

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİK KAZANDIRILMIŞ
NANOKOMPOZİT FİLMLEİN GELİŞTİRİLMESİ VE GIDA
UYGULAMALARI**

Ece SÖĞÜT

**Danışman
Prof. Dr. Atıf Can SEYDİM**

**DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2018**



© 2018 [Ece SÖĞÜT]

TEZ ONAYI

Ece SÖĞÜT tarafından hazırlanan " Antioksidan, Antimikrobiyal Özellik Kazandırılmış Nanokompozit Filmlerin Geliştirilmesi ve Gıda Uygulamaları" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman	Prof. Dr. Atif Can SEYDİM Süleyman Demirel Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Abbase Güleren ALSANCAK Süleyman Demirel Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Cengiz CANER Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Ali DURMUŞ İstanbul Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Yrd. Doç. Dr. Alper KUŞÇU Süleyman Demirel Üniversitesi	

Enstitü Müdürü **Prof. Dr. Yasın TUNCER**

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Ece SÖĞÜT



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
2.1. Gıda Ambalajlamada Kullanılan Biyo-bazlı Polimerler	6
2.1.1. Direkt biyokütleden elde edilen polimerler	8
2.1.1.1. Nişasta	8
2.1.1.2. Kitosan.....	9
2.1.2. Biyokütle monomerlerinden klasik kimyasal sentezle üretilenler	11
2.1.3. Doğal ya da genetik modifiye organizmalardan direkt olarak üretilen polimerler	13
2.1.4. Monomerleri petrol bazlı monomerlