taşıma ve dağıtım sürecinde işlev gören plazmanın önemli bir bileşenidir. Albümin serumun yaklaşık 35-50 g/L'sini oluşturur ve moleküler ağırlığı 66,5 kDa'dır. Mükemmel bir hücre dışı antioksidandır ve sonuç olarak serbest radikallerin saldırısına karşı koruma sağlar (Verma ve diğ., 2020).

2.2. Aronya meyvesi (Aronia Melanocarpa L.) ve genel özellikleri

Aronya meyvesi, gülgiller familyasına ait üzüksü meyveler grubuna ait, keskin tada sahip, çalı bitkisinin küçük ve koyu renkli bir meyvesidir (Şekil 2.10). Kuzey Amerika'ya özgü bir meyve olan aronya aynı zamanda Avrupa'nın bazı bölgelerinde de yetişebilir. Geleneksel tıpta özellikle Yerli Amerikalılar tarafından soğuk algınlığına karşı kullanılan aronya meyvesi bilimsel açıdan da birçok hastalığa karşı potansiyel bir güç olarak kabul edilir.



Şekil 2.10. Aronya meyvesi genel görünümü

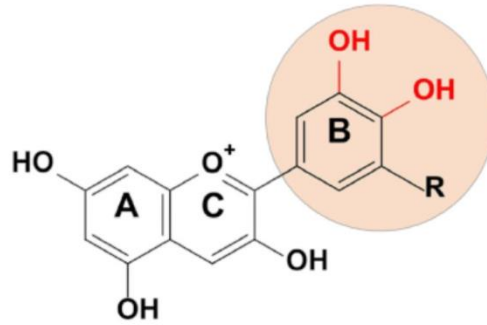
Aronya meyveleri, sahip olduğu bileşenlerin antidiyabetik, antikanser, antiobezite ve antioksidan aktiviteleri nedeniyle kalp, karaciğer ve nöron hasarını geri döndüren ya da daha ileri hasar oluşmasını önleyen etkilere sahip olabilir. Diyabeti kontrol eder. Kalp hastalıklarına karşı koruyucudur. Böbrek ve bağırsak sağlığına faydalıdır.

Taze Aronya meyvesi ve Aronya meyve suyu, kimyasal bileşimi içerisinde bulunan yüksek sorbitol ve polifenol içeriği sayesinde diğer meyvelerden ayırt edilebilmektedir (Kulling 2008). Aronya meyvesinin kuru madde içeriği %17-29 arasında değişmektedir. Suda çözünmeyen madde içeriğide %5-10 arasında değişmektedir. Ayrıca diyet lifi içeriği de ortalama 5,62 g / 100 g (taze meyve) civarındadır. İçerdiği organik asitler taze meyvenin %1-1,5'i kadardır. Bu asitlerden L-malik asit ve sitrik asit baskındır. Aronya meyve suyunun pH'ı ortalama 3,3 ile 3,9 arasında değiştiği gözlenmektedir. Taze aronya meyvesinde indirgeyici şeker içeriği yaklaşık %16-18 arasındadır. Farklı çalışmalarda ise toplam glikoz ve fruktoz içeriği %13-17,6 arasında tespit edilmiştir. Taze sıkılmış aronya meyve suyunda glikoz içeriği 41 g/L, fruktoz içeriği 38 g/L olarak bulunmuştur. Aronya meyvesinde yağ ve protein içeriği oldukça düşüktür. 100 g taze meyvede ortalama 0,14 g yağ içeriği ve 0,7 g protein içeriği bulunmaktadır. Taze meyvelerin mineral içeriği ise 100 g taze meyvede 440-580 mg arasında değişmektedir (Kulling 2008). Antosiyanin miktarının %64'ünü siyanidin-3-galaktosid ve %29'unu siyanidin-3-arabinosid oluşturmaktadır. Bu antosiyaninler meyvenin hem kabuğunda hem de etinde bulunmaktadır. Ayrıca bu meyve fenolik asit (klorojenik asit ve neoklorojenik asit) içeriğiyle

de zengindir. Aronyada bulunan ana antosiyaninler siyanidin-3-galaktozid ve siyanidin-3-arabinosid olup, siyanidin-3-ksilosid ve siyanidin-3-glukozit oranı düşüktür Major bileşenler siyanidin-3-O-galaktozid (67.5%) ve siyanidin-3-O-arabinozid (24.8%) ile minor antosiyaninler siyanidin-3-O-glukozit (3.8%) and siyanidin-3-O-ksilozid (4.0%) bulunmaktadır (Jakobek ve diğ., 2007).

2.3. Antosiyaninler ve genel özellikleri

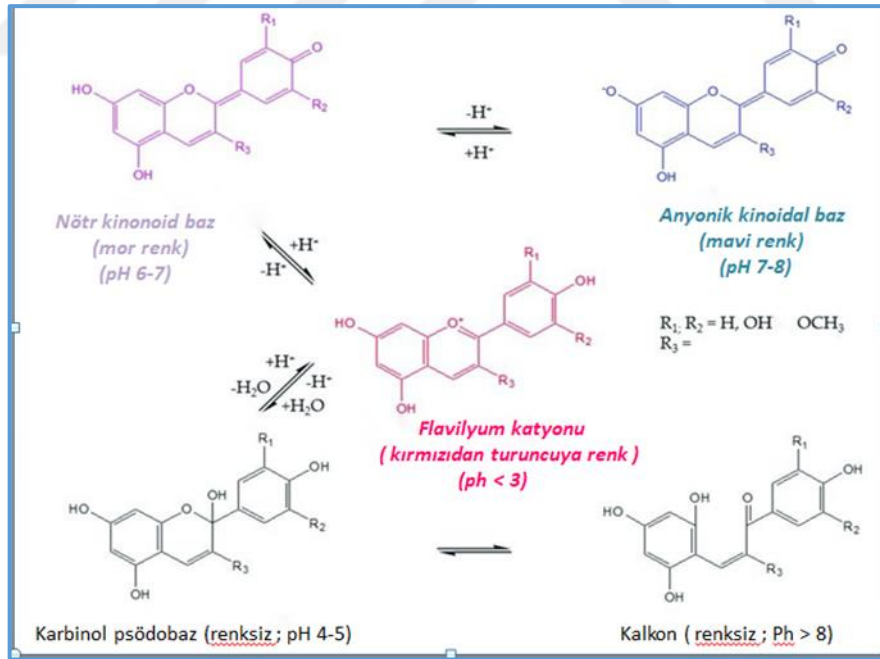
Antosiyanin kelime anlamı bakımından Latince çiçek (antho) ve mavi (cyanin) sözcüklerinden türemiştir. Bitkilerin pembeden mora kadar değişen renklerini veren pigmentlerdir. Bitkilerde antioksidan ve UV ışınından koruma görevlerinin yanı sıra savunma, tozlaşma ve üreme fonksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Bu pigmentler; en çok böğürtlen, ahududu, nar, kırmızı lahana, siyah ve kırmızı kuş üzümü, ağaç çileği, kızılçık, erik gibi meyve ve sebzelerde bulunmaktadır. Antosiyaninler, flavonoidler grubunda yer alan suda çözünen, düzlemsel molekül yapısına sahip bir bitkisel pigmenttir (Mattioli ve diğ., 2020). Yapısal olarak, antosiyaninler, antosiyanin moleküllerinin çekirdek kısımları olan aglikonlar olarak adlandırılan antosiyanidinlerden türetilir. Aglikonlar, flavonoidler grubundandır ve aromatik bir halkadan (A), oksijen içeren bir heteroaromatik halkadan (C) ve üçüncü bir halkadan (B) oluşur (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Antosiyaninlerin genel moleküler yapısı

Genellikle farklı şeker parçalarıyla bağlanan iki benzen halkasının farklı pozisyonlarında bir veya daha fazla hidroksil veya metoksi grubuna sahiptirler. Şu ana kadar, hidroksil ve metoksi gruplarının sayıları ve konumları, şeker parçalarının sayıları ve türleri ile şeker açılmasının kapsamı ve türlerine göre değişen 600'den fazla doğal antosiyanin keşfedilmiştir (Shen ve diğ., 2022). Siyanidin, peonidin, pelargonidin, petunidin, malvidin ve delphinidin vb. serbest aglikonlar oldukça kararsızdır, bu nedenle doğal kaynaklarda genellikle glikozitleşmiş veya açillenmiş formlarda bulunurlar. Glikoz en yaygın bağlanan şekerdir, ancak ramnoz, galaktoz, ksiloz, arabinoz veya glukuronik asit gibi diğer şekerler ile de bağlanırlar (Santos-Buelga ve González-Paramás, 2019).

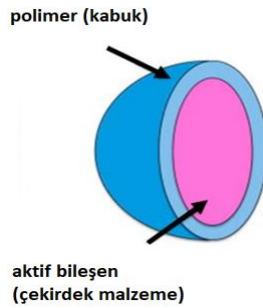
Antosiyaninlerin düşük pH değerlerinde (pH 2-3), flavilyum katyonunun neden olduğu kırmızı baskın renktir. Hafif bir pH artışıyla (pH = 4-5), renk mor/pembe bir kinoidal baza doğru değişir. Daha sonra, pH asidikten hafif asidik/nötre yakın koşullara doğru arttıkça renksiz karbinol psödo-baz baskın renk olacaktır. pH değerindeki daha fazla artış (pH > 7) antosiyanin stabilitesinde kademeli bir düşüşe neden olur ve kalkon oluşumunun bir sonucu olarak yeşil-sarı bir renk gözlenir (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Antosiyaninlerin pH'a bağlı moleküler yapıları ve renk değişimleri

2.4. Antosiyaninlerin enkapsülasyonu

Birçok morumsu meyvenin iyi antosiyanin kaynağı olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, antosiyaninlerin gıda renklendiricileri ve sağlıklı ve/veya fonksiyonel bileşenlerin geliştirilmesinde kullanımı, belirli çevresel koşullar altında düşük stabiliteleri ve gıda matrisindeki diğer bileşiklerle etkileşimleri nedeniyle sınırlı kalmıştır. Antosiyaninlerin stabilitesi pH, sıcaklık, ışık varlığı, metal iyonları, oksijen enzimleri, askorbik asit, şekerler ve bunların bozunma ürünleri, proteinler ve sülfür dioksitten etkilenir. Ayrıca, antosiyaninin pH değişikliklerine karşı hassasiyeti nedeniyle biyoyararlanımı düşüktür (Robert ve Fredes, 2015). Antosiyaninlerin stabilitesini ve/veya biyoyararlanımını iyileştirmek için enkapsülasyon tekniklerinden yararlanılmaktadır. Enkapsülasyon, bileşiklerin kimyasal/biyolojik stabiliteleri artırabilen, aktif maddeleri çevresel koşullardan, diğer gıda bileşenleri ile etkileşimlerinden korumak veya salınımlarını kontrol etmek için kullanılan bir tekniktir (Desai ve Jin Park, 2005). Mikrokapsülasyonda kullanılan polimerlere enkapsüle edici ajanlar denir. Ortaya çıkan mikropartiküller, boyutları mikron altı ile birkaç milimetre arasında değişebilen veziküller veya küçük partiküllerdir (Robert and Fredes, 2015) (Şekil 2.13). Mikroenkapsülasyon için uygun duvar malzemesinin seçimi, mikrokapsüllerin enkapsülasyon veriminde önemli bir rol oynamaktadır. Enkapsülasyon maddesinin seçimi biraz sınırlıdır çünkü aşağıdaki kriterleri karşılaması gerekir: kabul edilebilir çözünürlük, yüksek konsantrasyonlarda düşük viskozite, emülsifiye edici özellikler ve film oluşturma kapasitesi. Gereksinimleri karşılayan ve bu mikroenkapsülasyon için uygun olan duvar malzemeleri şunları içerir: Polisakkaritler (nişasta, kitosan, pektin, doğal sakızlar, müsilağlar, selüloz ve bunların türevleri) ve Hayvansal ve bitkisel bazlı proteinler (peynir altı suyu proteini, kazeinat, jelatin ve soya proteini) (Mohammadinejhad & Kurek, 2021).



Şekil 2.13. Mikrokapsül genel gösterimi

2.4.1. Püskürterek kurutma (Spray-drying)

Püskürtmeli kurutma, aktif bileşikleri kapsüllemek ve malzemeleri ekonomik, basit ve sürekli bir şekilde korumak için gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bazı aktif bileşikler mikropartiküller üzerinde yüzeysel olarak açığa çıkabileceğinden, gerçek bir kapsülleme teknolojisinden ziyade bir immobilizasyon teknolojisi olarak kabul edilir (Rezvankhah ve ark., 2020). Diğer kapsülleme tekniklerine kıyasla daha yüksek kapsülleme verimliliği sağlar (Lee ve ark., 2018). Fakat bu teknikte solventi buharlaştırmak için yüksek sıcaklık kullanılır ve bu nedenle de bileşiklerde bozunma meydana gelebilir (Rajabi ve ark., 2015). Ancak yüksek sıcaklıklara maruz kalma süresinin çok kısa olması (5-30 sn) nedeniyle ısıya duyarlı malzemelerin kapsüllemesi için kullanılabilir (Gouin, 2004).

Bu teknik kullanılarak, besleme veya dispersiyon çözeltisi sıcak hava akışında ince damlalar şeklinde püskürtülür (bir nozul veya dönen bir disk ile). Sıvı damlacıklar sıcak hava ile temas ettiğinde, suyun hızla buharlaşmasıyla anında bir toz elde edilir. Yüksek bir enkapsülasyon verimi elde etmek için optimum kurutma koşullarının kullanılması gerektiği bilinmektedir ve bu da deneysel tasarımın kullanılmasına yol açmaktadır. Besleme sıcaklığı, giriş havası sıcaklığı ve hava çıkış sıcaklığı (proses değişkenleri) ve aktif/kapsülleyici madde oranı, kapsülleme verimliliği, geri kazanım, verim ve antioksidan aktivite açısından önemli değişkenler olarak rapor edilmiştir (Gharsallaoui ve diğ., 2004).

2.4.2. Dondurarak kurutma (Freeze-drying)

Dondurarak kurutma püskürterek kurutmadan farklı olarak düşük sıcaklıklarda uygulanır, bu da onu suda çözünür ve ısıya duyarlı biyoaktif bileşiklerin, özellikle de antosiyaninlerin dehidrasyonu için potansiyel bir aday haline getirir. Temel prensibi, nemin doğrudan sıvıdan gaz fazına dönüştürüldüğü ve son olarak bir tozun oluştuğu süblimasyondur. Bu işlem vakumda ve düşük çalışma sıcaklığında gerçekleştirildiğinden, bozulma reaksiyonlarının sayısı önemli ölçüde azalır. Bu yöntemin dezavantajlarına gelince, zaman alıcı bir süreçtir (24-48 saat arasında) ve yüksek miktarda enerji gerektirir. Bu yaklaşımın en büyük kısıtlaması, buzun süblimleşmesi nedeniyle gözenekli bir yapının oluşması ve antosiyaninlerin partikül yüzeyindeki gözenekler aracılığıyla oksijenle kolayca temas etmesinin önünü açmasıdır. Birçok çalışma antosiyaninlerin dondurarak ve püskürterek kurutma ile mikroenkapsülasyonu arasında bir karşılaştırma yapmıştır. Bazı çalışmalar, dondurularak kurutulmuş örneklerde önemli ölçüde

daha yüksek antosiyanin içeriği tespit etmiştir. Bu bağlamda, Laokuldilok ve Kanha (2015) dondurarak kurutma kullanılarak üretilen mikrokapsüllerde yaklaşık %72 daha fazla miktarda siyah pirinç antosiyanini bulmuştur. Ayrıca, proses verimi püskürterek kurutma için %64,07 ile %82,16 arasında değişirken dondurarak kurutma için %85'in üzerinde olmuştur. Murali ve diğerleri (2015) de siyah havuç suyu ile yüklenmiş dondurularak kurutulmuş mikrokapsüller için %22-25 daha yüksek antosiyanin içeriği bildirmiştir.

2.4.3. Elektrospreyleme/Elektrospinning

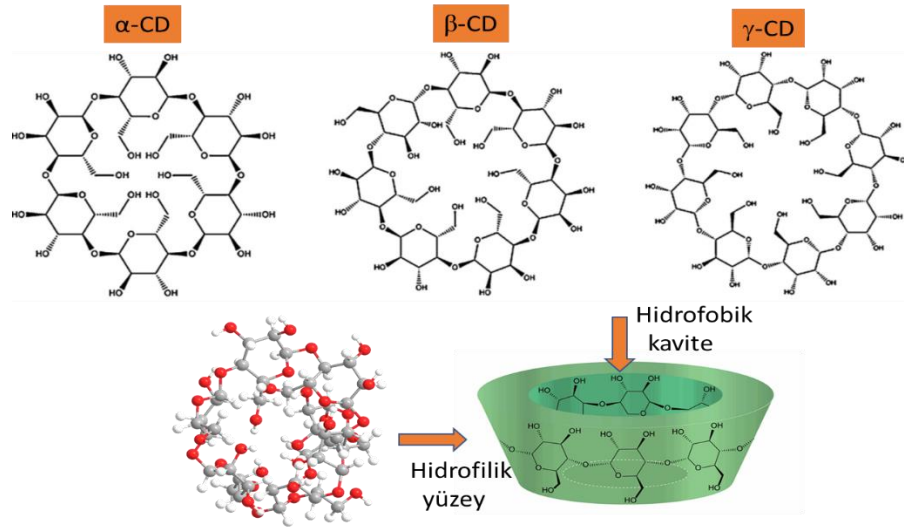
Elektrohidrodinamik süreçler, elektrospreyleme ve elektrospinning olmak üzere iki kardeş teknolojiden oluşur ve bir polimer çözeltisinden elektrik yüklü jetler üretmek için yüksek voltajlı elektrostatik kuvvetler uygular. İki yöntem arasında sadece küçük farklılıklar vardır. Elektrospreyleme, çözelti düşük bir konsantrasyona ve viskoziteye sahip olduğunda katı partiküllerin oluşumu olarak adlandırılır. Bununla birlikte, elektrospreyden elektrospinninge geçiş, moleküler zincirin dolanmasına ve kohezyonuna neden olan ve nano veya mikro ölçekli ultra ince sürekli liflerle sonuçlanan daha yüksek konsantrasyonlar ve viskoz çözeltisi kullanılarak gerçekleşir. Bu süreçler tek eksenli ve eş eksenli olarak ikiye ayrılabilir. İlkinde, çekirdek ve duvar malzemeleri aynı uç aracılığıyla elektrik alanına pompalanır. Yine de, ikincisinde, duvar malzemesi çözeltisi ve biyoaktif bileşenler aynı anda iki farklı eş merkezli nozülden dışarı atılır. Son olarak, iç sıvı bir dış polimerik çözelti ile kapsülendir. Kapsülendirilmiş biyoaktif bileşenlerin üretimi için umut verici bir yaklaşım sunan yenilikçi, uygun maliyetli ve tek adımlı yöntemlerdir. Ayrıca, ısıya duyarlı bileşenlerin kapsülendirilmesi ve termal bozulmadan korunması için uygun koşullar olan atmosferik basınç ve oda sıcaklığında gerçekleştirilirler. Daha da önemlisi, yüksek yüzey/hacim oranı, gelişmiş enkapsülasyon verimi, biyoaktif moleküllerin özel salınımı ve kompozitlerin gelişmiş işlevselliği ve fiziksel özelliklere sahiptirler (Işık ve diğ., 2018).

2.4.4. İnküzyon kompleksleşme

Bu enkapsülasyon tekniği; moleküllerin siklodekstrinlerle inküzyon kompleksleri oluşturma yöntemidir. Siklodekstrinler nişasta moleküllerinin enzimatik olarak modifiye edilmesi ile elde edilir. Siklodekstrinler ucuzdur, insanlara dosttur ve aynı zamanda biyoaktif maddelerin biyolojik, kimyasal ve fiziksel özelliklerini geliştirme kapasitesine sahiptir. İç kısmı hidrofobik,

dış kısmı hidrofilik yapılı içi boş konik şeklinde olup molekülün iç yüzeyi hidrojen atomları ve glikozidik oksijen köprülerinden oluşmuştur ve bu yapı hidrofobik karakter kazandırarak çeşitli misafir moleküllerle etkileşimini sağlamaktadır. Siklodekstrinlerin bu oyuk şeklindeki iç yüzeylerine uygun boyutlardaki materyaller yerleşerek ajan-siklodekstrin komplekslerini oluşturmaktadırlar. İnteraksiyon siklodekstrinlerin oyuk şeklindeki iç yüzeyleri ile bağlanan bileşiğin hidrofobik grup veya grupları arasında gerçekleşmektedir. Dış yüzeylerinde bulunan hidroksil grupları vasıtasıyla suda çözünürlüğü artmaktadır. Kompleks oluşumuna katılan bağların kuvveti, van der Waals kuvveti, hidrofobik ve dipol-dipol etkileşimi içermektedir (Pinho ve diğ., 2014; Gökmen ve diğ., 2012).

CD'ler konuk molekülün özelliklerini değiştirme kapasitesine sahiptir; örneğin, lipofilik 'misafirlerin' çözünürlüğünü artırır, 'konuk'u türevlendirici maddelere (oksijen, görünür veya ultraviyole ışık ve ısı gibi) karşı stabilize eder. Potansiyel olarak olumsuz tatları, kokularını ve bu tür kapsüllenmiş bileşiklerin salınımını maskeleyerek tat modifikasyonuna izin verir Aynı zamanda, biyoaktif moleküllerin çözünürlüğünü, stabilitesini ve biyoyararlanımını arttırmak için ilaç endüstrisinde CD'ler ilaç taşıyıcı olarak kullanılmaktadır Yüksek biyoyoumluluk düzeyine sahip oldukları onaylanmıştır (Pinho ve diğ., 2014).



Şekil 2.14. Siklodekstrinlerin moleküler yapıları

2.5. Antosiyaninlerin enkapsülasyonuna ait literatür çalışmaları

Antosiyaninler, meyve ve çiçeklerde çok çeşitli renklerden sorumlu olan kırmızı-mor flavonoid pigmentlerdir. Bu bileşikler, güçlü antioksidan özelliğe sahip olmaları ve suda yüksek çözünürlük sunmaları nedeniyle gıda endüstrisinde yüksek uygulanabilirliğe sahiptirler ve yapay renklendiricilere umut verici bir alternatif oluşturmaktadırlar. Ancak izole edildiklerinde pH, ışık ve ısı gibi çevresel ve süreç faktörlerine karşı oldukça kararsızdırlar ve bozunmaya karşı çok hassastırlar, bu da endüstriyel uygulamalarını zorlaştırır. Bu bileşiklerin yeni gıda ürünlerinin geliştirilmesinde uygulanmasını sağlamak için enkapsülasyon tekniklerine başvurulmaktadır.

Enkapsülasyonda genellikle nişasta, nişasta türevleri, proteinler, zamklar, lipitler veya onların belirli oranlarda kombinasyonları kullanılmaktadır. Antosiyaninlerin enkapsülasyonunda en sık uygulanan teknikler püskürterek kurutma, dondurarak kurutma, akışkan yataklı kaplama, ekstrüzyon, birlikte kristalleştirme, moleküler inklüzyon ve koaservasyon teknikleridir.

Püskürtmeli kurutma tekniğiyle, Roselle ekstraktının üç farklı kaplama malzemesi (soya proteini izolatu, jelatin ve β -siklodekstrin) ve bunların kombinasyonları ile mikroenkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Kapsüllenmiş tozun kapsülleme verimliliği, termal stabilitesi ve mikroyapısal değerlendirilmiştir. Sonuçlar, saflaştırılmış roselle antosiyaninleri için jelatin, β -siklodekstrin ve soya proteini izolatının kapsülleme verimliliğinin $73,99 \pm 2,66$, $89,75 \pm 0,14$ ve $98,51 \pm 0,45$ olduğunu göstermiştir (Li ve diğ., 2022).

Ahmed ve diğ., (2018) safran antosiyaninlerini olumsuz gastro-çevre koşulları altında stabiliteyi sağlamak için sprey kurutma tekniği ile β -glukan ve β -siklodekstrin içinde kapsüllenmiştir. Mikroenkapsüller simüle edilmiş gastrik koşullara tabi tutularak monomerik antosiyaninlerin, antioksidanların ve fenollerin salınım davranışları araştırılmıştır.

Böğürtlende majör antosiyanin bileşeni olan siyanidin-3-*o*-glikozit ve böğürtlen pürelere termal stabilitesi, β -siklodekstrin (β -CD) ile moleküler inklüzyon yöntemiyle değerlendirilmiş ve β -CD ile kompleksleşme ile termal stabilizasyonun arttığı gösterilmiştir, bu da bozunma hızı sabitinde (k) bir azalmaya yol açmıştır (Fernandes ve diğ., 2018).

Bir diğer çalışmada, juçara meyvesinden antosiyanin açısından zengin bir ekstrakt elde etmek, maltodekstrin ve beta-siklodekstrin matrisleriyle mikroenkapsüllemek ve mikroenkapsüllenmiş antosiyaninlerin ışığa, pH'a ve fermente süt gelişimine karşı stabilitesini izlemek amaçlanmıştır.

Kapsülleyici maddelerin kullanımı, antosiyaninlere önemli bir termal ve ışık stabilitesi kazandırmış ve ayrıca renklerini daha geniş bir pH aralığında arttırmıştır (de Silva ve diğ., 2023).

2.6. Biyopolimerlerin gıda ambalajlamada kullanımı

Ambalajın temel işlevleri arasında ürünün dış etkenlerden korunması vardır. Dış etkenlerin (örn. nem, ısı, ışık, mikroorganizmalar, böcekler ve toz) parçacıklar vb.) etkilerini en aza indirerek daha uzun süre dayanıklı kalmasına yardımcı olmaktadır (Yıldırım ve diğ., 2018). Bu temel işlevlerin sağlanmasının yanı sıra, modern paketleme teknolojileri, yani aktif paketleme, paketlenmiş ürüne veya çevreye bileşikler salabilen veya absorbe edilebilen fonksiyonel bileşenlerin nüfuz etmesini sağlayacak şekilde etkileşime girer. Böylece, ürünün raf ömrünün, güvenliğinin ve kalitesinin artmasına neden olur (Wyrwa ve Barska, 2017).

Farklı ambalaj malzemeleri arasında cam, şeffaflığı, inertliği ve iyi bariyer özellikleri nedeniyle en iyi seçenek olarak kabul edilmektedir, ancak zayıf taşınabilirlik, kırılabilirlik ve ağırlık gibi sınırlamalar kullanımıyla ilişkilendirilmektedir. Benzer şekilde, metal ve metal levhalar da düşük inertlik, şeffaflık ve taşınabilirlik zorlukları nedeniyle uygun olmayan malzemeler olarak görülmüştür. Petrol bazlı plastik filmler (örn. polietilen, polivinil klorür ve polipropilen) kolay bulunabilirlik, iyi mekanik [çekme mukavemeti (TS), kopma uzaması (EAB) ve Young modülü] ve fonksiyonel özellikleri (su buharı, oksijen, karbondioksit ve aromatik bileşiklere karşı geçirgenlik) nedeniyle ambalaj malzemesi olarak yaygın şekilde kullanılmıştır. Ancak, bu tür malzemeler biyolojik olarak parçalanmadığından ve ayrıca yenilenemeyen kaynaklardan elde edildiğinden, bu plastiklerle ilgili ciddi bertaraf sorunları ve olumsuz çevresel etkiler söz konusudur. Ayrıca, plastik ambalaj malzemelerinin ve mikroplastiklerin hazırlanmasında kullanılan toksik kimyasal bileşenler (alev geciktiriciler, pigmentler ve plastikleştiriciler vb.) gıda maddelerine geçerek kontamine olabilir ve olumsuz sağlık etkilerine yol açabilir. Bununla birlikte, mikroplastikler ve bunlardan türetilen nanopartiküller okyanusa karışarak kalıcı organik kirleticilere dönüşmekte ve deniz ürünlerinin tüketilmesiyle besin zincirine girebilmektedir (Abdullah ve diğ., 2022). Biyopolimerler (örneğin, polisakkaritler, proteinler ve lipitler) esas olarak mikroorganizmaların etkisiyle CH_4 , CO_2 , H_2O ve inorganik bileşiklere ayrıştırılabilir. Biyobozunur polimerler, biyobozunur fonksiyonel grupların varlığı nedeniyle kimyasal yapılarında ester ve amid bağlarına sahiptir. Sulu ve enzimatik hidrolizin bozunma süreci sırasında bu biyopolimerler daha kısa ve suda çözünür polimerlere dönüşür ve herhangi

bir toksik ve zararlı madde üretmeden tamamen ayrıştır (Xie ve diğ., 2020). Bu nedenle, biyopolimerlerin ambalaj malzemelerinin geliştirilmesinde uygulanması, düşük toksisite veya zararlı kimyasal üretim riski, zararsız son ürünlere kolayca parçalanması ve daha sonra toprağın bir parçası haline gelmesi nedeniyle oldukça umut verici olarak kabul edilmektedir. Biyopolimer bazlı filmler, sınıflandırılmaları, filmlerin işlevselliğini yerine getirmek için gerekli ileri stratejiler, film matrisine biyopolimerler tarafından sağlanan özel işlevler Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Biyopolimerler, sınıflandırılması ve genel özellikleri

Biyopolimerler	Film çeşitleri	Gelişmiş stratejiler	Film matrisi fonksiyonları	Avantajları
Proteinler	Biyobozunur filmler	Kompozit filmler	Mekanik özellikler	Fonksiyonel özellikleri (antioksidan, antimikrobiyal)
Polisakkaritler	Aktif filmler	Çoklu tabaka filmler	Su buharı ve gaz bariyeri	Aktif ambalajlama
Lipitler	Akıllı filmler	Emülsifiye filmler	Optik özellikler	Düşük su buharı geçirgenliği, yüksek esneklik, çevre dostu

2.6.1. Biyobozunur ambalaj filmler

Biyolojik olarak parçalanabilen biyobozunur filmler, kullanım amaçlarının ardından toprakta ayrışabilen malzemelerden üretilir. Bu polimerler, kökenlerine ve üretim yöntemlerine göre temel olarak üç kategoride sınıflandırılmaktadır. İlk kategori, doğrudan biyokütleden (karbonhidratlar ve proteinler) elde edilen ve iyi bariyer özellikleri nedeniyle gıda paketleme uygulamalarında yaygın olarak kullanılan biyopolimerleri içerir. İkinci kategori polimerler, polilaktik asit gibi klasik polimerizasyon yoluyla biyo-bazlı monomerlerden sentezlenmiştir ve üçüncü kategori ise mikroorganizmaların etkisiyle üretilen polimerlerdir.

2.6.2. Aktif ambalaj filmler

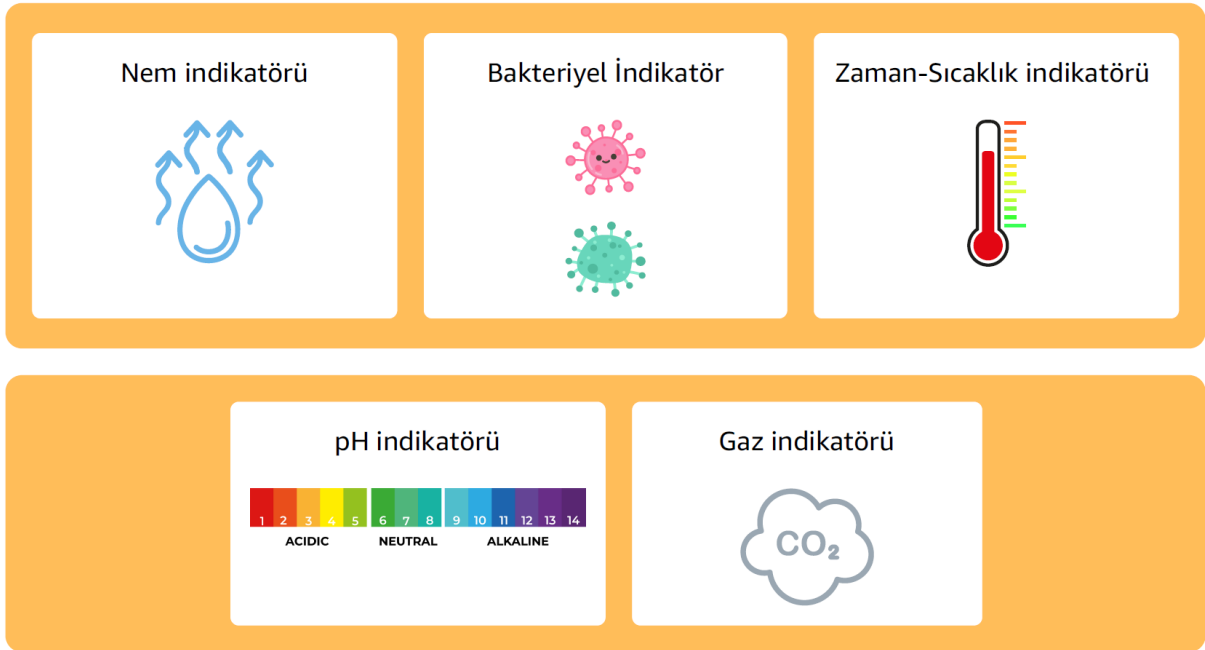
Aktif ambalajlamanın temel ilkeleri, ambalaj malzemesini oluşturan biyopolimerlerin ve biyopolimer bazlı matrisin içine gömülü belirli aktif maddelerin (örneğin antimikrobiyaller, antioksidanlar, fitokimyasallar, nem emiciler ve probiyotikler) özelliklerine dayanmaktadır.

Paket sistemi, gazları, nemi veya diğer istenmeyen bileşikleri engellemenin yanı sıra arzu edilen aktif bileşenleri potansiyel olarak serbest bırakma kabiliyetine sahiptir Aktif ambalaj sistemleri işlevselliklerine bağlı olarak iki ana kategoride sınıflandırılabilir; (i) ambalajda olumlu bir etki yaratmak için arzu edilen aktivitelere sahip aktif maddeleri serbest bırakan yayıcılar ve (ii) ambalaj ortamındaki etilen, karbondioksit, oksijen, nem ve kötü kokular gibi istenmeyen bileşikleri azaltan temizleyiciler (Wyrwa ve Barska, 2017). Bu bağlamda, antioksidan, antibakteriyel, antifungal ajanlar ve esansiyel yağlar fonksiyonel bileşenler olarak aktif filmlere dahil edilmiştir. Bu aktif maddeler arasında, antimikrobiyal ve antioksidan maddelerin aktif ambalaj filmlerine dahil edilmesi, gıda patojenlerinin büyümesini ve çoğalmasını engelleyerek raf ömrünü uzatabildikleri, kaliteyi koruyabildikleri ve ürünlerin güvenliğini artırabildikleri için en umut verici maddeler olarak kabul edilmektedir (Jideani & Vogt (2016)). Ayrıca, çeşitli çalışmalar bitki bazlı polifenollerin ciddi sağlık risklerine sahip sentetik antimikrobiyalere ve antioksidanlara yeşil bir alternatif olarak kullanılabilmesini öne sürmüştür. Günümüzde, gıda ürünlerinde bulunan BHA, BHT ve TBHQ gibi sentetik antioksidanlar yerine gıdalara, doğal antioksidan maddeler olan askorbik asit ve α -tokoferol karışımları, bitki ekstraktları (yeşil çay, üzüm çekirdeği, domates kabuğu, biberiye ekstraktı vb.), uçucu yağlar (tarçın yağı, kekik yağı vb.) eklenmektedir. Antioksidan özellik gösteren aktif ambalajlar, antioksidanların gıda içine salınımı sayesinde oksidasyon reaksiyonlarının oluşma riskini azaltmaları sebebiyle de oldukça yararlı ürünlerdir. Gıdalarda lipid oksidasyonu ve benzeri olumsuz etkileri azaltmak için, aktif bileşenler gıda matrisine ya yüzeyine kaplanarak ya da ambalaj materyalinin bünyesine katılmak suretiyle eklenmektedir (Benbettaieb ve diğ., 2018). Kechichian ve diğ. (2010), kassava nişastası ile doğal antimikrobiyal bileşenlerle birleşerek elde edilen biyobozunur filmlerle paketlenmiş ekmek dilimlerinin depolama boyunca su aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir. Priya ve diğ. (2014)'e göre selülozik lif ile güçlendirilmiş nişasta/PVA kompozit biyobozunur filmlerin gıda paketlemede kullanımına uygun olduğunu tespit etmişlerdir. Sun ve diğ. (2017), elma polifenolleriyle birleştirilmiş kitosan filmlerin gıdaların raf ömrünü arttırabilmek için biyoaktif paketleme malzemesi olarak kullanılabilmesini belirtmişlerdir.

2.6.3. Akıllı ambalaj filmler

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın Türk Gıda Kodeksi "Gıda ile temas eden aktif ve akıllı madde ve malzemelere dair" Resmi Gazete'de yayınlanan tebliğde (TEBLİĞ NO: 2018/9)

ambalajlı gıdanın veya gıdanın içinde bulunduğu ortamın durumunu gösteren madde ve malzeme, aktif maddeler olarak da bileşenlerini gıdaya ya da gıdanın bulunduğu ortama salacak ya da ambalajlı gıdadan veya gıdanın bulunduğu ortamdan maddeleri absorbe edecek şekilde tasarlanan, ambalajlı gıdanın raf ömrünü uzatması veya mevcut durumunu koruması ya da iyileştirmesi beklenen madde akıllı malzemeler olarak tanımlanmıştır. Aynı zamanda akıllı paketleme, “paketlenmiş gıdanın saklama koşullarını izleyerek tüketicilerin gıda tedarik zincirindeki kalite hakkında bilgi edinmesini sağlayan koordineli bir gıda paketleme sistemi” olarak tanımlanmaktadır. Bu süreç, paketleme sistemine bağlı farklı sensörler ve göstergeler yardımıyla veya kolorimetrik değişimler yoluyla gerçekleştirilir. Sensörler kalite değişikliklerini ve ürün bilgilerini tanımlar, kaydeder ve iletirken, göstergeler zaman, sıcaklık ve pH'ı izler. Şekil 2.15, paketlenmiş gıdanın gerçek zamanlı kalitesini izlemek için gıda ambalaj malzemelerine dahil edilen veya üzerine basılan gaz, pH, zaman, sıcaklık ve nem sensörleri gibi çeşitli akıllı ambalaj sistemlerini göstermektedir.



Şekil 2.15. Akıllı ambalaj sistemlerinin kullanım alanları

Gıda bozulması pH değişimiyle yakından bağlantılıdır. Bu özellikten yararlanılarak, belirteç filmin gözle görülür renk değişimi izlenebilmektedir. pH indikatör filmler olarak da adlandırılan akıllı film sınıfı iki önemli bileşenden oluşmaktadır; pH değişimine duyarlı katı destek ve boya. Gıda tazeliğini belirlemek amacıyla, Chun ve diğ. (2014) filtre kağıdına

bromokresol boyarmaddesini dönerek kaplama tekniğiyle ekleyerek bir indikatör film geliştirmiş ve balık numunesindeki uçucu azot bileşiklerinin etkisi ile sarı renkli filmin yeşile dönmesi ile balığın tazeliğinde gerçek zamanlı değişimi incelemiştir. Ayrıca polianilin esaslı indikatör film üretilerek balık bozulmasını tespit etmek için polistiren substrat kullanılmış ve filmin rengi yavaş yavaş yeşilden maviye dönüştüğü gözlenmiştir (Kuswandi, 2012). Zhang ve diğ. (2019) bamyaçiçeğinden antosiyaninleri ekstrakte ederek nişasta-kitosan içerikli filmler geliştirmişler ve domuz etindeki temel azot bileşiklerinin oluşumu ile film renginin kırmızıdan sarıya dönüştüğünü tespit etmişlerdir. Diğer bir çalışmada pastörize sütün bozulmasını tespit etmek için selüloz-kitosan filmler antosiyanin ile pH duyarlı filmlere dönüştürülerek kullanılmıştır (Tirtashi ve diğ. 2019). Ma ve diğ. (2018), polivinilalkol-kitosan esaslı filmlere dut ekstraktı ekleyerek renkli belirteçler sentezlemişler ve pH değişimine bağlı olarak balık bozunmasını tespit etmişlerdir.

3. YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

%98 saflıkta neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), amonyum asetat, polivinil alkol (%87-90 hidrolize, ort. Mol külesi 30000-70000), sodyum karboksi metil selüloz, gliserol, beta-siklodekstrin, hidroklorik asit, fosfat asidi, potasyum klorür, amonyak Sigma Aldrich'den satın alınmıştır. DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali), potasyum klorür, asetik asit, etanol, metanol, bakır(II) klorür dihidrat Merck'ten temin edilmiştir.

3.2. Kullanılan cihazlar

RADWAG marka WAS 220X model analitik tarazi, ve Velp Scientifica vorteks karıştırıcısı kullanılmıştır. Çözeltilerin pH'sının belirlenmesinde Hanna marka pH-metre ve destile/bidistile su üretimi için Millipore Simpak 1 Synergy 185 bidistile su sistemi kullanılmıştır. Santrifüj işlemleri Hettich Universal 320R cihazında gerçekleştirilmiştir. UV-vis spektrumların eldesi ve spektrofotometrik ölçümler için Shimadzu 1900-i UV-Vis spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Absorbans ölçümü için Hellma marka 10 mm ışığa yollu kuartz küvet kullanılmıştır. Infrared spektrumların eldesinde Shimadzu IRTracer-100 Marka FTIR cihazı kullanılmıştır. Biyofilmlerin hazırlanmasında Velp Scientifica marka ısıtıcılı manyetik karıştırıcı kullanılmıştır. Film kalınlıklarının belirlenmesinde Loyka marka dijital mikrometre kullanılmıştır. Aronya posasının ekstraksiyonunda JY-92 IIN Ultrasonik homojenizatör ve Buchi Rotavapor R-210 Marka rotary evaporatör kullanılmıştır. Ultrasonik banyo olarak Bandelin Sonorex marka cihaz kullanılmıştır. Antosiyaninlerin kromatografik analizlerinde Waters marka HPLC Cihazı (Waters 1525 Binary HPLC pompa, Waters 2998 fotodiyot dizisi (PDA) dedektör, ACE-C18 (25 cm × 4.6 cm × 5 µm), Hamilton (Reno, NV, USA) marka 20 µL enjeksiyon şırıngası) kullanılmıştır. İnklüzyon komplekslerinin hazırlanması, aronya posalarının kurutulması ve toz ekstraktlarının eldesinde Tetra Lyoquest Freeze Dryer (-50°C) cihazından yararlanılmıştır. Termogravimetrik analizler Shimadzu-TGA-60WS marka TGA cihazında ve Hitachi ExStarDSC 6200 (Japonya) marka DSC cihazında gerçekleştirilmiştir. Mekanik testler ISO-527 standartlarına uygun olarak tekstür cihazında gerçekleştirilmiştir. SEM görüntüleme için Thermo Scientific QuattroS cihazı kullanılmıştır.

3.3. Çözeltilerin hazırlanması

3.3.1. Biyopolimer çözeltilerinin hazırlanması

Sodyum karboksi metilselülozdan 2 gram tartım alındı, destile su ile 100 mL'ye seyreltilip 75 °C'de 1 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak %2'lik çözeltisi hazırlandı. Polivinil alkolden 8 gram tartım alındı, 100 mL'ye destile su ile seyreltilip 90 °C'de 2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak %8'lik çözeltisi hazırlandı.

3.3.2. CUPRAC yöntemi reaktiflerinin hazırlanması

Cu(II) klorür çözeltisi, 1.0×10^{-2} M olacak şekilde bakır(II) klorür dihidrat'tan ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0.4262 g bir miktar etil alkol ile çözülüp 250 mL'ye mutlak etil alkol ile tamamlanarak hazırlandı. Amonyum asetat (NH_4Ac) tamponu, 1 M (pH=7.0) olacak şekilde NH_4Ac 'dan 19.27 g tartım alınıp bir miktar su ile çözülüp 250 mL'ye mutlak etil alkol ile tamamlanarak hazırlandı. Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) (Nc) çözeltisi, 7.5×10^{-3} M olacak şekilde 0.039 g tartım alınıp mutlak etil alkolle çözülüp 25 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

3.3.3. pH-diferansiyel yöntemi çözeltilerinin hazırlanması

pH 1.0 tamponu sırasıyla 125 mL 0.2 M KCl ve 375 mL 0.2 M HCl in belirtilen hacimlerde karıştırılmasıyla hazırlandı. pH 4.5 tamponu sırasıyla 400 mL 1 M CH_3COONa ve 240 mL 1 M HCl ve 360 mL H_2O belirtilen hacimlerde karıştırılmasıyla hazırlandı.

3.3.4. DPPH radikal çözeltisinin hazırlanması

DPPH'den 0.039 g tartım alınıp etanol ile 100 mL'ye tamamlanarak 1 mM DPPH çözeltisi hazırlandı ve seyreltme yapılmadan kullanıldı.

3.4. Endüstriyel aronya posası ultrasonik-destekli ekstraksiyonu

Laboratuvara getirilen endüstriyel aronya posası şilifli erlenlere aktarılarak dondurarak kurutucu (freeze-dryer) cihazına (Telstar Cyrodos) yerleştirilerek $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de yaklaşık 0.4 mbar vakum altında 2 gün boyunca kuruluğa kadar bekletildi. Kuruyan numuneler numune poşetlerine konularak $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi ve ekstraksiyon öncesi IKA-Labor teknik cihazıyla homojen hale gelene kadar öğütüldü.

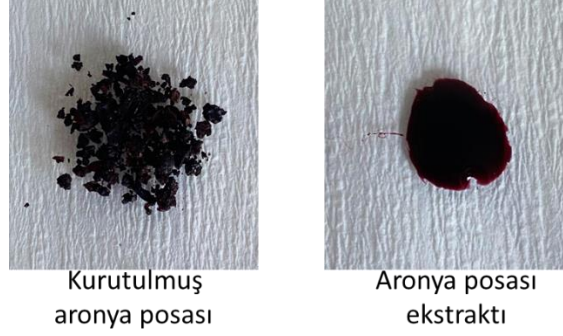
Homojen öğütülmüş aronya posası numunesinden 20 gram tartım alınarak üzerine 250 mL %40 (v:v) etanol:su ilave edildi ve ultrasonik destekli ekstraksiyon (UAE) yöntemi ile aşağıda analiz şartları verilen Ultrasonik homojenizatör cihazında (Şekil 3.1) gerçekleştirildi:

- Süre: 10 dakika
- Frekans: 20-25 KHz
- Güç: %99
- Puls: 2 saniye (2s de bir)
- Oda sıcaklığı
- Titanyum prob uçlar



Şekil 3.1. Endüstriyel posa örneklerinin analize hazırlanmasında kullanılan ultrasonik homojenizatör

Ultrasonik ekstraksiyon işlemi iki kez tekrar edildi (150 mL + 100 mL). Ardından $0.45\text{ }\mu\text{m}$ membran filtreden süzüldü. Rotary evaporatörde $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de çözücü ekstrakt hacmi 20 mL olacak şekilde uçuruldu. Ardından freeze dryer cihazında $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurularak kuruluğa kadar bekletildi. Elde edilen toz ekstraktlar toplanıp, agat havanda dövülüp $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Kurutulmuş ve öğütülmüş aronya posası (sol), aronya posası toz ekstrakt (sağ)

3.4.1. Çözücü oranı

Homojen öğütülmüş aronya posası numunesinden 1'er gram tartım alınarak her bir numune üzerine farklı etanol:su (v:v) (%20, %40, %60, %80 ve %100 etanol) ekstraksiyon çözücü eklenerek ekstraktlar hazırlandı. Ekstraktların toplam antosiyanin içeriği belirlenerek en yüksek içeriği olan çözücü, ekstraksiyon çözücüsü olarak seçildi.

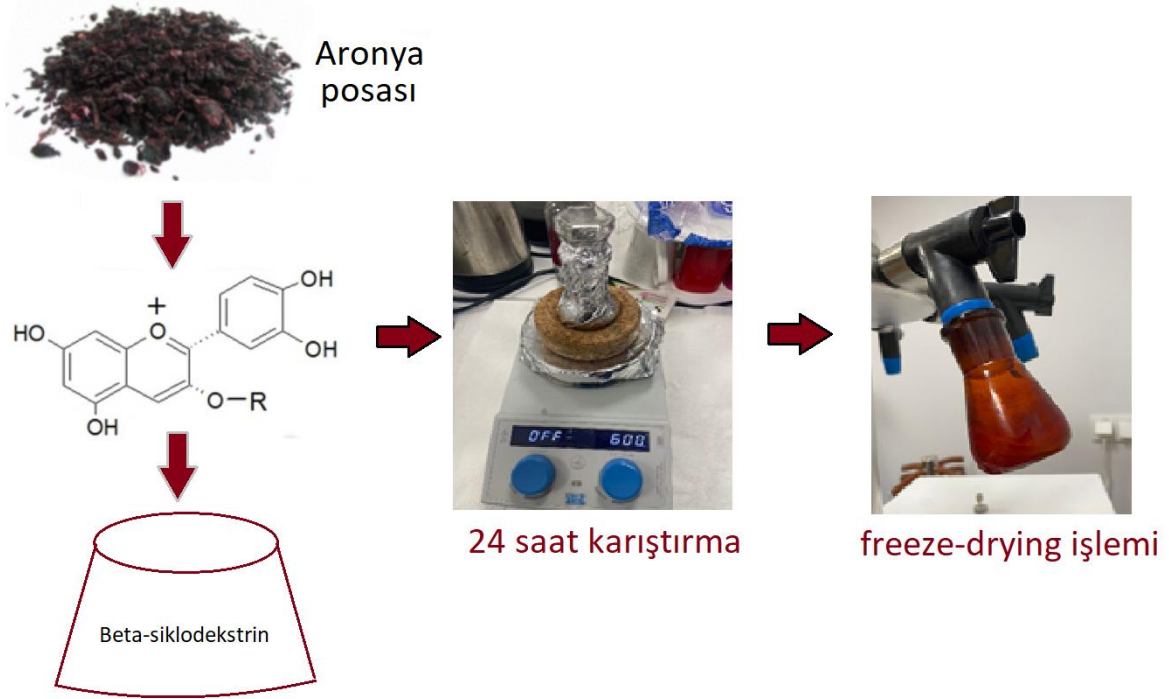
3.4.2. Ekstraksiyon süresi

Homojen öğütülmüş aronya posası numunesinden 1'er gram tartım alınarak her bir numune üzerine 20'er mL en yüksek antosiyanin içeriği sağlayan ekstraksiyon çözücü eklenerek 10, 20 ve 30 dakikalık ekstraksiyon sürelerinde UAE yöntemi uygulandı. Ekstraktların toplam antosiyanin içeriği belirlenerek en yüksek içeriğe ulaşılan ekstraksiyon süresi optimum süre olarak seçildi.

3.5. Beta-siklodekstrinlerle freeze-drying yöntemi ile inklüzyon komplekslerinin eldesi

Mikroenkapsülasyon işlemi, doğal siklodekstrin olan β -CD'in antosiyanince zengin ekstrakt ile 1:1 stokiometrik oranda inklüzyon kompleksi oluşturmaya dayanmaktadır (Mourtzinou ve diğ. 2008; Pradhan ve diğ. 2022). Bu kapsamda β -CD'nin sulu çözeltisinin (16 mM) 10 mL'sinde (0.16 mmol) siyanidin 3-*o*-glikosid eşdeğeri cinsinden 72 mg (0.16 mmol) aronya toz ekstraktı içeren karışım oda sıcaklığında ağzı kapalı amber şilifli erleninde 24 saat boyunca

manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Süre sonunda -18°C 'de 2 saat bekletilip donduruldu ardından -50°C 'de freeze dryer cihazında kuruluğa kadar bekletildi (24-36 saat).



Şekil 3.3. Aronya toz ekstraktların mikroenkapsülasyonu

3.5.1. Mikroenkapsülasyon ürün yüzdesinin belirlenmesi

0.16 mmol β -CD (181.6 mg) ile 0.16 mmol Aronya toz ekstraktı (72 mg) toplam miktarı 253.6 mg olup, mikroenkapsülasyon sonucu elde edilen inklüzyon kompleksinin miktarı analitik terazide tartılarak ölçüldü. Elde edilen miktarın başlangıçtaki toplam miktara (mg) oranlanması ile mikroenkapsüle ürün yüzdesi hesaplandı.

3.5.2. Mikroenkapsülasyon veriminin belirlenmesi

50 mg mikroenkapsüle aronya örneği 1 mL çözücü (5 mL Etanol: 4.2 mL su: 0.8 mL (v:v:v) asetik asit) içinde 5 dakika vortekslendi. Ardından 20 dakika ultrasonik banyoda inkübe edildi. Ardından 8000 rpm de 10 dakika boyunca 4°C 'de santrifüj edildi ve $0.45\ \mu\text{m}$ filtreden süzülde (A).

50 mg mikroenkapsüle aronya örneği 1 mL çözücü (Etanol:metanol (v:v)) içinde 1 dakika vortekslenildi ve 0.45 µm filtreden süzüldü (B).

pH-diferansiyel yöntemi ile A örneğinin toplam monomerik antosiyanin içeriği ve B örneğindeki yüzey monomerik antosiyanin içeriği belirlendi.

Benzer şekilde A ve B örnekleri HPLC sistemine verildi ve 520 nm dalgaboyundaki pik alanları toplanarak toplam antosiyanin içerikleri siyanidin3-o-glikozid cinsinden belirlendi.

Enkapsülasyon verimi pH-diferansiyel yöntemi ve HPLC yöntemi verileri kullanılarak Denklem 3.1'e göre hesaplandı:

$$\% \text{ Enkapsülasyon verimi} = 1 - \frac{\text{yüzey monomerik antosiyanin içeriği}}{\text{toplam monomerik antosiyanin içeriği}} \times 100 \quad (\text{Denklem 3.1})$$

3.5.3. Yapı karakterizasyon analizi

β-CD, aronya toz ekstrakt ve aronya:β-CD inklüzyon komplekslerine ait FTIR spektrumları 4000-600 cm⁻¹ aralığında elde edildi.

Aynı numunelerin 1 mL'lik sulu çözeltileri hazırlanıp 200-800 nm UV-Vis spektrumları aralığında görüntüldü.

Farklı pH aralığında (pH 2-12) Aronya toz ekstrakt ve aronya:β-CD inklüzyon komplekslerine ait UV-Vis spektrumlar 200-800 nm aralığında görüntüldü.

3.5.4. İnküzyon komplekslerinin stabilite testleri

Aronya toz ekstraktı (20 mg) ve aronya:β-CD inklüzyon kompleksleri (20 mg) 0, 7, 14, 21 ve 28 gün boyunca gün ışığında ağzı kapalı şekilde bekletildi. Ardından toplam antosiyanin içerikleri belirlendi. Günler arasındaki değişim incelendi.

Aronya toz ekstraktı (20 mg) ve aronya:β-CD inklüzyon kompleksleri (20 mg) 25, 40, 60, 80 ve 100 °C'de 2 saat etüvde bekletildi. Ardından toplam antosiyanin içerikleri belirlendi. Sıcaklık artışına bağlı değişim incelendi.

3.6. Aronya posası ekstraktlarının ve mikroenkapsüle toz ekstraktların spektroskopik analizleri

Temin edilen posalardan hazırlanan toz ekstraktlara ve β -CD ile freeze-drying yöntemiyle elde edilen mikroenkapsüle aronya posası toz ekstraktlarına toplam antioksidan kapasite (CUPRAC yöntemi), radikal süpürme aktivite (DPPH yöntemi), ve toplam antosiyanin içerik (pH-diferansiyel yöntemi) yöntemleri uygulandı. Uygulanan yöntemlerin analiz aşamaları aşağıda detaylandırılmıştır:

3.6.1. CUPRAC yöntemi ile toplam antioksidan kapasite analizi

Bir deney tüpü içerisine sırasıyla 10 mM Cu(II) çözeltisi (suda), 7.5 mM neokuproin (Nc) çözeltisi (etanolda) ve 1 M amonyum asetat (NH₄Ac) tampon çözeltisi (suda) 1'er mL eklendi. Üzerine x mL aronya toz ekstrakt (72 mg/10 mL) veya mikroenkapsüle toz ekstrakt (72 mg/10 mL) ve (1-x) mL ekstrakt çözücüsü ilave edildi. Tüpler oda koşullarında ağzı kapalı olarak 30 dakika boyunca bekletildi. Bu süre sonunda çözeltilerin içinde örnek bulunmayan referans çözeltiliye karşı 450 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. 3 tekrar yapıldı.

1 mL Cu(II) + 1 mL Nc + 1 mL NH₄Ac + x mL ekstrakt + (1-x mL) ekstraksiyon çözücüsü

V_{top}= 4 mL λ =450 nm Süre= 30 dk (Oda sıcaklığında)

Hazırlanan ekstraktların toplam antioksidan kapasite (TAK) değerleri aşağıda verilen eşitlik kullanılarak E-vitamininin suda çözünebilir analogu olan troloks eşdeğeri (TE) cinsinden hesaplandı (Denklem 3.2). Bu eşitlikte, troloksun CUPRAC yöntemine göre elde edilen molar absorplama katsayısı (ϵ_{TR}) olarak 1.60×10^4 L mol⁻¹ cm⁻¹ değeri kullanıldı.

$$TAK_{\text{mmol/g}} = \frac{\text{Absorbans}}{\epsilon_{TR}} \times \frac{\text{Toplam hacim (mL)}}{\text{Alınan örnek hacmi (mL)}} \times \text{Seyrelme oranı} \times \frac{\text{Toplam ekstre hacmi (mL)}}{\text{Örnek miktarı (g)}} \quad (\text{Denklem 3.2})$$

3.6.2. DPPH yöntemi ile radikal süpürme aktivite analizi

Hazırlanan 1 mM mor renkli DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikal çözeltisi (DPPH•) etil alkolle uygun oranda seyreltildi. Bir tüpe x mL aronya toz ekstrakt (72 mg/10 mL), 1 mL DPPH• çözeltisi ve (4-x) mL EtOH ilave edilip 30 dakika inkübe edildi (A). Aynı prosedüre

göre hazırlanan örnek içermeyen referans çözeltisi (A_0) ile birlikte 525 nm'de etanole karşı absorpsiyon ölçümleri alındı. Aşağıda verilen Denklem 3.3 kullanılarak % inhibisyon değerleri hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 (A_0 - A) / A_0 \quad (\text{Denklem 3.3})$$

3.6.3. pH-diferansiyel yöntemi ile toplam monomerik antosiyanin içerik analizi

Toplam monomerik antosiyanin tayini için aronya ekstraktı (72 mg/10 mL), pH 1 ve pH 4.5 tamponları ile belirli oranlarda (2-10 kat) seyreltildi. Çözeltilerin absorpsiyonları 15 dakika inkübasyon süresi sonunda 520 ve 700 nm'de ilgili tampon çözeltiye karşı ölçülüp, siyanidin-3-O-glukozit standardının derişimi ile absorpsiyon arasındaki kalibrasyon doğrusundan yararlanılarak örneklerin toplam antosiyanin miktarları hesaplandı. Doğada en yaygın antosiyanin pigmenti olan siyanidin-3-o-glukozitin (Cy-3-o-glu) ($M_A = 449.2 \text{ g mol}^{-1}$) pH-diferansiyel yöntemine göre molar absorpsiyon katsayısı ($\epsilon = 2.69 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanarak toplam antosiyanin içeriği (TAİ) mg/g cinsinden hesaplandı (Denklem 3.4).

$$\text{Absorpsiyon} = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

$$\text{TAİ}_{\text{mg/g}} = \frac{\text{Absorpsiyon}}{\epsilon_{\text{Cy-3-glu}}} \times \frac{\text{Toplam hacim (mL)}}{\text{Alınan örnek hacmi (mL)}} \times \text{Seyrelme oranı} \times \frac{\text{Toplam ekstre hacmi (mL)}}{\text{Örnek miktarı (g)}} \times \text{Molekül ağırlığı (Cy-3-glu)} \quad (\text{Denklem 3.4})$$

3.7. Antosiyaninlerin kromatografik analizi

Waters marka HPLC cihazında, 0.8 ml dk^{-1} akış hızıyla, dedeksiyon dalgaboyu olarak 210-600 nm aralığında tarama yapılarak, asetonitril (A) ve %0.2 (v/v) *o*-H₃PO₄ içeren bidistile su (B) ikili çözücü sisteminden oluşan hareketli fazın gradient elüsyonu ile analiz edildi. Analizde ACE 5 C18 kolon (5 μm , 25x4.6 mm) kullanıldı. Örnek enjeksiyon hacmi 20 μL 'dir. Kolon sıcaklığı: 35 $^{\circ}\text{C}$. Gradient elüsyon programının detayları aşağıdaki gibidir:

- **HPLC Metodu gradient elüsyon program şartları:**

Elüsyon süresi	Mobil faz A (Asetonitril)	Mobil faz B (%0.2 (v/v) <i>o</i> -H ₃ PO ₄ içeren bidistile su)	Eğim
0. Dakika	% 5	% 95	6
5. Dakika	% 10	% 90	6

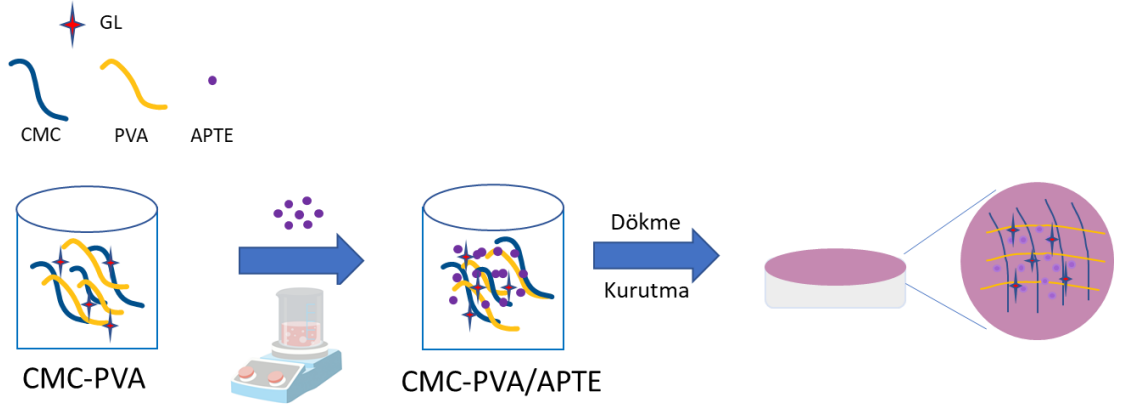
20. Dakika	% 15	% 85	6
35. Dakika	% 30	% 70	6
40. Dakika	% 40	% 60	6
45. Dakika	% 60	% 40	6
50. Dakika	% 5	% 95	6

x mL std. karışım veya 80 mg toz aronya ekstrakt + (1-x) mL %40 EtOH:su (v/v) + 1 mL %2 HCl $\xrightarrow{\hspace{1cm}}$ Toplam 2 mL

Hidroliz işlemi için 400 mg toz aronya ekstrakt tartıldı. 10 mL % 40 EtOH'da çözüldü. Üzerine 1 mL der. HCl (son konsantrasyon: 1.09 N HCl) eklenip geri soğutucu altında 2 saat 90°C'de reflüks edildi. Hidrolizat 25 mL'ye %40 etanol ile tamamlandı ardından 0.45 µm filtre (Chromafil GF/PET-45/25) filtrelendi ve HPLC sistemine enjekte edildi.

3.8. Biyopolimer filmlerin hazırlanması

PVA (%8, w/v) ve CMC (%2, w/v) çözeltilerinden 1:1, 1:2, 2:1 (v/v) oranında alınarak 2 saat boyunca manyetik karıştırıcıda 70°C'de karıştırıldı. Her bir karışım biyopolimer miktarının ağırlıkça %30 (w/v) oranında gliserol damla damla ilave edildi. Toplam 30'ar mL'lik film çözeltileri hazırlandı. Hazırlama prosedürünün detayı şu şekildedir: 26 mL (CMC:PVA) üzerine 0.39 g gliserol ilave edildi ve 15 dakika karıştırıldı. Aronya posası toz ekstraktından 60/90/120 mg tartılıp 1 mL EtOH:H₂O çözümlenerek Karışan film çözeltilisine ilave edilerek 30 dakika boyunca karıştırıldı. Film çözeltisi pH 4.5'a ayarlandıktan sonra petri kaplarına (d=90 mm) dökülerek kasting-yöntemine göre hazırlandı (Şekil 3.4.). Aronya posası içermeyen kontrol biyofilm çözeltisi de benzer şartlarda hazırlandı. Bir süre oda sıcaklığında bekletildikten sonra 40°C'de etüvde 48 saat bekletildi. Kurutulan filmler analiz yapılan kadar RH %53 (sodyum bromür) nem ortamında desikatörde bekletildi.



Şekil 3.4. Biyofilmlerin hazırlanmasının şematik gösterimi

3.9. Biyopolimer filmlerin fiziksel analizleri

3.9.1. Kalınlık

Her film numunesinin 6 farklı ölçüm noktasından ölçüm alındı. Kalınlık değerleri LOYKA marka dijital mikrometre ile belirlendi. Ortalama değer \pm standart sapma olarak sonuçlar belirlendi.

3.9.2. Işık absorpsiyonu ve geçirgenliği

0.8 cm x 3 cm büyüklüğünde dikdörtgen şeklinde hazırlanan film örnekleri kuvarz küvete yerleştirilip, absorpsiyon ve transmittans spektrumları 200-800 nm aralığında UV-Vis spektrofotometre cihazında çizildi.

3.9.3. Opaklık

0.8 cm x 3 cm hazırlanan film örneklerinin 600 nm'deki absorbans değerleri UV-Vis spektrofotometre cihazında ölçüldü. Her bir filmin kalınlığı kaydedildi. Aşağıda verilen hesaba göre opaklık belirlendi.

$$P = A_{(600 \text{ nm})} / d \quad (\text{Denklem 3.5})$$

(P: opaklık, $A_{600\text{nm}}$: 600 nm'de absorbans değeri, d: film kalınlığı (mm))

3.9.4. Nem içeriği (%)

2 cm x 2 cm boyutunda filmler hazırlanıp kurutma öncesi ilk tartımları alınarak 105°C'de sabit tartıma gelmesi için etüvde 4-5 saat boyunca bekletildi. Nem içeriği verilen denkleme göre hesaplandı.

$$\text{Nem içeriği (\%)} = \frac{(M-m)}{M} \times 100 \quad (\text{Denklemler 3.6})$$

(M: kurutma öncesi film ağırlığı (g), m: tamamen kurumuş film ağırlığı)

3.9.5. Suda çözünürlük (%)

2 cm x 2 cm boyutunda filmler hazırlanıp tartıldı. 10 mL destile su içinde 24 h oda sıcaklığında bekletildi. Geriye kalan film örneği alınıp 105°C'de etüvde bekletildi. Aşğıdaki Denklem 3.6'ya göre sonuçlar hesaplandı.

$$\text{Suda çözünürlük (\%)} = \frac{M-W}{M} \times 100 \quad (\text{Denklem 3.7})$$

(M: başlangıçtaki film ağırlığı (g), W: kalan filmin kuruma sonrası ağırlığı (g))

3.9.6. Su buharı geçirgenliği

Filmlerin su buharı geçirgenliklerinin belirlenmesi, özellikle filmlerin gıda ambalajı olarak kullanılması yönünden önemlidir. Bu sebeple, 50 mL'lik beherlere 20 mL destile su ilave edilip beherin ağzına yaklaşık 4 cm çapında olacak şekilde yuvarlak kesilmiş filmler yerleştirdi ve parafilm ile kenarları hava almayacak şekilde kapatıldı. İçinde susuz silikajel olan bir desikatöre yerleştirdi. Başlangıçta ve 5 gün (120 saat) sonunda tartım alınarak ağırlıktaki azalma belirlendi.

$$\text{Su buharı geçirgenliği: } \left(\frac{\Delta m \times X}{S \times \Delta P \times t} \right) \quad (\text{Denklem 3.8})$$

(Δm : cam beherin ağırlığındaki değişim (g); X: film kalınlığı (mm); S: filmin kapladığı alan (cm^2); ΔP : filmin atmosfere karşı kısmi buhar basıncı farkı, 3,179 KPa 22 °C; t: maruz kalma süresi (saat))

3.9.7. Çekme direnci ve kopmada uzama yüzdesi

10 mm genişliğinde ve 0.080 mm kalınlığında film numunelerinin çekme direnci (tensil kuvveti) ve kopmada uzama testleri ISO-527-1 ve ISO-527-2 standardına uygun olarak tekstür analiz cihazı kullanılarak ölçüldü. Her film için 10 ölçüm alındı.

3.10. Biyopolimer filmlerin karakterizasyonu

3.10.1. İnfrared spektrumlarının (FT-IR) eldesi

Sentezlenen polimerik filmlerin yapısındaki fonksiyonel grupları ve kimyasal bileşimini ortaya koymak amacıyla 600-4000 cm^{-1} dalgasayısı aralığında FTIR spektrumları Shimadzu (IRTracer-100) cihazında elde edildi.

3.10.2. Termogravimetrik (TGA) analiz

25-650 °C aralığında (10°C/dk) biyofilm örneklerinin kütle kayıpları hava atmosferine karşı ölçüldü. Polimer filmlerin termogravimetrik eğrileri Shimadzu TGA-60WS cihazında elde edildi.

3.10.3. Diferansiyel taramalı kalorimetrik (DSC) analiz

Aronya toz ekstraktı, aronya-BCD mikrokapsülleri ile CMC:PVA film numuneleri Hitachi ExStar DSC 6200 marka DSC cihazında analiz edildi. Test, azot altında 40-220 °C aralığında, 10 °C/dk ısıtma hızında gerçekleştirildi.

3.10.4. Taramalı elektron mikroskopisi ile görüntüleme

Aronya posası toz ekstraktı, mikroenkapsüle aronya ve biyofilm numunelerinin SEM cihazı görüntüleri elde edildi. Morfolojik özellikleri incelendi.

3.11. Biyopolimer filmlerin antioksidan/radikal süpürme/antosiyanın içerik analizi

10 cm çapında filmler hazırlanıp tartımları kaydedildi, ardından 30 mL destile suda çözüldü.

Toplam antioksidan kapasite analizi için, 1:1 seyreltilen film çözeltilisinden 1 mL alınıp CUPRAC yöntemi uygulandı. Toplam antosiyanın içerik analizi için, 1:1 seyreltilen film çözeltilisinden 1 mL alınarak pH-diferansiyel yöntemi uygulandı.

Serbest radikal süpürme aktivitesi için, 4 mL 1:10 seyreltilmiş metanollü DPPH çözeltilisi üzerine film çözeltilerinden 0.2 mL eklenip toplam 5 mL'ye tamamlandı. 517 nm'de referans çözeltiliye karşı absorbanslar ölçüldü.

3.12. Biyopolimer filmlerin antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi

Kontrol ve APTE katkılı CMC:PVA biyofilm örneklerinin antibakteriyel özelliği disk difüzyon testi uygulanarak gram negative *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ve gram pozitif *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) bakterileri üzerinden incelendi. Mikroorganizmalar için uygun katı besiyeri hazırlanarak petrilere döküldü, 18-24 saatlik sıvı mikroorganizma kültürünün bulanıklığı 0,5 McFarland olacak şekilde ayarlandı (Reller ve diğ., 2009). Mikroorganizmalar petriye ekildi ve yüzeyine etkisi belirlenecek film diskleri yerleştirildi. Film örnekleri eklenmiş petri, mikroorganizmanın gelişeceği 37 °C'de 24 saat inkübe edildi ve zon çapları ölçüldü.

3.13. Biyopolimer filmlerin renk analizleri

Biyofilm örneklerinin renk analizleri için PCE-CSM3 model kolorimetre standart bir beyaz plaka ile kalibre edildikten sonra, kolorimetre merceğinin önüne biyofilm yerleştirilerek ölçüm yapıldı. Beyaz plakanın renk parametreleri; L* (açıklık/koyuluk), a* (kırmızı/yeşil), b* (sarı/mavi) ve biyofilmlerin L, a, b renk parametreleri kaydedildi. L* (96.20), a* (-0.10), and b* (-1.98) standard beyaz ekranın renk parametreleri olarak belirlendi. Toplam kromatik sapma (ΔE) Denklem (3.9)'a göre hesaplandı.

$$\Delta E = \sqrt{(L - L^*)^2 + (a - a^*)^2 + (b - b^*)^2} \quad (\text{Denklem 3.9})$$

3.14. Biyopolimer filmlerin stabilite testleri

Kontrol, 60/90/120 mg aronya posası ekstraktı içeren ve Aronya: β -CD inklüzyon kompleksi içeren biyofilm numuneleri 0, 7, 14, 21 gün boyunca gün ışığında ağzı kapalı şekilde bekletildi. Ardından toplam antosiyanin içerikleri belirlendi. Günler arasındaki değişim incelendi.

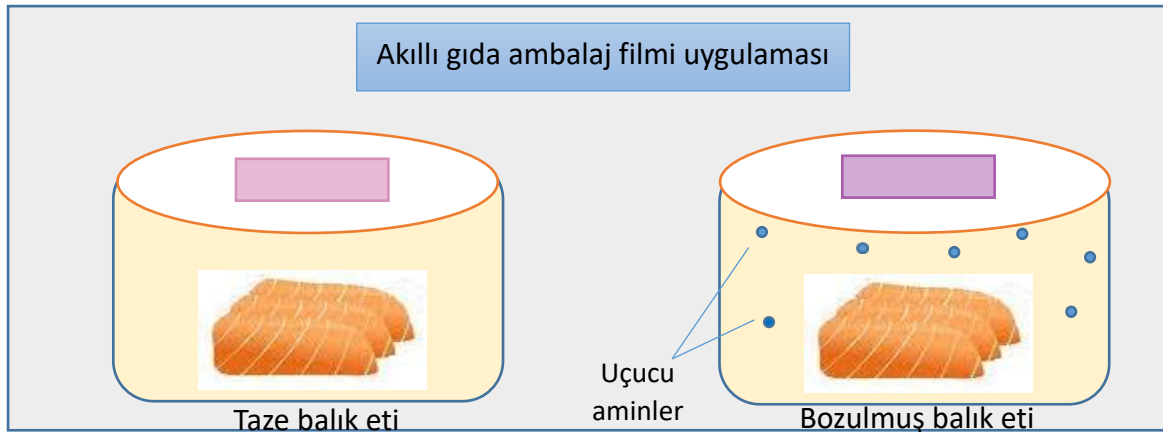
Kontrol, 60/90/120 mg aronya posası ekstraktı içeren ve Aronya: β -CD inklüzyon kompleksi içeren biyofilm numuneleri 25, 40, 60, 80°C'de 2 saat etüvde bekletildi. Ardından toplam antosiyanin içerikleri belirlendi. Sıcaklık artışına bağlı değişim incelendi.

3.15. Amonyak hassasiyeti testi

4 cm x 1 cm boyutunda filmler hazırlanıp 50 mL'lik beherde %10'luk amonyak çözeltisinin 2 cm uzağında yerleştirilip 2 dakika aralıklarla 20 dakika boyunca renk değişimleri incelendi. Renk parametre ölçümleri gerçekleştirildi. ΔE değerleri Denklem 3.9'a göre hesaplandı.

3.16. Akıllı sensör olarak gıda ambalajı uygulanması

1 cm x 3 cm boyutunda filmler hazırlanıp plastik petri kapların (d=10cm) kapağının iç kısmına yerleştirildi. Taze balık numunesi 2 ± 0.1 gram tartılıp petri kaplarına yerleştirildi. Petri kapları kapatılıp kenarları hava almayacak şekilde parafilm ile bantlandı. Oda koşullarında 6 h, 24 h, 48 h, 72 h ve 96 h boyunca, buzdolabında +4°C'de 48 h ve 96 h süresince bekletildi (Şekil 3.5.).





Şekil 3.5. Akıllı gıda ambalaj filmi uygulamasının gösterimi

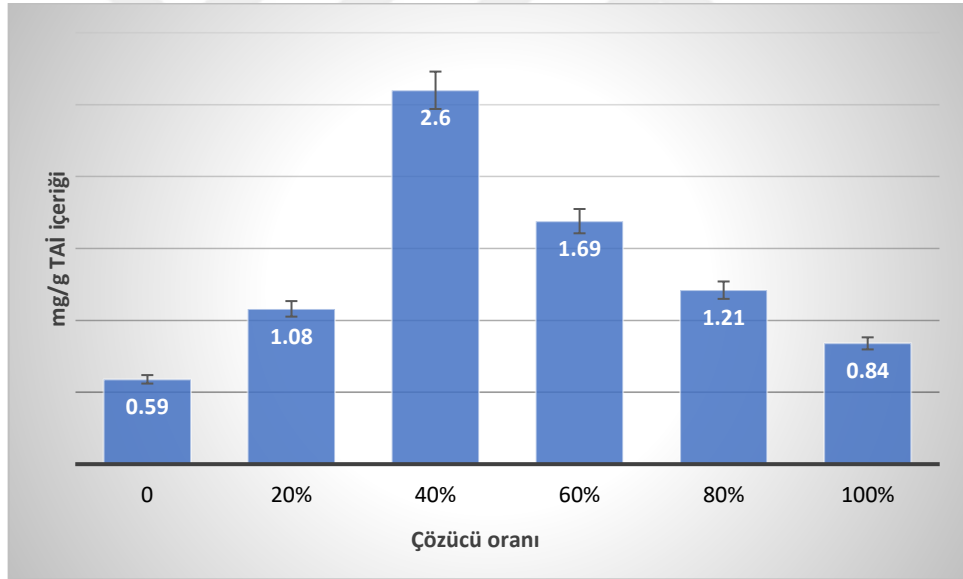


4. BULGULAR

4.1. Ultrasonik-Destekli Ekstraksiyon Optimizasyonu

4.1.1. Optimum ekstraksiyon çözücüsünün belirlenmesi

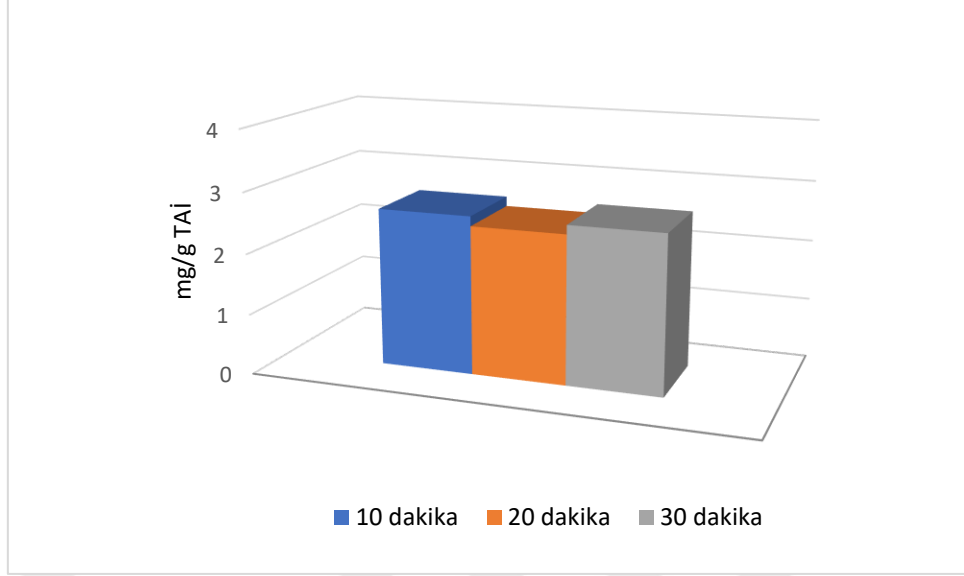
Yüzde bileşimleri farklı etanol:su çözücü ortamında (%0, %20, %40, %60, %80, %100) 1g /20 mL aronya posası ekstraktları 10 dakika boyunca ultrasonik homojenizatörde ekstrakte edildi. Optimum çözücü oranının belirlenmesi için ekstraktların toplam antosiyanin içerikleri ölçüldü. Buna göre en yüksek TAI değeri %40 etanol:su ortamında elde edildi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Optimum etanol:su ekstraksiyon çözücüsü oranının belirlenmesi

4.1.2. Optimum ekstraksiyon süresinin belirlenmesi

%40 etanol:su çözücü ortamında 1g /20 mL aronya posası ekstraktları 10, 20, 30 dakika boyunca ultrasonik homojenizatörde ekstrakte edildi. Optimum sürenin belirlenmesi için ekstraktların toplam antosiyanin içerikleri ölçüldü. Buna göre en yüksek TAI değerine 10 dakikada ulaşıldığı belirlendi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Optimum ekstraksiyon süresinin belirlenmesi

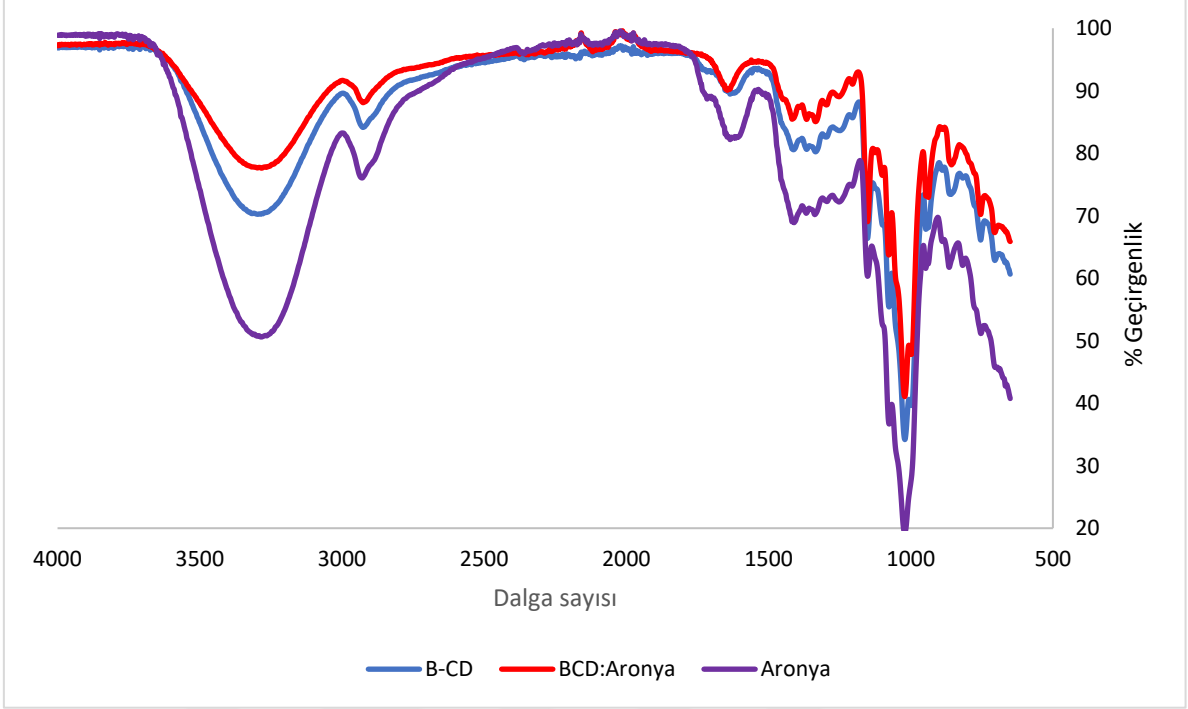
4.2. Aronya posalarının mikroenkapsülasyonu-freeze drying işlemi

Mikroenkapsülasyon işleminde 1:1 oranında kompleksleşme için 0.16 mmol 181.6 mg β -CD (181.6 mg) ile 0.16 mmol Aronya posası toz ekstraktı (72 mg) toplam miktarı 253.6 mg olup, mikroenkapsülasyon sonucu elde edilen inklüzyon kompleksinin miktarı analitik terazide tartılarak ölçüldü. Ürün 202 ± 3 mg olarak elde edildi. Elde edilen miktarın başlangıçtaki toplam miktara (mg) oranlanması ile mikroenkapsülasyon sonucu ürün yüzdesi $\%79 \pm 2$ olarak hesaplandı.

Detayları Bölüm 3.5.2’de verilen mikroenkapsülasyon verimi Denklem 3.5’e göre hesaplandı ve spektroskopik pH-diferansiyel yöntemi bulgularına göre $\% 50.4 \pm 1.1$ olarak belirlendi. Detayları Bölüm 3.7.’de verilen HPLC yöntemi ile toplam ve yüzey monomerik antosiyanin içeriği siyanidin-3-*o*-glukozid cinsinden elde edildi ve mikroenkapsülasyon verimi $\% 51.6 \pm 1.8$ olarak belirlendi.

4.3. Mikroenkapsüle posa örneğinin FTIR spektrumunun eldesi

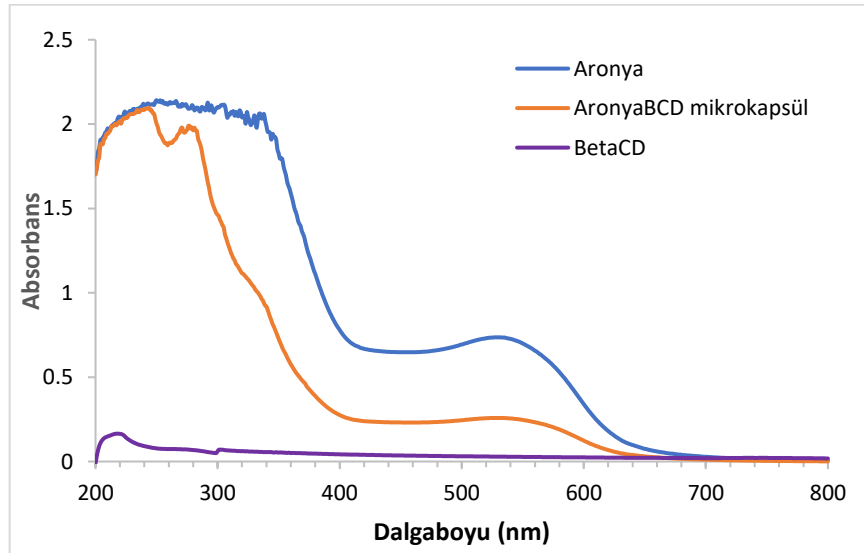
β -CD, Aronya ekstraktı ve mikroenkapsülasyon ürününün FTIR spektrumları $4000-600 \text{ cm}^{-1}$ aralığında görüntülendi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. β -CD, Aronya ekstraktı ve mikroenkapsülasyon ürününün FTIR spektrumları

4.4. Mikroenkapsüle posa örneğinin UV-Vis spektrumunun eldesi

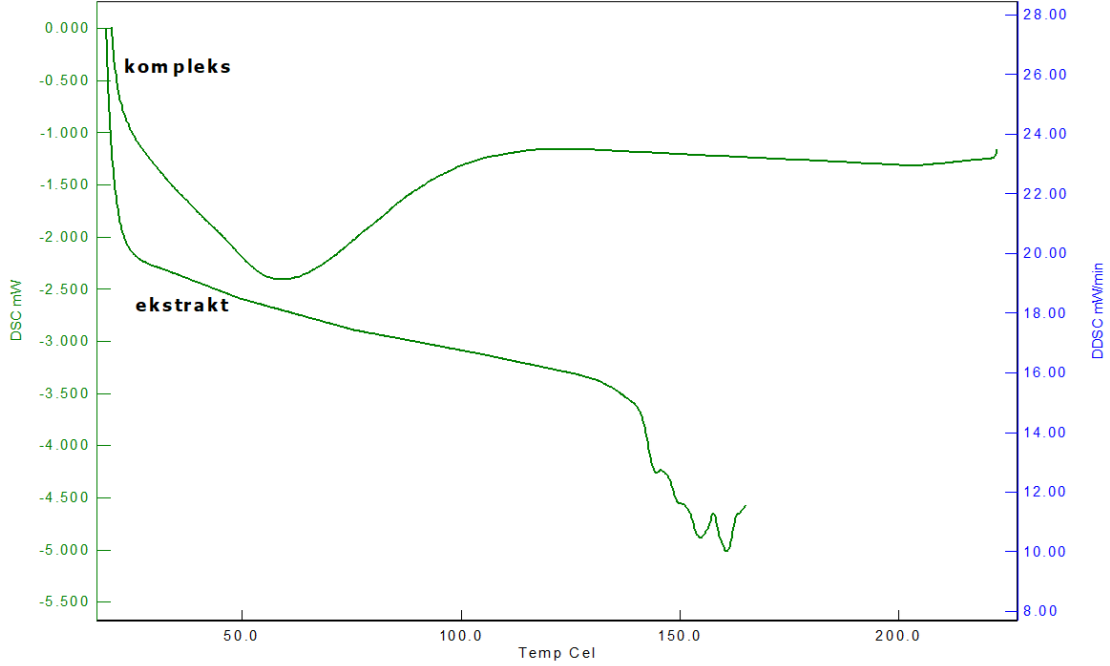
β -CD, Aronya ekstraktı ve mikroenkapsülasyon ürününün UV-Vis spektrumları 200-800 nm aralığında görüntülendi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. β -CD, Aronya ekstraktı ve mikroenkapsülasyon ürününün UV-Vis spektrumları

4.5. Aronya posası ekstraktı ve mikroenkapsüle posa örneğinin DSC ile termal özelliklerinin belirlenmesi

Diferansiyel taramalı kalorimetri analizi için aronya posası toz ekstrakt ile mikrokapsüllerinin sıcaklığa bağlı DSC eğrileri elde edildi (Şekil 4.5). Mikroenkapsülasyon sonrası termal özelliklerin değişimi incelendi.



Şekil 4.5. Aronya posası toz ekstrakt ile mikrokapsüllerinin sıcaklığa bağlı DSC eğrileri

4.6. Aronya posası ekstraktı ve mikroenkapsüle toz ekstraktların toplam antioksidan kapasite, radikal süpürme aktivite ve toplam antosiyanin içeriğinin belirlenmesi

Bölüm 3.4.'de ekstraksiyon detayları verilen endüstriyel aronya posası toz ekstrakt numunesinden ve Bölüm 3.5.'te belirtilen mikroenkapsüle toz ekstrakttan 72'şer mg alınıp üzerine 10 mL 1:1 (v/v) Etanol:su ilave edilerek vortekslenip çözünmesi sağlandı. Ardından CUPRAC, TAI ve DPPH yöntemleri uygulandı. Toplam antioksidan kapasite değerleri mg/g troloks eşdeğeri olarak, radikal süpürme aktivitesi % inhibisyon olarak, toplam antosiyanin içeriği mg/g cys-3-*o*-glu eşdeğeri olarak hesaplandı (Tablo 4.1).

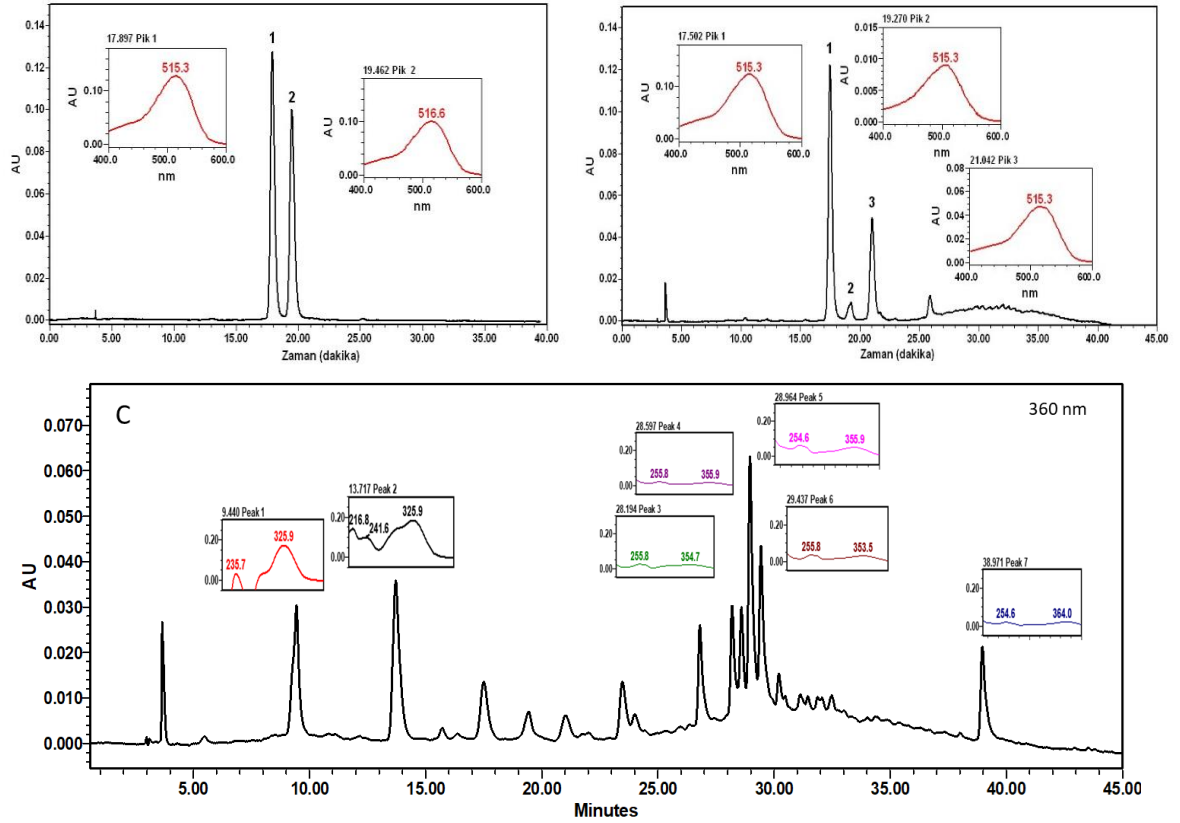
Tablo 4.1. Endüstriyel aronya posası toz ekstraktı ve mikroenkapsüle aronya posası toz ekstraktının antioksidan, radikal süpürme aktivite ve toplam antosiyanin içerikleri

Örnek	TAC _{CUPRAC} (mg/g Troloks eşdeğeri)	DPPH radikali süpürme aktivitesi (% inhibisyon) ^a	TAİ _{pH-diferansiyel} (mg/g cys-3-o-glu eşdeğeri)
Aronya posası toz ekstrakt (APTE)	11.03±0.55	57±2.5	2.56±0.12
Mikroenkapsüle aronya posası toz ekstrakt (MAPTE)	4.26±0.21	62±3.0	0.81±0.05

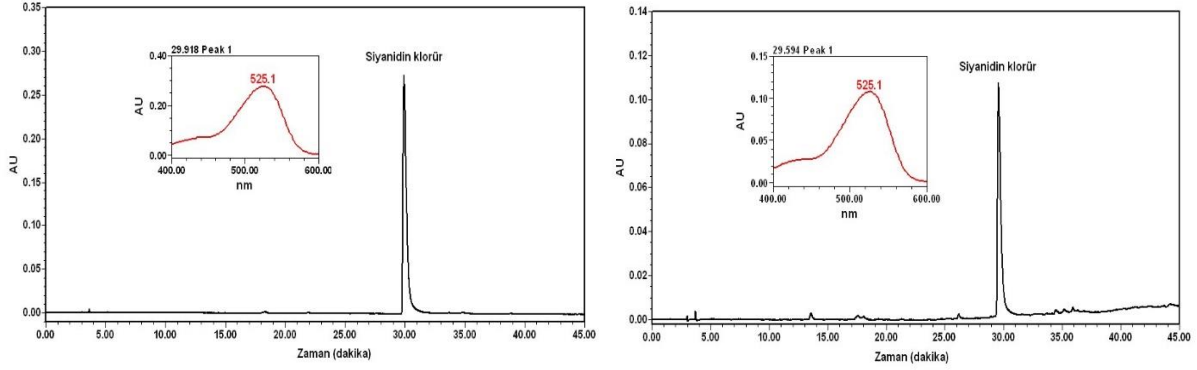
^a DPPH yönteminde aronya posası ekstraktı (1:5) ve mikroenkapsüle posa ekstraktı kullanıldı.

4.7. Aronya posası ekstraktı ve mikroenkapsüle toz ekstraktların kromatografik analizi

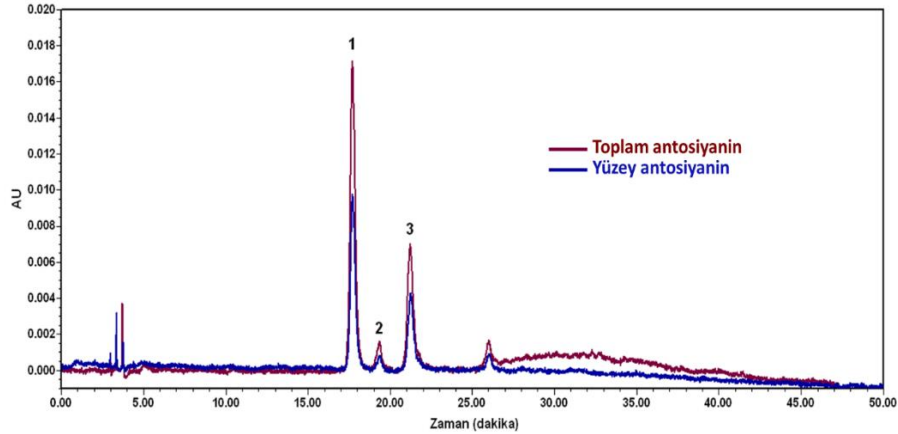
Analiz şartları Bölüm 3.7.'de verilen RP-HPLC gradient elüsyon ile antosiyanin standartları, aronya posası toz ekstraktı, hidrolizat ve mikrokapsül aronya örneğine ait kromatogramlar elde edildi (Şekil 4.6-4.8). Kromatografik veriler ışığında, standart bileşiklerin UV-vis spektrumları ve alıkonma süreleri örnekte yer alan pik verileri ile karşılaştırılarak ve numunelere standart katkı yapılarak antosiyanin içerikleri belirlendi.



Şekil 4.6. (A) Antosiyanidin standartlarına ait kromatogram (λ : 520 nm) (1: siyanidin-3-o-galaktozid, 2: siyanidin-3-o-glukozid) (B) Atık Aronya posası toz ekstraktına ait HPLC kromatogramı (λ : 520 nm) (1: siyanidin-3-o-galaktozid, 2: siyanidin-3-o-glukozid, 3: siyanidin-3-o-arabinozid) (C) Atık Aronya posası toz ekstraktına ait HPLC kromatogramı (λ : 360 nm) (kaffeoil-kuinik asit türevleri, kuersetin glukozidleri, kuersetin)



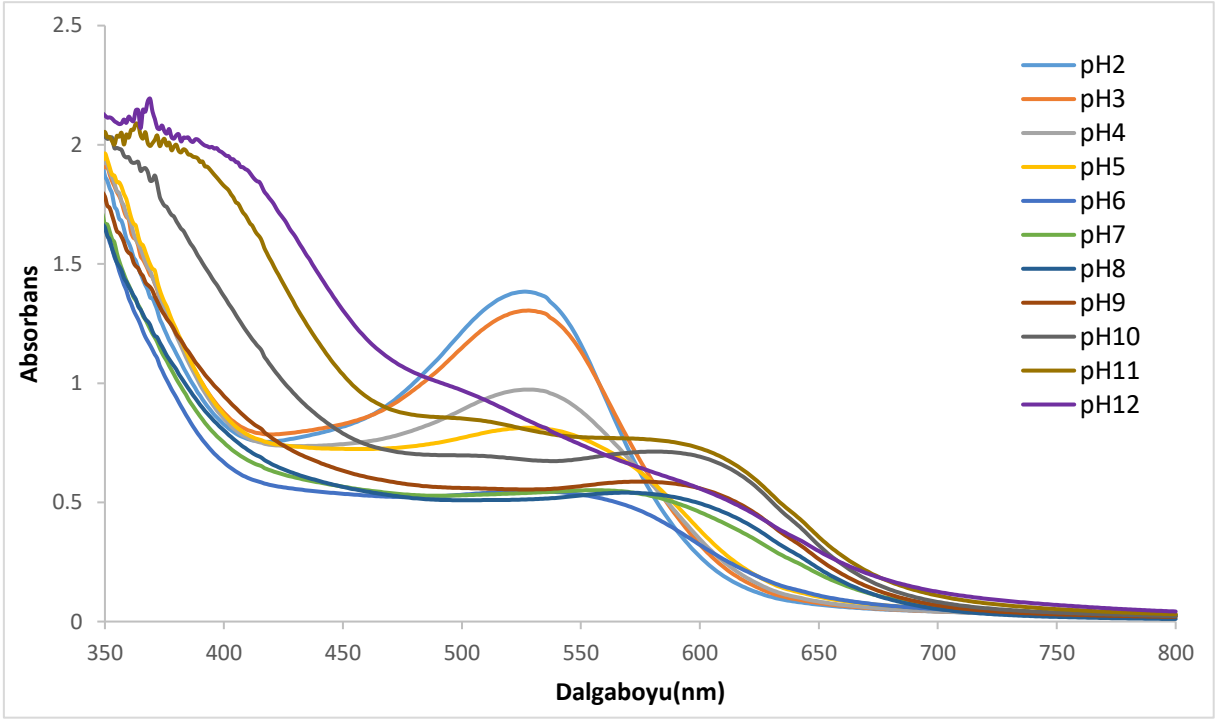
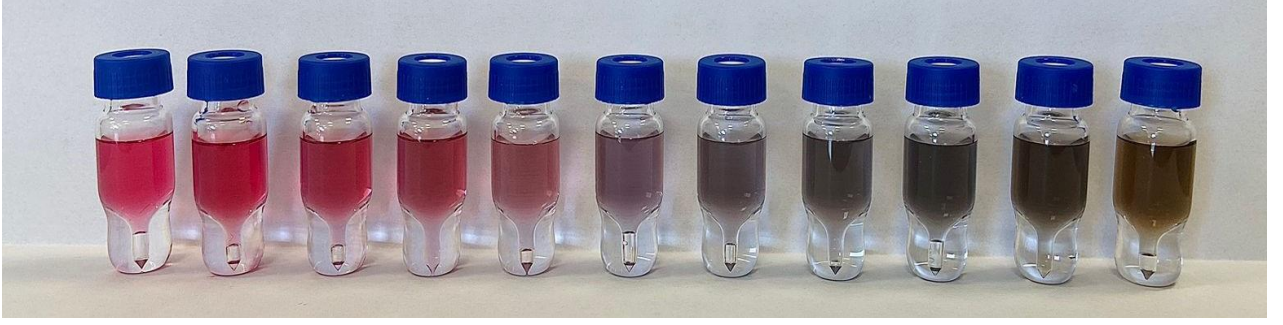
Şekil 4.7. (A) Siyanidin klorür standardına ait kromatogram (λ : 520 nm) (B) Atık Aronya posası hidrolizatına ait HPLC kromatogramı (λ : 520 nm)



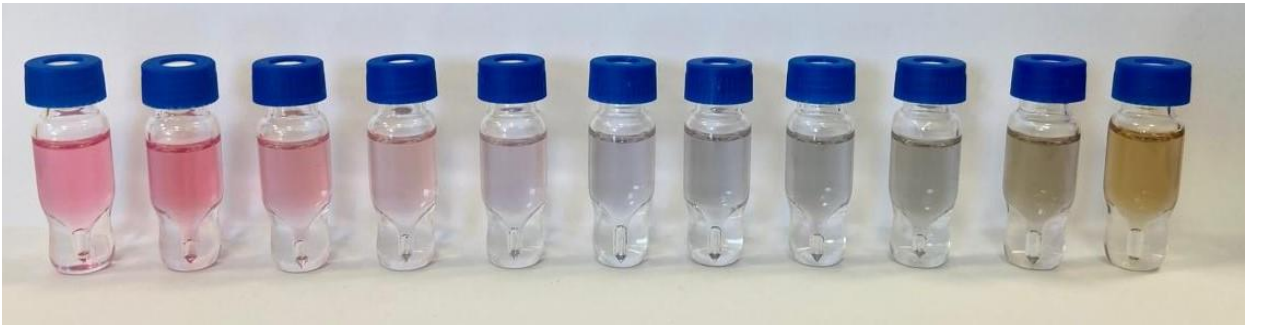
Şekil 4.8. Mikroenkapsüle aronya örneklerinin toplam antosiyanin ve yüzey (enkapsülenmemiş) antosiyanin içeriğine ait kromatogram (λ : 520 nm) (1: siyanidin-3-o-galaktozid, 2: siyanidin-3-o-glukozid, 3: siyanidin-3-o-arabinozid)

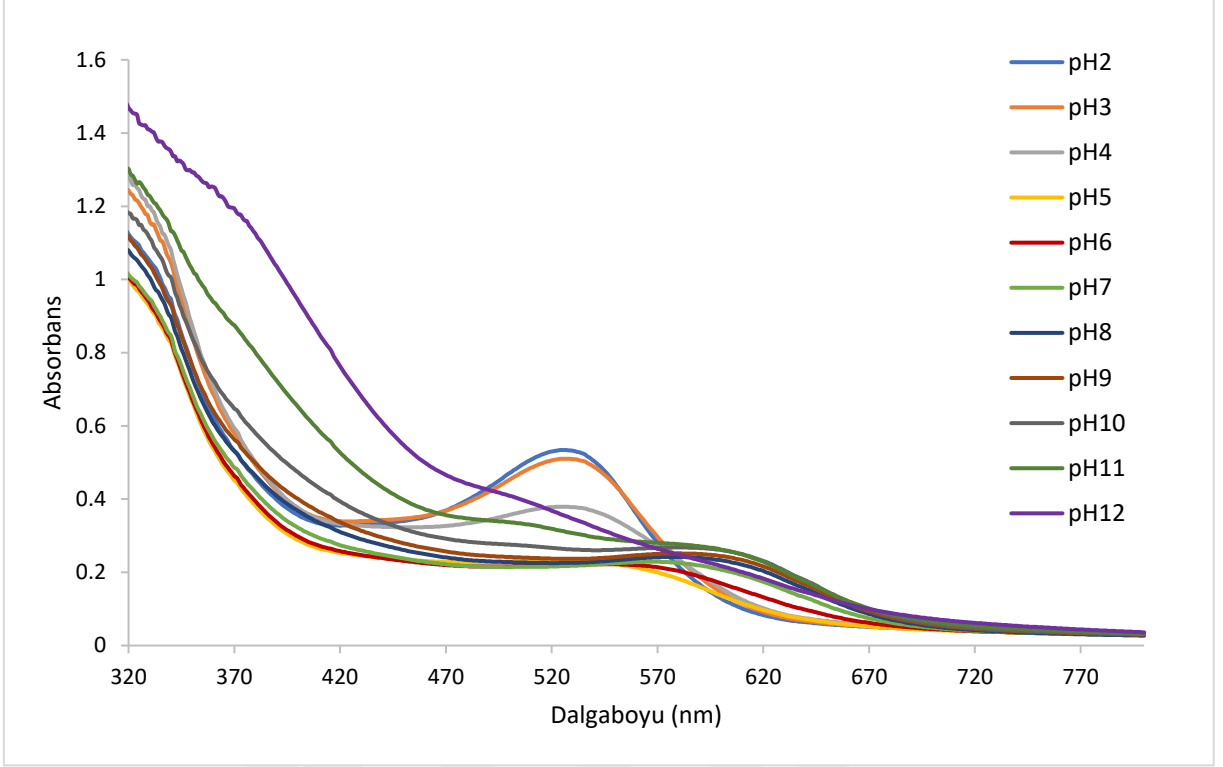
4.8. Toz aronya posası ekstraktı ve mikrokapsüle aronya posası numunesinin pH'a bağlı renk değişimleri

pH 2-12 aralığında hazırlanan posa (8 mg/mL) ve mikrokapsül (8 mg/mL) çözeltilerinin UV-Vis spektrumları 200-800 nm de görüntülendi. Renk değişimleri izlendi (Şekil 4.9-4.10).



Şekil 4.9. Aronya posası toz ekstraktının pH'a bağlı renk değişimleri ve UV-vis spektrumları

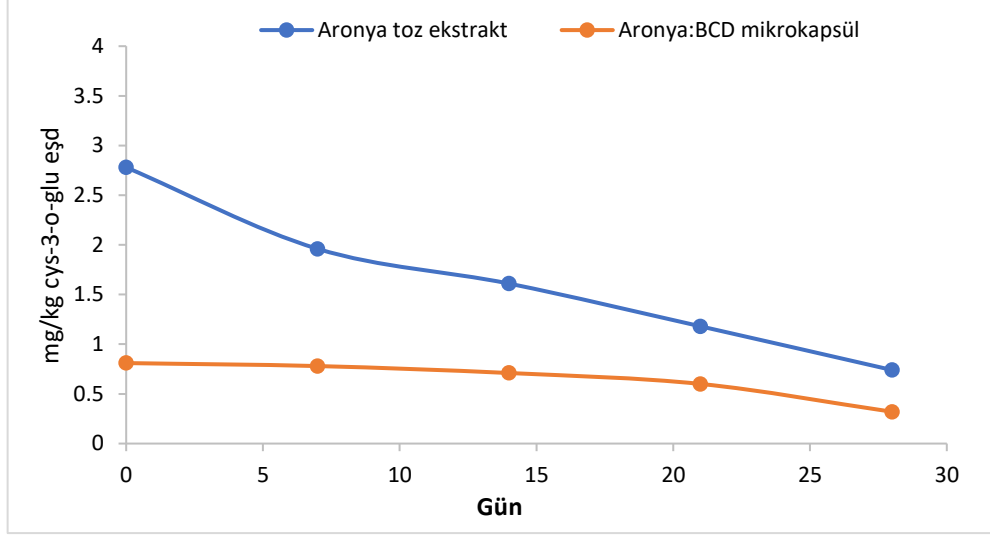




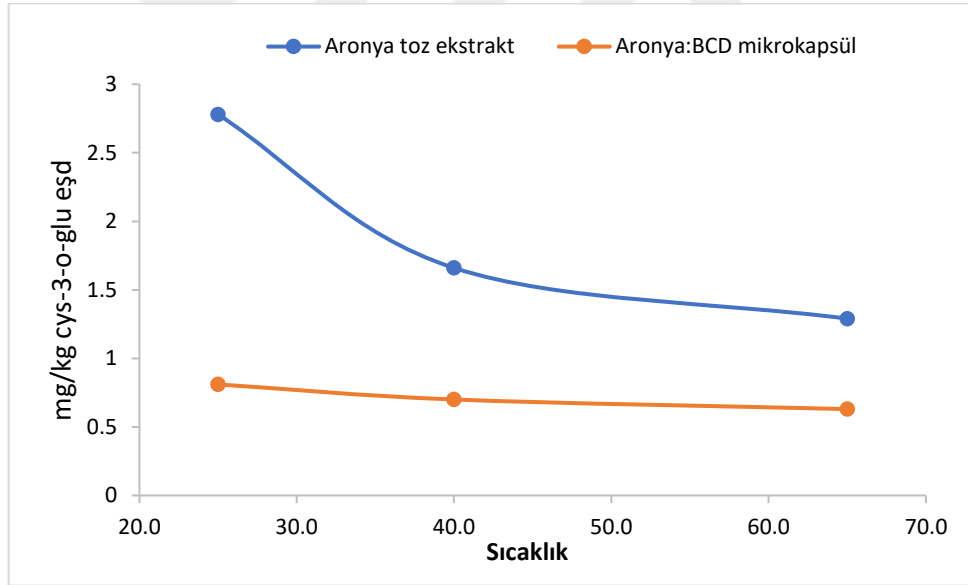
Şekil 4.10. Mikroenkapsüle aronya posasının pH'a bağlı renk değişimleri ve UV-vis spektrumları

4.9. Mikroenkapsüle posa örneğinin stabilite testi

Mikrokapsüllerin ve toz ekstraktların artan sıcaklığa ve süreye bağlı stabiliteleri incelendi. 0, 7, 14, 21 ve 28. gün boyunca içerikleri belirlendi. Günler arası TAI değerleri mg/kg cys-3-o-glukozid eşdeğeri cinsinden izlendi (Şekil 4.11). 25°C, 40°C ve 65 °C'de TAI değerleri izlenerek sıcaklığa bağlı stabiliteleri incelendi (Şekil 4.12).



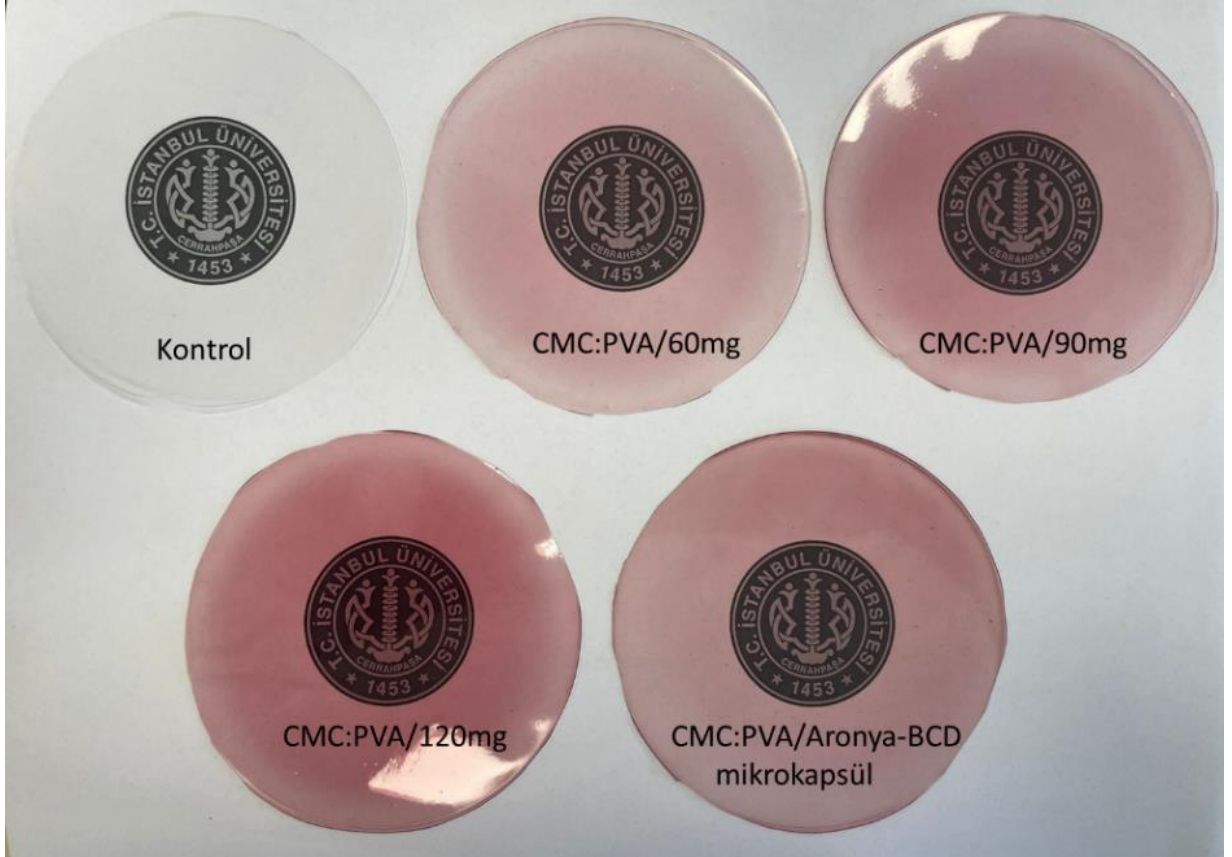
Şekil 4.11. Aronya toz ekstraktların ve aronya:BCD mikrokapsüllerin süreye bağlı stabilite değişim grafiği



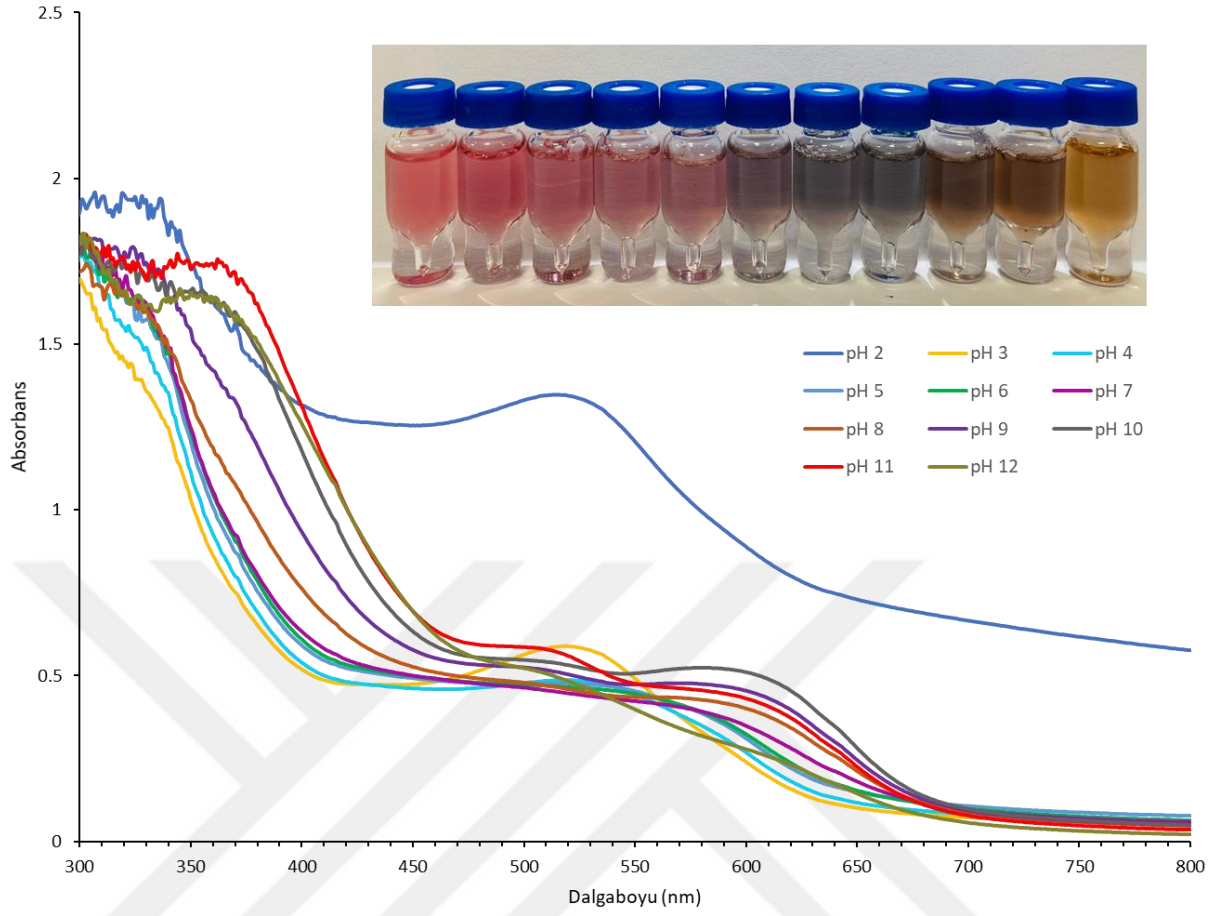
Şekil 4.12. Aronya toz ekstraktların ve aronya:BCD mikrokapsüllerin sıcaklığa bağlı stabilite değişim grafiği

4.10. Karboksi metil selüloz-polivinil alkol esaslı kontrol ve aronya atık posası katkı biyopolimer filmlerin eldesi

Bölüm 3.8’de verilen prosedüre göre biyobozunur polimer filmler kontrol, aronya posası ekstraktı (60/90/120 mg) içeren ve Aronya:BCD mikrokapsül içeren şekilde hazırlandı (Şekil 4.13). Biyofilm çözeltilerinin pH’a bağılı değişimleri pH 2-12 aralığında incelendi ve UV-Vis spektrumları elde edildi (Şekil 4.14).



Şekil 4.13. Biyofilm görselleri



Şekil 4.14. Biyopolimer film çözeltilerinin pH'a bağlı UV-Vis spektrumları

4.11. CMC:PVA biyopolimer filmlerin fiziksel özellikleri

Elde edilen biyopolimer filmlerin kalınlıkları (mm), nem içerikleri (%), suda çözünürlükleri (%), opaklık ve su buharı geçirgenlikleri ($\text{g cm}^{-1} \text{h}^{-1} \text{Pa}^{-1}$) Tablo 4.2'de verildi.

Tablo 4.2. Kontrol ve antioksidan katkılı filmlerin fiziksel özellikleri

Örnek	Film kalınlığı ^a (mm)	Nem içeriği (%)	Suda çözünürlük (%)	Opaklık	Su buharı geçirgenliği ($\text{g cm}^{-1} \text{h}^{-1} \text{Pa}^{-1}$)
CMC/PVA -kontrol	0.166±0.007	11.49	81.96	0.22	5.09×10^{-9}
CMC/PVA/APTE60mg	0.185±0.012	10.94	84.67	0.53	6.05×10^{-9}
CMC/PVA/APTE90mg	0.200±0.010	9.55	91.17	0.72	6.28×10^{-9}
CMC/PVA/APTE120mg	0.215±0.010	9.44	94.10	0.80	6.54×10^{-9}
CMC/PVA/APTE:BCD	0.205±0.008	8.90	90.13	0.74	6.43×10^{-9}

^a ortalama değer ± SD

4.12. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin toplam antioksidan kapasite, radikal süpürme aktivite ve toplam antosiyanin içerikleri

Bölüm 3.8’de verilen prosedüre göre biyobozunur polimer filmlere CUPRAC, TAİ ve DPPH yöntemleri uygulandı. Toplam antioksidan kapasite değerleri mg/g troloks eşdeğeri olarak, radikal süpürme aktivitesi % inhibisyon olarak, toplam antosiyanin içeriği mg/kg cys-3-*o*-glu eşdeğeri olarak hesaplandı (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. CMC:PVA biyofilmlerin toplam antioksidan, radikal süpürme aktivite ve toplam antosiyanin içerikleri

Örnek	TACCUPRAC (mg/g Troloks eşdeğeri)	DPPH radikali süpürme aktivitesi (% inhibisyon) ^a	TAİ _{pH-diferansiyel} (mg/kg cys-3- <i>o</i> -glu eşdeğeri)
CMC/PVA -kontrol	-	-	-
CMC/PVA/APTE60mg	0.89±0.04	30.4±1.52	79.9±3.87
CMC/PVA/APTE90mg	1.30±0.07	40.3±2.01	115.0±5.70
CMC/PVA/APTE120mg	1.68±0.08	55.7±2.78	155.8±6.80
CMC/PVA/APTE:BCD	1.33±0.06	42.3±2.05	118.1±5.43

4.13. CMC:PVA biyopolimer filmlerin mekanik özellikleri

10 mm genişliğinde ve 0.166 ile 0.215 mm değişen kalınlıklarda film numunelerinin çekme direnci (tensil kuvveti) ve kopmada uzama testleri ISO-527-1 ve ISO-527-2 standardına uygun olarak tekstür analiz cihazı kullanılarak ölçüldü. Her film için 10 ölçüm alındı. Kontrol filmlere nazaran antosiyanin katkılı örneklerin çekme dirençlerinin ve kopmada uzama yüzdelерinin arttığı gözlenmiştir (Tablo 4.4.)

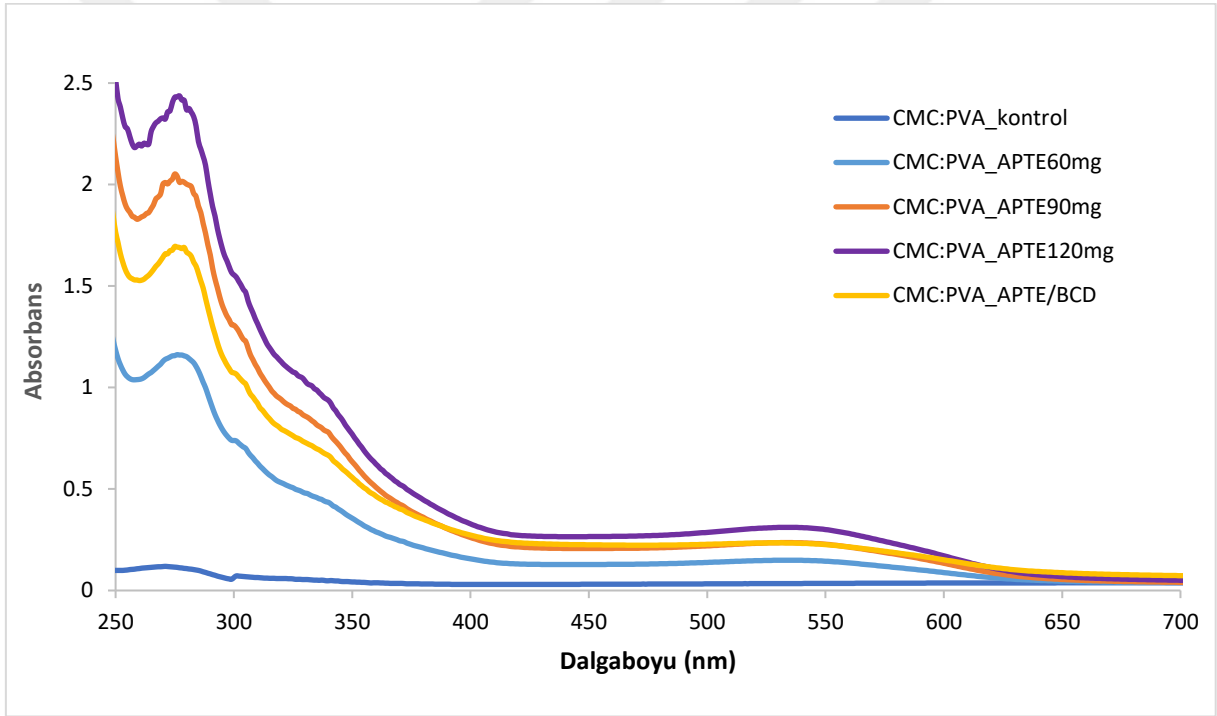
Tablo 4.4. Sentezlenen biyofilmlerin mekanik özellikleri

Örnek	Çekme direnci (MPa)	Çekme modülü (MPa)	Kopmada uzama (%)
CMC/PVA-kontrol	7.96	121.89	15.00
CMC/PVA-APTE60mg	9.14	148.77	15.50
CMC/PVA-APTE90mg	8.28	150.18	17.15

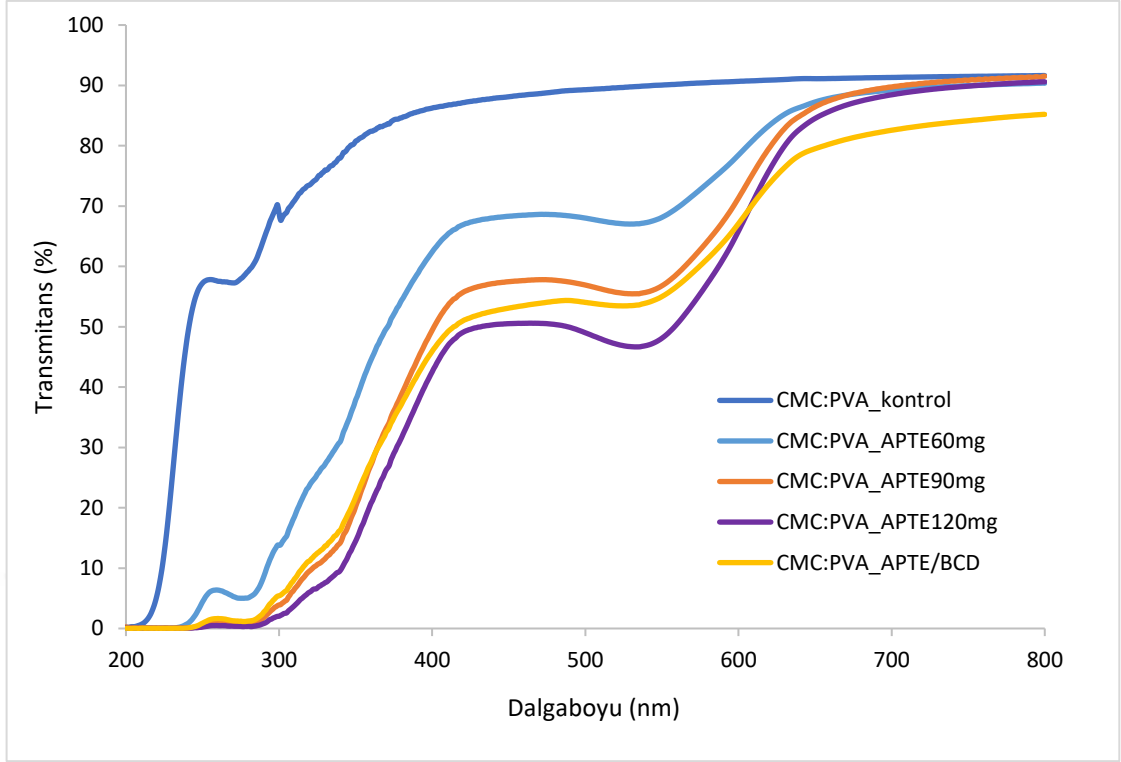
CMC/PVA-APTE120mg	6.93	194.85	21.57
CMC/PVA-APTE:BCD	7.59	96.31	19.47

4.14. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin optik özellikleri

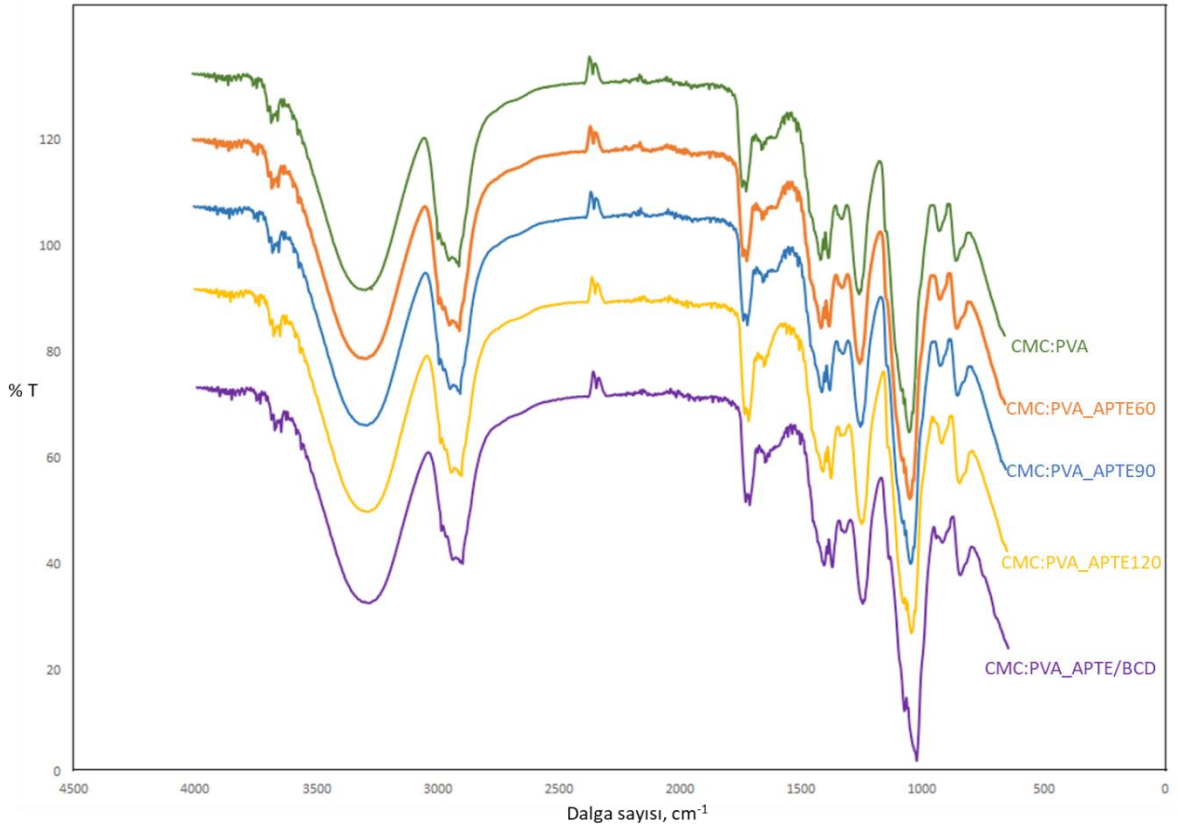
Elde edilen CMC:PVA kontrol ve APTE katkılı filmlerin 200-800 nm aralığında UV-vis absorpsiyon spektrumları (Şekil 4.15) ve % transmittans spektrumları (Şekil 4.16) görüntüledi. 600-4000 cm^{-1} aralığında her bir biyofilm örneğinin FTIR spektrumları oluşturuldu (Şekil 4.17).



Şekil 4.15. Kontrol ve APTE katkılı biyopolimer filmlerin UV-Vis spektrumları



Şekil 4.16. Kontrol ve APTE katkılı biyopolimer filmlerin transmittans spektrumları



Şekil 4.17. Kontrol ve APTE katkılı biyopolimer filmlerin FTIR spektrumları

4.15. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi

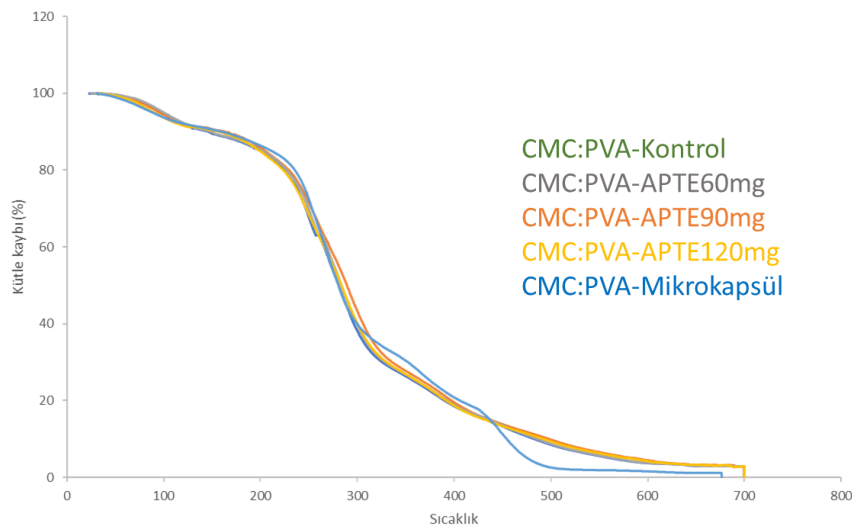
Disk difüzyon testi uygulanarak gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ve gram pozitif *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) bakterileri üzerinden biyofilmlerin antibakteriyel özellikleri incelendi. Sonuçlar Tablo 4.5.'de gösterilmektedir.

Tablo 4.5. CMC:PVA biyofilmlerin antimikrobiyal özellikleri

Örnek	Bakteri türü	
	gram negatif <i>P. aeruginosa</i>	gram pozitif <i>S. aureus</i>
CMC:PVA KONTROL	10.72	Zon çapı oluşmamıştır.
CMC:PVA/APTE60 MG	13.54	Zon çapı oluşmamıştır.
CMC:PVA/APTE90 MG	20.70	Zon çapı oluşmamıştır.
CMC:PVA/APTE120 MG	22.14	10.92
CMC:PVA/APTE:BCD	19.72	Zon çapı oluşmamıştır.

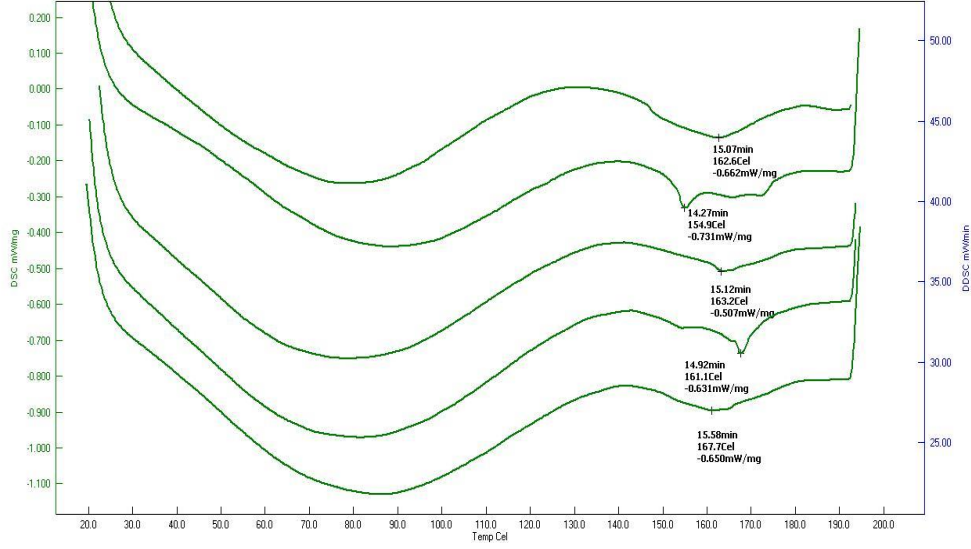
4.16. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin termal özelliklerinin belirlenmesi

Termal analizle biyofilmlerin termal özelliklerinin belirlenmesi için sıcaklık artışına bağlı kütle değişimlerini görüntüleyen TGA eğrileri 25-700 °C (10°C/dk), 30 mL/min hava atmosferinde elde edildi (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. CMC:PVA biyofilmlerin termogravimetrik eğrileri

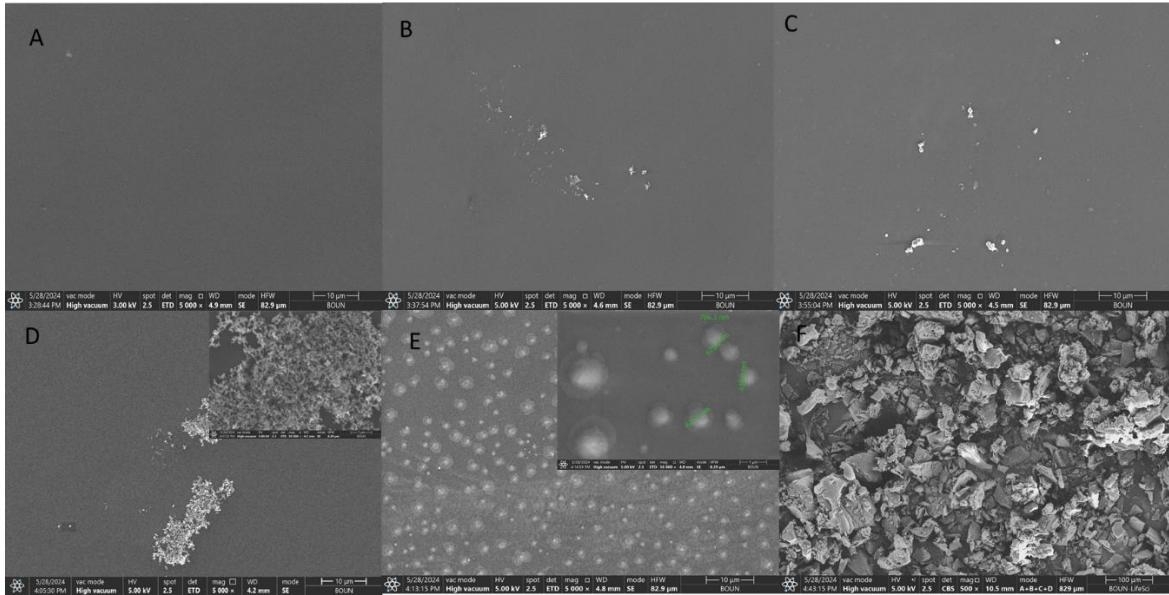
Film numunelerinin DSC eğrileri, azot altında 40-220 °C aralığında, 10 °C/dk ısıtma hızında gerçekleştirildi (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Kompozit filmlere ait DSC eğrileri

4.17. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi

Morfolojik özelliklerin belirlenmesinde taramalı elektron mikroskopu kullanılarak farklı ölçekli büyütme yapılarak görüntüler kaydedildi (Şekil. 4.20(A-E)).



Şekil 4.20. Biyofilmlerin morfolojik görüntüleri (A: CMCPVA-Kontrol; B: CMCPVA-APTE60mg; C:CMCPVA-APTE90mg; D:CMCPVA-APTE120mg; E: CMCPVA-MAPTE (iç grafik: mikrokapsüllerin boyutları); F: toz mikrokapsül

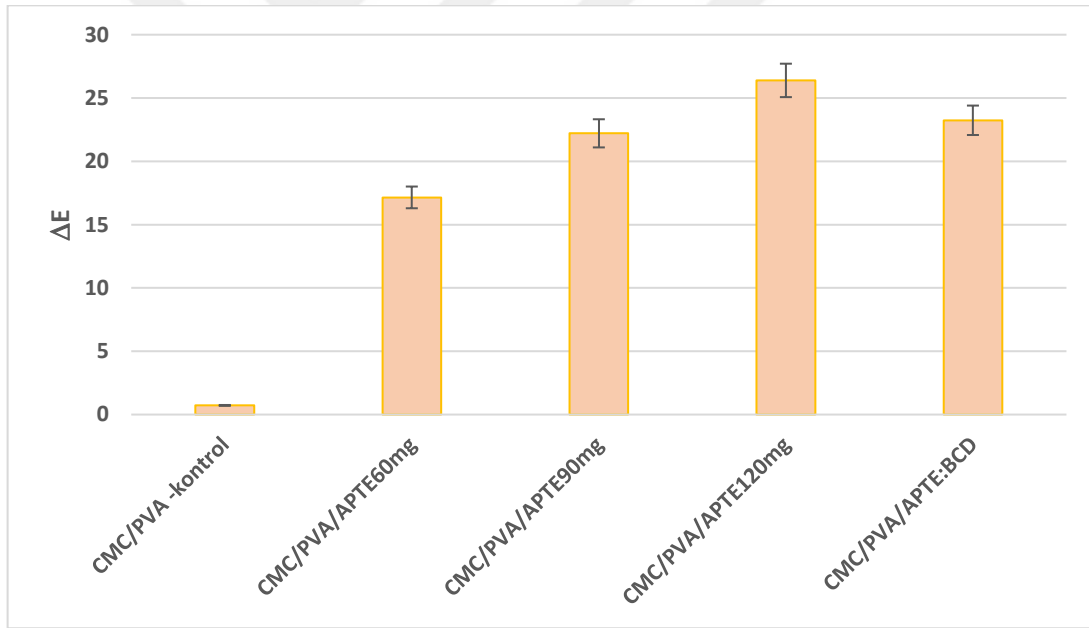
4.18. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin kolorimetrik analizi

Biyofilm örneklerinin renk analizleri için kolorimetre cihazında L^* , a^* ve b^* renk indisleri ölçüldü. Denklem 3.9’da verilen hesaba göre toplam kromatik sapma (ΔE) hesaplandı (Tablo 4.6.) (Şekil 4.21).

Tablo 4.6. CMC:PVA biyofilmlerin renk analiz verileri

Biyofilm örnekleri	L^*	a^*	b^*	Toplam kromatik kayma (ΔE)
CMC/PVA -kontrol	95.88±0.30	0.14±0.04	-1.35±0.16	0.72±0.03
CMC/PVA/APTE60mg	83.31±0.87	9.76±0.76	1.70±0.34	17.15±0.58
CMC/PVA/APTE90mg	78.24±0.50	12.05±0.34	2.02±0.04	22.21±0.44
CMC/PVA/APTE120mg	70.91±0.74	20.34±0.42	2.23±0.26	26.39 ±0.97
CMC/PVA/APTE:BCD	78.77±0.05	14.47±0.43	2.92±0.13	23.24±0.47

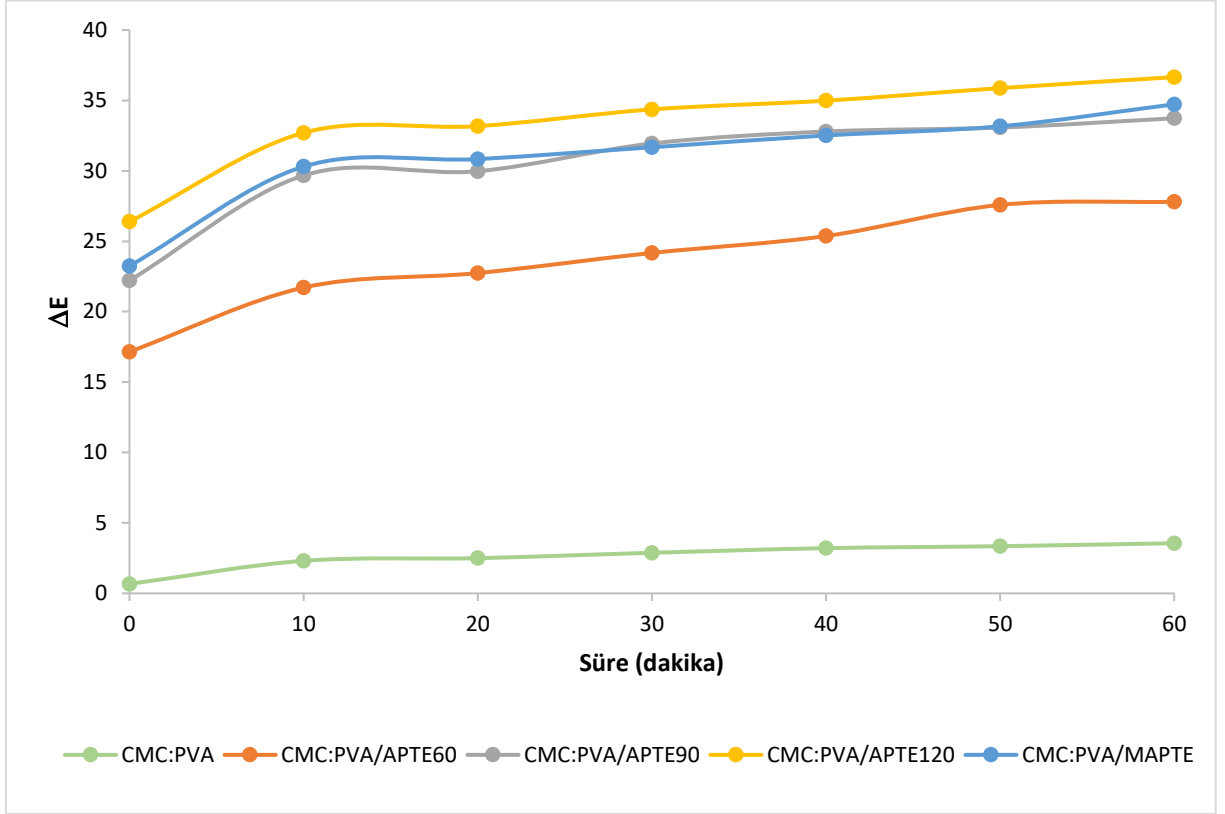
L_0^* : 96.30, a_0^* : -0.14, b_0^* : -2.30; ortalama değer ± SD



Şekil 4.21. Kontrol ve APTE katkıli biyopolimer filmlerin renk analiz sonuçları

4.19. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin amonyak testi uygulaması

4 cm x 1 cm boyutunda filmler amonyak buharına 10’ar dakika aralıklarla 60 dakika boyunca (Şekil 4.22) tutularak simülasyon işlemi ile renk değişimleri incelendi. Renk parametre ölçümleri gerçekleştirildi. ΔE değerleri Denklem 3.9’a göre hesaplandı.




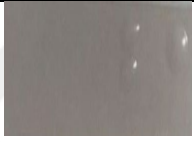



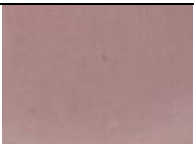



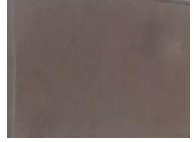
Şekil 4.22. Kontrol ve APTE katkı biyopolimer filmlerin zamana bağlı renk değişim grafiği



4.20. Aktif/akıllı CMC:PVA biyofilmlerin gıda uygulaması





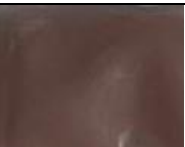


Detayları Bölüm 3.16'da verilen şekilde balık tazeliğinin belirlenmesinde numuneler oda koşullarında 6 h, 24 h, 48 h, 72 h ve 96 h boyunca, buzdolabında +4⁰C'de 48 h ve 96 h süresince bekletildi ve renk değişimleri incelendi (Tablo 4.7). Renk parametre ölçümleri kolorimetre cihazında gerçekleştirildi. ΔE değerleri Denklem 3.9'a göre hesaplandı.

Tablo 4.7. CMC:PVA biyofilmlerin gıda uygulaması verileri

Film	süre	ΔE	
CMC:PVA/APTE 60 mg	6 saat	8,63	
CMC:PVA/APTE 60 mg	24 saat	9,06	
CMC:PVA/APTE 60 mg	48 saat	9,5	
CMC:PVA/APTE 60 mg	72 saat	11,9	
CMC:PVA/APTE 60 mg	96 saat	17,68	

Film	süre	ΔE	
CMC:PVA/APTE 90 mg	6 saat	8,6	
CMC:PVA/APTE 90 mg	24 saat	12,9	
CMC:PVA/APTE 90 mg	48 saat	14,10	
	25°C		
CMC:PVA/APTE 90 mg	48 saat	14,26	
	4°C		
CMC:PVA/APTE 90 mg	72 saat	15,23	

CMC:PVA/APTE 90 mg	96 saat 25°C	23.02	
	4°C	20,62	

Film	süre	Δ E	
CMC:PVA/APTE:BDC	6 saat	17,8	
CMC:PVA/APTE:BDC	24 saat	23,4	
CMC:PVA/APTE:BDC	48 saat 25°C	26,84	
	4°C	22,9	
CMC:PVA/APTE:BDC	72 saat	29,13	
CMC:PVA/APTE:BDC	96 saat 25°C	33,88	
	4°C	36,37	

5. TARTIŞMA

5.1. Endüstriyel aronya posasından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu

Aronya (*A. melanocarpa*) fenolik bileşiklerce zengin bir meyvedir. Yüksek oranda proantosiyanidinler, antosiyaninler ve fenolik asit içeriğine sahiptir (Kulling&Rawel, 2008). *A. melanocarpa* meyveleri antosiyaninlerin (flavonoid sınıfı) en zengin bitki kaynaklarından biridir: içeriğindeki siyanidin-3-*o*-galaktosid, siyanidin-3-*O*-arabinosid, siyanidin-3-*o*-ksilosid ve siyanidin-3-*o*-glukozid meyvenin koyu kırmızı, mavi ve mor renklerinden sorumludurlar Oszmiański & Sapis, 1988). Bu meyvenin içeriğindeki toplam polifenollerin %25'i antosiyaninlerdir (Oszmiański&Wojdylo, 2005). Aromatik asitlerden en baskın olanı klorojenik ve neoklorojeniktir. Epikateşin oligomerleri, aronia meyvesi polifenollerinin %66'sını temsil eden baskın proantosiyanidinlerdir (Slimestad ve diğ. 2005). Bu nedenle yüksek antioksidan aktiviteye sahip sağlık ve tıbbi açıdan önemli bir bitkisel kaynaktır. Aronya gibi bitkilerden sağlığa faydalı bileşenler genellikle sıvı veya kuru ekstraktlar halinde kullanılır. Yüksek verimli ve kaliteli ekstraktların üretimi için, optimum ekstraksiyon yöntemi ve proses şartlarının araştırılması gereklidir. Tez kapsamında ultrasonik homojenizatör cihazı kullanılarak diğer ekstraksiyon tekniklerine oranla nispeten ucuz ve hızlı olan ultrason destekli ekstraksiyon (UAE) yöntemi tercih edilmiştir (Şekil 3.1). UAE tekniğinde, ultrasonik bir dalganın geçişiyle ekstraksiyon çözücüsünde gaz kabarcıklarının oluşması, büyümesi ve patlaması sonucu üretilen akustik kavitasyonların etkisi çözücünün numune matrisine daha fazla nüfuz etmesini sağlar ve katı ile sıvı faz arasındaki temas yüzey alanını artırır (Wang ve diğ. 2008). Ekstraksiyonun optimum şartlarda sağlanması ve antioksidanca zengin ekstraktların elde için için çözücü oranı, zaman, sıcaklık, ultrasonik güç gibi ekstraksiyon koşullarının doğru bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir. En uygun çözücü genellikle polaritesine, hedefe ve bileşiklere olan ilgisine, maliyetine ve güvenliğine göre seçilir. Farklı seviyelerde su içeren alkoller ve aseton, bitki materyallerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Wang ve diğ. 2008; Ramić ve diğ. 2015). Etanol, araştırılan birçok sistemde fenolikler için en yüksek afiniteye sahiptir, bu nedenle toz haline getirilmiş aronya posası polifenoliklerin ekstraksiyonu için çözücü olarak seçilmiştir. Tez kapsamında meyve suyu işletmesinden tedarik edilen aronya posaları Bölüm 3.4.'de detayları verilen ekstraksiyon

öncesi hazırlık işlemlerinden geçirildikten sonra 1g /20 mL yüzde bileşimleri farklı etanol:su çözücü ortamında (%0, %20, %40, %60, %80, %100) olacak şekilde 10 dakika boyunca ultrasonik homojenizatörde ekstrakte edilmiştir. Optimum çözücü oranı ekstraktların toplam antosiyanin içerikleri ölçülerek belirlenmiştir. En yüksek TAI değeri %40 (v/v) etanol:su ortamında elde edildiğinden ekstraksiyon çözücüsü %40 (v/v) etanol:su seçilmiştir (Şekil 4.1). İkinci aşamada 1g /20 mL aronya posası ekstraktları 10, 20, 30 dakika boyunca ultrasonik homojenizatörde ekstrakte edilerek optimum süre belirlenmiş, buna göre en yüksek TAI değerine 10 dakikalık ekstraksiyon süresinde ulaşabildiği tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Ramic ve diğ. (2015) aronya yan-ürünlerinden fenolik bileşiklerin UAE tekniği ile %50 etanol:su çözücü ortamında maksimum ekstraksiyon verimine ulaşıldığını belirlemişlerdir.

5.2. Aronya posası ekstraktlarının mikroenkapsülasyonu ve karakterizasyonu

Enkapsülasyon teknolojisi, yalnızca kapsüllenmiş malzemeleri tutma kapasitesi nedeniyle değil uzun süre için yeterli derecede koruma sağlaması açısından da önemli bir tekniktir. Özellikle antosiyaninler doğal gıda renklendiricileri olarak kabul edilmelerine rağmen, kararsız yapıları sıcaklık, ışık, oksijen, pH değişimi gibi çevresel faktörler nedeniyle pratik uygulamalarda engel teşkil etmektedir. Çok sayıda enkapsülasyon yöntemi (püskürterek kurutma, inklüzyon kompleksleme, dondurarak kurutma, ekstrüzyon, akışkan yatak kaplama vb.) kullanılmaktadır. Antosiyaninlerin inklüzyon kompleksi hazırlanarak enkapsülasyonu üzerine yapılan bir çalışmada Berberis lycium antosiyaninleri (BA) ile β -siklodekstrin (β -CD) stokiyometrik eşimolar oranda dondurarak kurutma tekniği ile hazırlanan inklüzyon komplekslerinin antosiyaninlerin stabilitelerinin ve biyoerişilebilirliklerinin iyileştirilmesi amaçlanmıştır (Pradhan ve diğ. 2022). Bir diğer çalışmada H. sabdariffa L. antosiyaninlerinin stabilitesi siklodekstrin varlığında artırılmıştır (Mourtzinis ve diğ. 2008). Dondurarak kurutma yöntemi, kimyasal ayrışmayı en aza indirdiği ve sıcaklıkla kolaylıkla bozulan antosiyanince zengin ekstraktların düşük sıcaklıklarda enkapsülasyonunun gerçekleşmesi sebebiyle tez çalışmasında β -siklodekstrin (β -CD) varlığında dondurarak kurutma tekniğinden yararlanılmıştır.

Mikroenkapsülasyon işlemi, β -CD ile Aronya posası toz ekstraktı stokiyometrik olarak eşit mol oranında (0.16 mmol) gerçekleşmiştir. Enkapsülasyon neticesinde elde edilen ürün miktarının başlangıçtaki toplam miktara (mg) oranlanması ile ürün yüzdesi 79 ± 2 olarak hesaplanmıştır. Literatürde, pektin ve HP- β CD varlığında püskürterek kurutma yöntemiyle gerçekleştirilen

mikroenkapsülasyon işleminde toz ürün veriminin %67.87-73.27 olduğu belirtilmiştir (Kuzmanović ve diğ., 2023).

Detayları Bölüm 3.5.2’de verilen mikroenkapsülasyon verimi Denklem 3.5’e göre hesaplanmış olup spektroskopik pH-diferansiyel yöntemi bulgularına göre % 50.4 ± 1.1 olarak belirlendi. Detayları Bölüm 3.7.’de verilen HPLC yöntemi ile toplam ve yüzey monomerik antosiyanin içeriği siyanidin-3-o-glukozid cinsinden elde edilmiş olup mikroenkapsülasyon verimi % 51.6 ± 1.8 olarak bulunmuştur. Çatalkaya ve diğ. (2022) tarafından aronya posasından antosiyanin açısından zengin ekstraktın farklı kaplama malzemeleri (maltodekstrin, maltodextrin:arabic gum (MD:GA), maltodextrin: peynir altısuyu (MD:WPI) ve maltodextrin: ksantan gum(MD:XG)) kullanılarak sprey kurutma yoluyla kapsüllemesi neticesinde aronya posasının MD (%38), MD:WPI (%52), MD:XG (%58) ve MD:GA (%70) şeklinde enkapsülasyon verimi gösterdiği belirlenmiştir. Aronya meyve suyunun taşıyıcı olarak HP-BCD varlığında mikroenkapsülasyonu %54.3 enkapsülasyon verimi göstermiştir (Wilkowska ve diğ., 2017).

İnklüzyon kompleksinin oluştuğu ve mikroenkapsülasyonun gerçekleştiğini belirlemek için infrared spektroskopisi, diferansiyel taramalı kalorimetri ve taramalı elektron mikroskobu kullanılarak spektroskopik ve mikroskobik analizler gerçekleştirilmiştir. FTIR spektrumu Şekil 4.3.’de görülmektedir. B-CD FTIR spektrumunda 3300 cm⁻¹ civarında geniş -OH gerilme titreşim bandı, 2926 cm⁻¹ -CH gerilme titreşimi, 1150 cm⁻¹ ve 947 cm⁻¹ C=O gerilme titreşimlerini, Aronya posası ekstraktındaki 3282 cm⁻¹ -OH gerilme titreşimini, 2930 cm⁻¹ C-H gerilme titreşimini, 1714 cm⁻¹ piran halkasındaki C=O karakteristik piklerini, 1620 cm⁻¹ benzen iskeletini, 1100-1150 cm⁻¹ arası C-O-C, 1409 cm⁻¹, 1339 cm⁻¹ aromatik halkayı göstermektedir. 879, 817 ve 717 cm⁻¹ aronyanın parmak izi bölgesinde yer almakta olup, inklüzyon kompleksinde bu pikler kaybolmuştur. Aronyada mevcut 1074, 1151, 1409, 1636, 3282 cm⁻¹ piklerinde kayma gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre inklüzyon kompleksinin oluştuğu görülmektedir.

β-CD, Aronya ekstraktı ve aronya mikrokapsüllerinin sulu çözeltilerinin UV-Vis spektrumları 200-800 nm aralığında görüntülendi (Şekil 4.4). Aronya ekstraktında maksimum absorpsiyon 527 nm’de gözlenirken, mikroenkapsülasyon işlemi sonrası 534 nm’de gözlenmiştir. UV-vis spektroskopisinde, CD’lerin varlığında gözlenen batokromik kaymalar inklüzyon kompleksinin oluştuğunu göstermektedir. Çelik ve diğ. (2011), rozmarinik asit-siklodekstrin inklüzyon komplekslerinin serbest rozmarinik asit moleküllerinin absorpsiyonuna nazaran daha uzun

dalgaboyunda absorpsiyon yaptığını göstermiştir. Benzer değişim kuersetin ve glikozidlerinin farklı siklodekstrinler varlığındaki inklüzyon komplekslerinde de gözlenmiştir (Çelik ve diğ., 2015).

Aronya posası ekstraktının ve β -CD ile inklüzyon kompleksinin sıcaklık ve zamanın bir fonksiyonu olarak DSC oksidasyon eğrileri incelenmiştir (Şekil 4.5). Antosiyaninlerin oksidasyonuna bağlı olarak aronya posası için 140 °C'den sonra bir endoterm başlamıştır. İlgili endotermik pikler, inklüzyon kompleksinin DSC taramasında gözlenmemiştir, bu da aronya posası ekstraktının ana bileşenleri olan antosiyaninlerin β -CD ile kompleksleşme nedeniyle oksidasyondan korunduğu ve dolayısıyla antosiyaninlerin stabilitesinin siklodekstrin varlığında arttığını kanıtlamaktadır. Benzer sonuçlar, hibiskus antosiyaninlerinin β -CD ile enkapsülasyonu için Mourtzinov ve diğ. (2008) tarafından da bildirilmiştir.

5.3. Aronya posası ekstraktı ve mikrokapsüllerin antioksidan kapasite, radikal süpürme aktivitesi

Aronya posasında bulunan başta antosiyaninler olmak üzere, fenolik asitler, flavanoller ve proantosiyaninler potansiyel sağlığı geliştirici (anti-kanser, anti-enflamatuvar, anti-obezite ve kalp-damar koruyucu) özelliklere sahiptir (Ramic ve diğ. 2015). Bu bağlamda APTE ve MATE numunelerinin toplam antioksidan kapasiteleri spektrofotometrik CUPRAC yöntemiyle (Apak ve diğ. 2004) tespit edilmiştir. DPPH• serbest radikal süpürme aktivitesi (%) (Sanchez-Moreno ve diğ. 1998) belirlenmiştir. CUPRAC yöntemi bulgularına göre APTE 11.03±0.55 mg/g troloks eşdeğeri, MAPTE 4.26±0.21 mg/g troloks eşdeğeri antioksidan kapasite göstermiştir. DPPH süpürme aktivitesi, APTE (1:5 seyreltilmiş) için %57±2.5, MAPTE için %62±3.0 bulunmuştur. Aronya meyve suyu proses kalıntısının ABTS troloks eşdeğeri antioksidan kapasite değeri 11,49 mg/mL olarak bulunmuştur (Lee ve diğ., 2024). Bu değer, tez çalışmasında analiz edilen APTE'nin toplam antioksidan kapasite değeri ile uyumludur.

5.4. Aronya posası ekstraktı ve mikrokapsüllerin toplam antosiyanin içeriğinin belirlenmesi ve pH duyarlılığının izlenmesi

Toplam antosiyanin içeriği, pH diferansiyel yöntemine göre APTE için 2.56 ±0.12 mg/g cys-3-o-glu, MAPTE için ise 0.81±0.05 mg/g cys-3-o-glu eşdeğeri ölçülmüştür. Aronya meyvesinin siyah erik kabuğu (2,33 mg/g) gibi antosiyanin bakımından zengin diğer meyvelere göre daha yüksek bir toplam antosiyanin içeriğine (4,42 mg/g) sahip olduğu belirtilmiştir (Wang ve diğ.,

2023). Literatüre bakıldığında, antosiyanin içeriği aronyada 4,34 mg/g iken böğürtlen, kırmızı ahududu ve çilek de sırasıyla 1.109 mg/g, 0.243 mg/g, 0.232 mg/g olarak verilmiştir (Jakobek ve diğ., 2007).

Aronya posası toz ekstraktı ve mikrokapsül aronya örneğine ait antosiyanin içerikleri analiz şartları Bölüm 3.7.'de verilen RP-HPLC gradient elüsyon ile analizlenmiştir (Şekil 4.6-4.8). Toplam antosiyanin içerikleri mg/g cys-3-*o*-glu eşdeğeri olarak belirlenmiştir. Bu kapsamda siyanidin-3-*o*-glukozide ait $y = 2.378c \times 10^{10} + 20775$ ($r: 0.9990$) kalibrasyon denkleminde yararlanılmıştır. APTE örneğinde, siyanidin 3-*o*-galaktozid, siyanidin 3-*o*-glukozid, siyanidin 3-*o*-arabinosid tespit edilmiştir. Bunu yanısıra 360 nm dalgaboyunda elde edilen kromatogram verilerine bakıldığında posada, kuersetin ve glikozidleri, kaffeoil quinik asit türevlerinin varlığı kalitatif olarak saptanmıştır (Şekil 4.6). Diğer yazarlar tarafından sunulan veriler aronyada bulunan ana antosiyaninlerin siyanidin-3-galaktozid ve siyanidin-3-arabinosid olduğunu göstermekte olup, siyanidin-3-ksilosid ve siyanidin-3-glukozit oranı düşüktür (Jakobek ve diğ., 2007). Major bileşenler siyanidin-3-*O*-galaktozid (67.5%) ve siyanidin-3-*O*-arabinosid (24.8%) ile minor antosiyaninler siyanidin-3-*O*-glukozit (3.8%) and siyanidin-3-*O*-ksilosid (4.0%) bulunmakta olup (Bräunlich ve diğ., 2013; Oszmiański & Wojdyło, 2005) bu veriler, tez çalışmasında aronya posasında elde ettiğimiz sonuçlarla uyumludur.

Aronya posası toz ekstraktında 520 nm'deki toplam pik alanından yararlanılarak toplam antosiyanin miktarı 1.96 ± 0.15 mg/g cys-3-*o*-glu eşdeğeri (Şekil 4.6), hidrolizatta ise 2.46 ± 0.20 mg/g cys-3-*o*-glu eşdeğeri toplam antosiyanin içeriği bulunmuştur (Şekil 4.7). Bu değerler, pH-diferansiyel yöntemi ile bulunan değere (2.56 ± 0.12 mg/g cys-3-*o*-glu) oldukça yakın bulunmuştur. Enkapsülasyon veriminin belirlenmesinde, toplam antosiyanin içeriği 0.57 ± 0.08 mg/g cys-3-*o*-glu eşdeğeri, yüzey antosiyaninlerin 0.27 ± 0.04 mg/g cys-3-*o*-glu eşdeğeri içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8). Bu kromatografik verilere göre %52 enkapsülasyon verimi tespit edilmiştir.

Aronya posasındaki antosiyaninler değişen asidik/alkali koşullarda moleküler yapılarını değiştirip farklı renkler sunabilmektedirler. Şekil 4.9'de gösterildiği gibi, APTE çözeltilerinde farklı pH ortamında renk değişimi meydana gelmiştir. pH 2 ila 3'te kırmızı-pembe, pH 4 ila 6'da pembe-mor, pH 7 ila 9'da mor-gri, pH 10 gri-yeşil ve pH 12'de sarı-yeşil gözlenmiştir. Bu renk değişiklikleri, antosiyaninlerin çözeltilerinde farklı pH'larda kırmızı flavilyum yapılarından mor-mavi kinoidal formlara dönüşmesinden kaynaklanmaktadır. APTE'nin renk değişimi UV-

vis spektroskopisi ile de ortaya konulmuştur. Şekil 4.9'de sunulduğu gibi, APTE çözeltisinin pH'ı 2'den 12'ye yükseldiğinde, maksimum UV-vis absorpsiyon dalgaboyu, renk değişimiyle uyumlu şekilde önemli derecede kırmızıya kaymaktadır. Benzer değişimler mikrokapsüllerin yer aldığı çözeltilerde de gözlenmiştir (Şekil 4.10). 3'ün altındaki pH değerlerinde maksimum UV-vis absorpsiyon dalgaboyu 527 nm civarında iken, pH değeri 10'a yükseltildiğinde maksimum UV-vis absorpsiyon dalgaboyu yaklaşık 593 nm'ye kaymıştır.

5.5. Aronya posası ekstraktı ve mikrokapsüllerin stabilitesi

Mikrokapsüllerin ve aronya posası toz ekstraktların artan sıcaklık ve süreye bağlı stabilitesini izlemek için 0, 7, 14, 21 ve 28. gün boyunca TAİ değerleri mg/kg cys-3-o-glukozid eşdeğeri cinsinden izlendi (Şekil 4.11.). Mikrokapsüllerin antosiyanin içeriklerini 21 gün boyunca koruduğu, sıcaklık artışına bağlı olarak da TAİ değerlerindeki azalmanın oldukça az olduğu gözlenmiştir. (Şekil 4.12.) Bu sonuçlar, mikroenkapsülasyon işleminin zamana ve sıcaklık artışına bağlı olarak antosiyanin stabilitesini belirgin şekilde koruduğunu göstermektedir.

5.6. CMC:PVA aktif/akıllı filmlerin fizikokimyasal özellikleri

Petrokimyasallara dayanan geleneksel gıda ambalaj malzemelerinin kullanımı, biyolojik olarak parçalanamamaları ve paketlenmiş gıdalara zararlı kimyasallar salma eğilimleri nedeniyle artık önerilmemektedir. Karboksimetil selüloz (CMC), doğal bir polimer ve selülozun suda çözünür bir türevidir. CMC, mükemmel film oluşturma yeteneği, yüksek şişme yeteneği, biyoyoumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği, hidrofilikliği, maliyet etkinliği ve kararlı iç ağ yapısı özellikleri nedeniyle ilaç, kozmetik ve gıda endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. CMC'nin hidrofilik grupları (CH_2COO^-), hidrojen bağıncı güçlendirir ve omurgasını oluşturan selülozun glikopiranoz zincirinin hidroksil gruplarına bağlanır. Bir polianyonik polimer olarak CMC biyo-yapışkan özelliklere de sahiptir. CMC'nin zayıf yönleri arasında zayıf mekanik mukavemeti, stabilitesi ve bariyer özellikleri yer almaktadır (Wang ve diğ. 2018). Farklı özellik ve yapılaraya sahip suda çözünür polimerlerle birlikte kullanımı, dezavantajların üstesinden gelmek için umut verici bir çözümdür (Bahrami ve diğ. 2021). Polivinil alkol (PVA), omurgası ağırlıklı olarak karbon zincirlerinden oluşan ve dolayısıyla tamamen biyolojik olarak parçalanabilen yarı kristalli sentetik polimerlerden biridir. Zikzak yapıya sahip, toksik olmayan bir polimerdir. Çeşitli çalışmalar onun iyi kimyasal ve mekanik stabilitesini, şeffaflığını, geniş bir sıcaklık aralığında termal stabilitesini, işlenebilirliğini ve

film oluşturma özelliklerini göstermiştir (Muppalla ve diğ. (2014); Zhang ve diğ. (2019); Yao ve diğ. (2022)). Hem CMC hem de PVA biyolojik olarak parçalanabilir ve biyolojik olarak uyumludur. CMC'nin PVA ile karıştırılmasından sonra, hidroksil grupları arasındaki güçlü hidrojen bağı, mekanik özelliklerde dikkate değer bir iyileşme ile sonuçlanmaktadır. Bununla beraber, plastikleştirici olarak ilave edilen gliserol, membran oluşturan malzemelerle hidrojen bağları oluşturarak PVA ve selüloz moleküler zinciri arasındaki bağı güçlendirmektedir.

Elde edilen biyobozunur polimer filmlerin görselleri Şekil 4.13'de yer almaktadır. Film çözeltilerinin pH'a bağlı değişimleri pH 2-12 aralığında incelenmiş ve UV-Vis spektrumları elde edilmiştir (Şekil 4.14). Farklı pH ortamında iyonik yapıdaki değişiklikler antosiyaninlerin farklı yapı ve renkler sergilemesine neden olmaktadır. APTE antosiyaninlerinin farklı pH değerlerinde CMC:PVA biyofilm çözeltisindeki UV-vis absorpsiyon spektrumları incelendiğinde, PH <3 olduğunda, aronya posası antosiyaninlerinin maksimum UV-vis absorpsiyon dalgaboyu 521 nm iken ve pH>8'e yükseldiğinde, maksimum absorpsiyon absorpsiyon 595 nm olmuştur. Film çözeltisinin pH'ı arttıkça, absorpsiyon maksimumu kırmızı kaymıştır.

Film kalınlığı, filmin mekanik mukavemetini, su buharı iletim hızını, ışık geçirgenliğini ve opaklığını doğrudan etkileyen önemli bir parametredir. Tablo 4.3'de gösterildiği gibi APTE miktarının artmasıyla filmin kalınlığı 0,150'tan 0,200 mm'ye önemli ölçüde arttı ($P < 0,05$). Eklenen APTE numunesi, film oluşturucu sıvının kuru madde içeriğini arttırmış olabilir ve bu da sonuçta filmin kalınlığında bir artışa yol açmış olabilir (Zhang ve diğ., 2020). Ek olarak, düşük bir APTE içeriği, film oluşturucu sıvı içinde iyi bir şekilde dağıtılabilirken, daha yüksek bir APTE içeriği, daha karmaşık bir matris üretebilir ve bu da film kalınlığında bir artışa neden olabilir (Yong ve diğ., 2019). Wang ve diğ. (2022) roselle antosiyaninlerin biyopolimer filme eklenmesiyle düşük de olsa bir artış olduğunu belirtmiştir.

Bir malzeme aracılığıyla su moleküllerinin geçirgenliğinin kesin olarak belirlenmesi, filmlerin karakterizasyonu ve bunların paketleme malzemesi ve farklı su buharı basıncına sahip bölgeler için bariyer olarak kullanılabilirliğinin belirlenmesi açısından önemlidir. CMC-PVA filmlerde APTE içeriği arttıkça kontrol filme nazaran su buharı geçirgenliğinin kısmen arttığı gözlenmiştir. CMC-PVA filmlerinin su buharı bariyer kapasitesi göstermesi, CMC'deki karboksil grubunun PVA'daki hidrofilik hidroksil grubu ile birleşerek yoğun bir ağ yapısı oluşturmasındandır. Bununla birlikte, plastikleştiricinin eklenmesi, polimer zincirleri

arasındaki zincirler arası boşluğu artırarak polimerik yapı boyunca su buharı difüzyonunu artırarak su buharı iletimini hızlandırmaktadır. APTE içeren filmde, fenolik bileşiklerin, moleküller arası hidrojen bağları yoluyla CMC ve PVA polimer zincirleri arasında bir köprü görevi görerek daha sıkı bir ağ yapısı oluşturması nedeniyle WVP değerinde artış gözlenmiştir.

Suda çözünürlük filmlerin nem stabilitelerini değerlendirmek için yapılmıştır. Tablo 4.3’de verilen yüzde suda çözünürlük sonuçlarına bakıldığında, hem serbest antosiyaninlerin hem de inklüzyon kompleksinin eklenmesinin, filmin suda çözünürlüğünü arttırdığı gözlenmiştir (%81.96 → %94.10). Liu ve diğ. (2022) mısır nişastası-PVA biyobozunur filmlere antosiyanin ilavesinde suda çözünürlüğü arttığını tespit etmişlerdir. Antosiyaninlerin güçlü hidrofilik gruplara sahip olması bunun sebebidir. Gliserol, membran oluşturan malzemelerle hidrojen bağları oluşturarak PVA ve metil karboksi selüloz moleküler bağlanmayı güçlendirir. Antosiyaninlerin, PVA ve CMC molekülleri arasındaki etkileşimi arttırdığı ve böylece filmin çözünürlüğünü arttırdığı söylenebilir.

Bununla birlikte, nem içeriği aronya posası arttıkça %11.49’dan 9.44’e gerilemiştir. Benzer şekilde, kontrol filme göre nem içeriğinde azalma gözlenmiştir (Tablo 4.3). Bunun nedeni, aronya fenolik bileşenlerin CMC-PVA’nın hidrofilik hidroksil gruplarıyla etkileşime girerek hidrojen bağları oluşturması ve CMC-PVA’daki su ve hidrofilik hidroksil grupları arasındaki etkileşimin yerini almasıdır. Bunu yanısıra, siklodekstrin inklüzyon kompleksi içeren filmin nem içeriği (%8.90) aynı aronya içeriğine sahip CMCPVA/APTE90mg filmine (%9.55) nazaran daha düşük bulunmuştur. Kuzmanović ve diğ. (2023), aronya mikoenkapsülasyonu işleminde HP-β-CD'nin eklenmesinin daha düşük bir nem içeriğine katkıda bulunduğunu belirtmiştir.

Özellikle ışığa duyarlı gıdalarda ambalajlamada UV ışık direncinin kesinlikle dikkate alınması gerekir. Her ne kadar PVA/CMC karışımı ambalaj malzemesi olarak yaygın şekilde uygulansa da, zayıf UV direncinin iyileştirilmesi gerekmektedir. Tez çalışmasında, CMC:PVA-APTE filminin yüksek UV-bariyer özelliğine sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.15). Diğer benzer çalışmalarda da, kromoforun eklenmesinin filmlerin şeffaflığını ve ışık geçirgenliğini azaltabileceği gösterilmiştir (Alizadeh-Sani ve diğ.2020). Antosiyaninlerdeki C-C ve C-O gibi çok sayıda kromofil nedeniyle aronya posasındaki fenolik bileşiklerin filmlerin UV-görünür ışık geçirgenliğini etkili bir şekilde azaltabildiği söylenmiştir (Qin ve diğ. 2020). Bu nedenle CMC:PVA/APTE filmlerinin, gıdayı UV-görünür ışığın neden olduğu bozulma ve

oksidasyondan korumak için potansiyel uygulamalara sahip olduğu söylenebilmektedir. CMC:PVA filmi, 200-800 nm aralığında iyi ışık geçirgenliğine sahiptir, film içeriğindeki APTE yüzdesi arttıkça ışık geçirgenliğinde önemli ölçüde düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.16).

5.6.1. FTIR spektrumu

Sentezlenen polimerik filmlerin yapısındaki fonksiyonel grupları ve kimyasal bileşimini ortaya koymak amacıyla 600-4000 cm^{-1} dalgasayısı aralığında FTIR spektrumları Şekil 4.17’de gösterilmiştir. PVA, moleküler zincirde, CMC'deki karboksil gruplarıyla reaksiyona girerek moleküller arası hidrojen bağları oluşturabilen çok sayıda hidroksil grubuna sahiptir. 3000-3500 cm^{-1} arasında geniş band CMC ve PVA için O-H gerilmesini temsil etmektedir. Sodyum karboksil metil selüloza ait 2929 cm^{-1} ve 2889 cm^{-1} civarında CH gerilmesi metilen gruplarının, yaklaşık 1619 cm^{-1} ’de karboksilat anyonunun (COO^-) varlığını göstermektedir. 1416 ve 1325 cm^{-1} civarındaki bantlar sırasıyla CH_2 makaslama ve -OH bükülme titreşimi olarak atanmıştır. 1323 ve 1240 cm^{-1} ’de CH titreşim bantları CMC/PVA filmlerinde 1319 ve 1247 cm^{-1} ’de gözlenmiştir. C-C gerilme bandı 837 cm^{-1} de yer almakta olup, PVA/CMC’de 850 cm^{-1} ’e kaymıştır. 1420 cm^{-1} PVA’ya ait CH- CH_2 bükülmesi, 1085 cm^{-1} ’de PVA ve PVA-CMC’ye ait C=O bandı görülmektedir. Antosiyanin içeriğine bağlı olarak geniş O-H gerilme bandında sola kayma (3298’den 3288’e) gözlenmiştir. Bu durum, film materyali ile etkileşime giren antosiyaninlerin hidrojen bağları oluşturduğunu ve hidrojen bağlarının sayısında artış olduğunu göstermektedir. Kontrol filmlerle aronya posası katkılı örnek filmlerin FTIR spektrumları birbiriyle kıyaslandığında antosiyanin ekstraktının eklenmesiyle çok küçük değişimlerin izlendiği görülmüştür. Ayrıca 1150 cm^{-1} civarında gözlenen antosiyaninlerin C-O-C bağı, PVA/CMC filmlerinde karboksilat ile elektrostatik etkileşim gösterdiğinden dolayı kaybolmuştur.

5.6.2. Termal özellikleri

Kompozit filmlerin termal davranışları birbirine benzer özelliğe sahip olmakla birlikte, kütle kayıpları 3 aşamada gerçekleşmiştir (Şekil 4.18). 1. Aşamada, 50-130 $^{\circ}\text{C}$ aralığında fiziksel bağlı su moleküllerinin CMC filminden ayrılması ve hidrojen bağlarının kırılmasına bağlı %8 ile %12 arasında kayıp görülmüştür. 150-300 $^{\circ}\text{C}$ aralığında CMC’nin yapısındaki karboksilat grubunun degradasyonu, yapıdaki gliserol ve antosiyanin moleküllerinin dekompozisyonu neticesinde yaklaşık %50’in üzerinde kütle kaybı meydana gelmiştir. 320-450 $^{\circ}\text{C}$ arasında ise PVA moleküllerinin bozunması sonucu film ağırlığında %30 oranında azalma gözlenmiştir. Kompozit filmlere eklenen anyonik polisakkarit olan CMC ile katyonik antosiyanin

moleküllerinin etkileşiminden kaynaklı olduğu düşünülen mikroenkapsüle antosiyaninler içeren filmlerde stabilitede bir miktar artış ve dolayısıyla kütle kaybına direnç (%40 civarında kütle kaybı) meydana gelmiştir.

DSC eğrilerine bakıldığında, CMC:PVA kontrol filmlerin 85- 90°C’de dehidratasyona uğradığı görülmektedir. Saf CMC’nin Tg eğrilerinde 70°C’de hidratasyona uğradığı, film oluşumu ile sıcaklığı kaydığı görülmüştür. Antosiyaninler 140 °C’den sonra degradasyona uğramakta olup, aronya posası içeren filmlerin DSC eğrilerinde bu sıcaklıklarda kütle değişimleri izlenmiştir. Mikrokapsüllü filmlerde ise bu degradasyona ait bir değişim grafikte gözlenmemiştir (Şekil. 4.19).

5.6.3. SEM görüntüleme

Aronya posasının ve beta-siklodekstrin ile elde edilen mikrokapsüllerin CMC:PVA biyokompozit filmlerin içeriğine eklenmesiyle meydana gelen morfolojik değişimler taramalı elektron mikroskopu ile görüntülenmiştir (Şekil 4.20). CMC:PVA kontrol filmlerin yüzeyi pürüzsüz ve homojen olup, polimerlerin homojen şekilde karıştığı ve kimyasal olarak bağlandığından söz edilebilir. SEM görüntülerinde, aronya posası ekstraktının belirli miktarda katılmasına bağlı olarak katkılı film (CMC:PVA-APTE60/90/120) yüzeylerinde belirli bölgelerde posa içeriğindeki antosiyanin ve diğer biyoaktif bileşenler tespit edilmiştir. Genel anlamda, tüm filmler homojen ve düz bir yüzeye sahip olmakla birlikte, inklüzyon kompleksleşmesi ile kapsül formundaki antosiyaninlerin CMC:PVA-MAPTE filminde 0.6 ila 1.2 mikron boyutunda küresel şekilde oluştuğu da SEM görüntüleri ile kanıtlanmıştır.

5.7. CMC:PVA aktif/akıllı biyofilmlerin antioksidan özellikleri

Tablo 4. 4.’de gösterildiği gibi, APTE ilavesi, filmlerin DPPH radikal süpürme aktivitesini (%30.3 → %55.7) arttırmıştır. Aynı zamanda, CUPRAC yöntemiyle elde edilen sonuçlara bakıldığında, APTE içeriğinin artmasıyla toplam antioksidan kapasite 0.89 mg/g’dan 1.68 mg/g troloks eşdeğeri kapasiteye artış göstermiştir. Inklüzyon kompleksinin bulunduğu filme ait kapasite 1.33 mg/g troloks eşd. ölçülmüştür. Serbest antosiyanin içeren CMC:PVa/90mgAPTE filmine yakın ancak yüksek antioksidan kapasite göstermiştir. Bununla birlikte, DPPH radikal süpürme etkinliği inklüzyon kompleksinde %42, aynı miktarda APTE içeren inklüzyon kompleksleşme olmayan film örneğinde %40 bulunmuştur. Bu durumun iki nedeni olabilir: (1) radikal türlerin β-CD boşluğunda etkili bir şekilde stabilizasyonu (Jullian ve diğerleri, 2008) ve

(2) β -CD ikincil hidroksil grupları ile misafir molekülün aromatik halkasındaki OH grupları arasında bir hidrojen bağının oluşması (Stražišar ve diğ. 2008; Shao ve diğ., 2014). Toplam antosiyanin içeriği 60 mg'dan 120 mg'a doğru antosiyanin içeriği 79.9'dan 155.8 mg/kg cyc-3o-glu eşdeğerine artarken, inklüzyon kompleksi ihtiva eden filmde toplam antosiyanin içeriği 118 mg/kg cyc-3o-glu eşd. olarak ölçülmüştür.

5.8. CMC:PVA aktif/akıllı biyofilmlerin mekanik özellikleri

Kontrol filme (7.96 MPa) kıyasla CMC:PVA/APTE60 (9.14 MPa) ve CMC:PVA/APTE90 (8.28 MPa) filmlerin çekme dirençlerinin arttığı görülmüştür ve kopmada uzama yüzdelerinin (%15 \rightarrow %21.57) arttığı gözlenmiştir (Tablo 4.5.) Aynı zamanda çekme modülünde bir artış (122 MPa \rightarrow 195 MPa) gözlenmesi filmlerde elastikiyetin arttığını göstermiştir. Aronya antosiyaninleri varlığında CMC/PVA biyofilmlerin çekme dirençleri antosiyanin miktarı arttıkça azalmıştır, kopmada uzama yüzdeleri artmıştır. Kopmada uzama yüzdelerindeki artış, antosiyaninlerin film oluşturucu matriksin bitişik zincirleri arasındaki etkileşimleri zayıflatmasına bağlanabilir. Ancak antosiyanin içeriği arttıkça, 120 mg içeren filmin çekme direnci (6.93 MPa) diğerlerine nazaran daha düşük gözlenmiştir. Antosiyanin miktarındaki artış filmin retiküler yapısını tahrip etmiş ve sonuçta gerilme mukavemetinde hafif bir düşüşe neden olmuştur. Mikrokapsül içeren film örneğinin kopmada uzama yüzdesindeki kısmi artışın (%19.47) film matrisi içindeki CMC ile asidik pH'da flavilyum katyonları arasındaki moleküller arası güçlü etkileşimlere bağlanmaktadır.

5.9. CMC:PVA aktif/akıllı biyofilmlerin antimikrobiyal özellikleri

Disk difüzyon testi uygulanarak gram negative *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ve gram pozitif *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) bakterileri üzerinden biyofilmlerin antibakteriyel özellikleri incelenmiş ve sonuçlar Tablo 4.5'de gösterilmiştir. Buna göre gram negative *P. aeruginosa* bakterisi için antibakteriyel etki CMC:PVA kontrol ve APTE katkılı örneklerde farklı derecelerde gözlenmiştir. Zon çaplarına göre sıralamalar CMC:PVA/APTE120mg > CMC:PVA/APTE90mg > CMC:PVA/APTE60mg > CMC:PVA/APTEBCD(1:1) > CMC:PVA kontrol şeklindedir. Zon sonuçlarına göre CMC:PVA/APTE filmleri kontrol filme göre daha fazla zon oluşturduklarından gram negatif *P. aeruginosa* bakterisi için antibakteriyel etki göstermektedirler. Antibakteriyel etki aynı zamanda gram pozitif *S. aureus* bakterisi içinde gerçekleştirilmiştir. Ancak

CMC:PVA/APTE120mg filmi dışındaki örnek ve kontrollerde zon oluşumu gözlenmemiştir. Buna göre kontrolden daha fazla zon oluşumu gösterdiği için CMC:PVA/APTE120mg filmi *S. aureus* bakterisi için antibakteriyel etki göstermektedir. Her iki bakteri üzerinden incelendiğinde CMC:PVA/APTE120mg filmi hem gram pozitif hem de gram negatif türler için antibakteriyel etki gösterdiği görülmektedir.

5.10. CMC:PVA aktif/akıllı biyofilmlerin kolorimetrik analizi

CMC:PVA/APTE filmlerin aronya posası içeriğine bağlı olarak renk analizleri gerçekleştirilmiştir. Her bir film örneğine ait L^* , a^* ve b^* değerleri kaydedilerek Denklem 3.9'da verilen hesap yöntemine göre toplam kromatik kayma belirlenmiştir. Tablo 4.6'da sonuçlar gösterilmiştir. APTE içeriğinin artmasıyla kontrol numuneye göre belirgin bir kayma gerçekleşmiştir (Şekil 4.21).

CMC:PVA/APTE filmlerin gıda kalitesinin belirlenmesinde kullanılması için öncelikle amonyak buharına 60 dakika boyunca tutularak filmlerde renk değişimleri aralıklı olarak test edilmiştir. Bu kapsamda Şekil 4.22'de görüldüğü gibi 10. dakikada belirgin bir renk değişiminin oluşması ve zamanla ΔE değerlerindeki artışın, üretilen APTE katkılı biyofilmlerin gıda tazeliğinin belirlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir.

5.11. CMC:PVA aktif/akıllı biyofilmlerin gıda kalitesinin belirlenmesinde kullanımı

CMC:PVA/APTE filmleri mükemmel fiziksel özellikler ve hassas pH gösterge fonksiyonu göstermiştir. Bu nedenle, depolama sırasında balık etinin tazeliğini gerçek zamanlı olarak izlemek için uygulama işlemi yapılmıştır (Şekil 3.5.). Et bileşenlerindeki proteinler bakteri veya küflere karşı oldukça hassastır ve kısa süreli saklama sırasında kokuşur ve bozulma sırasında mikroorganizmaların metabolizması, amonyak ve aminler gibi çeşitli uçucu gazlar üretir (Vareltzis ve diğ., 1997). Akıllı ambalajın üzerinde bir gösterge etiketi olarak pH indikatör filmi, taze balık etinden uçucu amonyak salınımını belirtmek amacıyla numuneye dokunmadan cihazın üst kısmına yapıştırılmıştır. Tablo xxx'de gösterildiği gibi, CMC:PVA/APTE90 filminin kolorimetrik tepkisi zamanla oda sıcaklığında (25 °C) ve düşük sıcaklıkta (4 °C) gözlemlenmiştir. İlk gün 6h ve 24h farklı sıcaklıklarda (morumsu-kırmızı) filmin renginde gözle önemli bir değişiklik görülmemesine rağmen ΔE değerlerinde değişim izlenmiştir. 48 h ve sonrasında 25 °C'de saklanan filmin rengi grimsi mor renktedir. 4 °C'de saklanan örneklerin

film rengi hala pembe-mor olup, bu da düşük sıcaklığın etin bozulmasını geciktirdiğini göstermektedir. Film, balık etinin iki sıcaklık koşulunda (4 °C ve 25 °C) günler arası izlenmesinin ardından renk değiştirmesi etin bozulduğunu göstermektedir. CMC:PVA/APTE60, CMC:PVA/APTE90 ve CMC:PVA/MAPTE filmlerin depolama sırasında çıplak gözle ayırt edilebilecek şekilde taze, ve bozulmuş balık etini temsil eden farklı renkler göstermesi, sentezlenen APTE katkılı CMC:PVA filmlerin, bozulmanın izlenmesi için kararlı bir pH indikatörü olarak kullanılabileceğini göstermiştir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, karboksi metil selüloz- polivinil alkol film matrisine antosiyanin açısından zengin meyve suyu işletmesi endüstriyel atık ürünü olan aronya posası ekstraktının eklenmesi sonucu aktif ambalaj filmleri başarıyla üretildi. Aktif filmlerin antosiyaninlerin pH'a duyarlı olarak renk değişimine sebep olması CMC-PVA ortamında aronya posası bileşenlerinin akıllı film olarak da kullanılmasına fırsat vermektedir. Aronya ekstraktının eklenmesi, hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler yoluyla film matrisi ile etkileşime girmekte, bu da filmlerde daha kompakt bir iç mikro yapıya neden olmaktadır. Üretilen CMC-PVA filmlerin mekanik ve su buharı bariyer özellikleri ekstraktın eklenmesiyle önemli ölçüde iyileştirilmiştir. Polifenolik içerik nedeniyle ekstrakt aynı zamanda aktif/akıllı filmlerin ışık bariyerini ve antioksidan özelliklerini de arttırmıştır. Özellikle filmlerin mikroyapısı, fiziksel, mekanik, bariyer ve antioksidan özelliklerinin ekstrakt içeriği ile yakından ilişkili olduğu görülmüştür. Antosiyanince zengin aronya posası ekstraktının polifenol içeriği kromatografik yolla belirlenmiştir. Antosiyaninlerin ışığa ve sıcaklığa olan duyarlılığını düşürmek ve stabilitesini arttırmak amacıyla β -siklodekstrin ile mikroenkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Mikrokapsüllerin serbest bileşenlere oranla yüksek stabilite gösterdiği oda sıcaklığında 28 gün boyunca izlenmiştir. Benzer şekilde sıcaklığa bağlı (25°C, 40°C, 65°C) toplam antosiyanin içeriklerinin izlendiği stabilite testlerinde de mikrokapsüllerin dayanıklılığı yüksek çıkmıştır. Bununla beraber, mikrokapsüllerin oluşumu termogravimetrik analiz, hem infrared spektroskopisiyle hem de taramalı elektron mikroskopisi yardımıyla kanıtlanmıştır. Aronya posası ve mikroenkapsüle aronya katkılı CMC-PVA filmlerin farklı pH ortamında (pH2-12) ve uçucu amonyaga karşı verdiği renk tepkisi yüksek duyarlılıkta gözlenmiştir. Proteince zengin gıdalardan balık etinin depolanması sırasında CMC-PVA-APTE filmlerin gıda tazeliğinin izlenmesinde etkili performans gösterdikleri görülmüştür. Gelecekte, CMC-PVA-APTE ve CMC-PVA-Mikrokapsül APTE filmlerin gıda ürünlerinin raf ömrünü izlemek amacıyla aktif ambalajlama olarak da kullanılabilceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abdullah, Cai, J., Hafeez, M. A., Wang, Q., Farooq, S., Huang, Q., ... & Xiao, J., 2022, Biopolymer-based functional films for packaging applications: A review, *Frontiers in Nutrition*, 9, 1000116.

Ahmad, M., Ashraf, B., Gani, A., & Gani, A., 2018, Microencapsulation of saffron anthocyanins using β glucan and β cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behaviour & antioxidant potential during in-vitro digestion, *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 435-442.

Alizadeh-Sani, M., Mohammadian, E., & McClements, D. J., 2020, Eco-friendly active packaging consisting of nanostructured biopolymer matrix reinforced with TiO₂ and essential oil: Application for preservation of refrigerated meat, *Food Chemistry*, 322, 126782.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.

Bahrami, A., & Fattahi, R., 2021, Biodegradable carboxymethyl cellulose–polyvinyl alcohol composite incorporated with Glycyrrhiza Glabra L. essential oil: Physicochemical and antibacterial features, *Food Science & Nutrition*, 9(9), 4974-4985.

Benbettaïeb, N., Tanner, C., Cayot, P., Karbowski, T., Debeaufort, F., 2018, Impact of functional properties and release kinetics on antioxidant activity of biopolymer active films and coatings, *Food Chemistry*, 242, 369-377.

Bräunlich, M., Slimestad, R., Wangensteen, H., Brede, C., Malterud, K. E., & Barsett, H., 2013, Extracts, anthocyanins and procyanidins from *Aronia melanocarpa* as radical scavengers and enzyme inhibitors, *Nutrients*, 5(3), 663-678.

Catalkaya, G., Guldiken, B., & Capanoglu, E., 2022, Encapsulation of anthocyanin-rich extract from black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace by spray drying using different coating materials, *Food & Function*, 13(22), 11579-11591.

Çelik, S. E., Özyürek, M., Güçlü, K., & Apak, R., 2015, Antioxidant capacity of quercetin and its glycosides in the presence of β -cyclodextrins: influence of glycosylation on inclusion complexation, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 83, 309-319.

Çelik, S. E., Özyürek, M., Tufan, A. N., Güçlü, K., & Apak, R., 2011, Spectroscopic study and antioxidant properties of the inclusion complexes of rosmarinic acid with natural and derivative cyclodextrins, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78(5), 1615-1624.

Da Silva Crozatti, T. T., Mangolim, C. S., Larentis, P. V., De Mello, J. C. P., & Matioli, G., 2023, Extraction, microencapsulation, and application of anthocyanins from juçara palm fruit (*Euterpe edulis* Mart.): enhancement of natural pigment, *Journal of Food Science and Technology*, 60(1), 361-371.

Desai, K. G. H., Jin Park H., 2005, Recent developments in microencapsulation of food ingredients, *Drying Technology*, 23, 1361-1394.

Fernandes, A., Rocha, M. A., Santos, L. M., Brás, J., Oliveira, J., Mateus, N., & de Freitas, V., 2018, Blackberry anthocyanins: β -Cyclodextrin fortification for thermal and gastrointestinal stabilization, *Food Chemistry*, 245, 426-431.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R., 2007, Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview, *Food Research International*, 40(9), 1107-1121.

Gouin, S., 2004, Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends, *Trends in Food Science & Technology*, 15(7-8), 330-347.

Gökmen, S., Palamutoğlu, R., & Sariçoban, C., 2012, Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1), 36-50.

- Isik, B. S., Altay, F., & Capanoglu, E., 2018, The uniaxial and coaxial encapsulations of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) concentrate by electrospinning and their in vitro bioaccessibility, *Food Chemistry*, 265, 260-273.
- Jakobek, L., Šeruga, M., Medvidović-Kosanović, M., Novak, I., 2007, Antioxidant Activity and Polyphenols of Aronia in Comparison to other Berry Species, *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 72(4), 301-306.
- Jideani, V. A., & Vogt, K., 2016, Antimicrobial packaging for extending the shelf life of bread- A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(8), 1313-1324.
- Jullian, C., Orosteguis, T., Pérez-Cruz, F., Sánchez, P., Mendizabal, F., & Olea-Azar, C., 2008, Complexation of morin with three kinds of cyclodextrin: A thermodynamic and reactivity study, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 71(1), 269-275.
- Kechichian, V., Ditchfield, C., Veiga-Santos, P., Tadini, C. C., 2010, Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch, *LWT-Food Science and Technology*, 43(7), 1088-1094.
- Kulling, S. E., & Rawel, H. M., 2008, Chokeberry (*Aronia melanocarpa*)—A review on the characteristic components and potential health effects, *Planta Medica*, 74(13), 1625-1634.
- Kuswandi, B., Restyana, A., Abdullah, A., Heng, L.Y., Ahmad, M., 2012, A novel colorimetric food package label for fish spoilage based on polyaniline film, *Food Control*, 25(1), 184–189.
- Kuzmanović Nedeljković, S., Radan, M., Čujić Nikolić, N., Mutavski, Z., Krgović, N., Marković, S., ... & Šavikin, K., 2023, Microencapsulated Bilberry and Chokeberry Leaf Extracts with Potential Health Benefits, *Plants*, 12(23), 3979.
- Laokuldilok, T., & Kanha, N., 2015, Effects of processing conditions on powder properties of black glutinous rice (*Oryza sativa* L.) bran anthocyanins produced by spray drying and freeze drying, *LWT-Food Science and Technology*, 64(1), 405-411.
- Lee, K. H., Kim, S., Lee, J., Son, H., Lee, J. U., Park, C., & Yoo, H. Y., 2024, Improved recovery of antioxidants from aronia juice processing residue via optimization of extraction variables based on multi-prediction models, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 39, 101546.

- Li, B., Zhao, Y., Wang, M., Guan, W., Liu, J., Zhao, H., & Brennan, C. S., 2022, Microencapsulation of roselle anthocyanins with β -cyclodextrin and proteins enhances the thermal stability of anthocyanins, *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(5), e16612.
- Ma, Q., Liang, T., Cao, L., & Wang, L., 2018, Intelligent poly (vinyl alcohol)-chitosan nanoparticles-mulberry extracts films capable of monitoring pH variations, *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 576–584.
- Mattioli, R., Francioso, A., Mosca, L., & Silva, P., 2020, Anthocyanins: A comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Molecules*, 25(17), 3809.
- Mohammadalinejad, S., & Kurek, M. A., 2021, Microencapsulation of anthocyanins - Critical review of techniques and wall materials, *Applied Sciences*, 11(9), 3936.
- Mourtzinou, I., Makris, D. P., Yannakopoulou, K., Kalogeropoulos, N., Michali, I., & Karathanos, V. T., 2008, Thermal stability of anthocyanin extract of *Hibiscus sabdariffa* L. in the presence of β -cyclodextrin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10303-10310.
- Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D., & Kalia, P., 2015, Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying, *Food Science and Technology International*, 21(8), 604-612.
- Oszmianski, J. A. N., & Sapis, J. C., 1988, Anthocyanins in fruits of *Aronia melanocarpa* (chokeberry), *Journal of Food Science*, 53(4), 1241-1242.
- Oszmiański, J., & Wojdyło, A., 2005, *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity, *European Food Research and Technology*, 221(6), 809-813.
- Pinho, E., Grootveld, M., Soares, G., & Henriques, M., 2014, Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds, *Carbohydrate Polymers*, 101, 121-135.
- Pradhan, P. C., Mandal, A., Dutta, A., Sarkar, R., Kundu, A., & Saha, S., 2022, Delineating the behavior of *Berberis* anthocyanin/ β -cyclodextrin inclusion complex in vitro: A molecular dynamics approach, *LWT*, 157, 113090.

Priya, B., Gupta, V.K., Pathania, D., Singha, A. S., 2014, Synthesis, characterization and antibacterial activity of biodegradable starch/PVA composite films reinforced with cellulosic fibre, *Carbohydrate Polymers*, 109, 171-179.

Qin, Y., Liu, Y., Zhang, X., & Liu, J., 2020, Development of active and intelligent packaging by incorporating betalains from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel into starch/polyvinyl alcohol films, *Food Hydrocolloids*, 100, 105410.

Ramić, M., Vidović, S., Zeković, Z., Vladić, J., Cvejin, A., & Pavlić, B., 2015, Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Aronia melanocarpa* by-products from filter-tea factory, *Ultrasonics Sonochemistry*, 23, 360-368.

Reller, L. B., Weinstein, M., Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J., 2009, Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices, *Clinical Infectious Diseases*, 49(11), 1749-1755.

Rezvankhah, A., Emam-Djomeh, Z., Askari, G., 2020, Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review, *Drying Technology*, 38(1-2), 235-258.

Robert, P., & Fredes, C., 2015, The encapsulation of anthocyanins from berry-type fruits. Trends in foods, *Molecules*, 20(4), 5875-5888.

Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura-Calixto, F., 1998, A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270-276.

Santos-Buelga, C., González-Paramás, A. M., Oludemi, T., Ayuda-Durán, B., & González-Manzano, S., 2019. Plant phenolics as functional food ingredients. *Advances in food and nutrition research*, 90, 183-257.

Singh, R., Sharma, R., Shaqib, M., Sarkar, A., & Chauhan, K. D., 2021, Biodegradable polymers as packaging materials. In *Biopolymers and Their Industrial Applications* (pp. 245-259). Elsevier.

- Shao, P., Zhang, J., Fang, Z., & Sun, P., 2014, Complexing of chlorogenic acid with β -cyclodextrins: Inclusion effects, antioxidative properties and potential application in grape juice, *Food Hydrocolloids*, 41, 132-139.
- Shen, Y., Zhang, N., Tian, J., Xin, G., Liu, L., Sun, X., & Li, B., 2022, Advanced approaches for improving bioavailability and controlled release of anthocyanins. *Journal of Controlled Release*, 341, 285-299.
- Slimestad, R., Torskangerpoll, K., Nateland, H. S., Johannessen, T., & Giske, N. H., 2005, Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*, *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(1), 61-68.
- Stražičar, M., Andrenšek, S., & Šmidovnik, A., 2008, Effect of β -cyclodextrin on antioxidant activity of coumaric acids, *Food Chemistry*, 110(3), 636-642.
- Sun, L., Sun, J., Chen, L., Niu, P., Yang, X., & Guo, Y., 2017, Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material, *Carbohydrate Polymers*, 163, 81-91.
- Tirtashi, F. E., Moradi, M., Tajik, H., Forough, M., Ezati, P., & Kuswandi, B., 2019, Cellulose/chitosan pH-responsive indicator incorporated with carrot anthocyanins for intelligent food packaging, *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 920-926.
- Vareltzis, K., Koufidis, D., Gavriilidou, E., Papavergou, E., & Vasiliadou, S., 1997, Effectiveness of a natural rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage, *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 205, 93-96.
- Verma, M. L., Dhanya, B. S., Rani, V., Thakur, M., Jeslin, J., & Kushwaha, R., 2020, Carbohydrate and protein based biopolymeric nanoparticles: current status and biotechnological applications. *International journal of biological macromolecules*, 154, 390-412.
- Wang, B., Yang, X., Qiao, C., Li, Y., Li, T., & Xu, C., 2018, Effects of chitosan quaternary ammonium salt on the physicochemical properties of sodium carboxymethyl cellulose-based films, *Carbohydrate Polymers*, 184, 37-46.

Wang, C., Cao, J., Liu, T., Jin, L., Hang, C., Zhang, C., ... & Jiang, C., 2023, Preparation and characterization of antioxidant and pH-sensitive films based on arrowhead (*Sagittaria sagittifolia*) starch, κ -carrageenan and black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extract for monitoring spoilage of chicken wings, *International Journal of Biological Macromolecules*, 224, 544-555.

Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X., 2008, Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran, *Food Chemistry*, 106(2), 804-810.

Wilkowska, A., Ambroziak, W., Adamiec, J., & Czyżowska, A., 2017, Preservation of antioxidant activity and polyphenols in chokeberry juice and wine with the use of microencapsulation, *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), e12924.

Wyrwa, J., & Barska, A., 2017, Innovations in the food packaging market: Active packaging, *European Food Research and Technology*, 243, 1681-1692.

Xie, Y., Niu, X., Yang, J., Fan, R., Shi, J., Ullah, N., ... & Chen, L., 2020, Active biodegradable films based on the whole potato peel incorporated with bacterial cellulose and curcumin, *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 480-491.

Yao, X., Liu, J., Hu, H., Yun, D., & Liu, J., 2022, Development and comparison of different polysaccharide/PVA-based active/intelligent packaging films containing red pitaya betacyanins, *Food Hydrocolloids*, 124, 107305.

Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M. K., Nilsen-Nygaard, J., Ayhan, Z., Rutkaite, R., ... & Coma, V., 2018, Active packaging applications for food, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(1), 165-199.

Yong, H., Wang, X., Zhang, X., Liu, Y., Qin, Y., & Liu, J., 2019, Effects of anthocyanin-rich purple and black eggplant extracts on the physical, antioxidant and pH-sensitive properties of chitosan film, *Food Hydrocolloids*, 94, 93-104.

Zhang, J., Zou, X., Zhai, X., Huang, X., Jiang, C., & Holmes, M., 2019, Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness, *Food Chemistry*, 272, 306-312.

Zhang, K., Huang, T. S., Yan, H., Hu, X., & Ren, T., 2020, Novel pH-sensitive films based on starch/polyvinyl alcohol and food anthocyanins as a visual indicator of shrimp deterioration, *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, 768-776.

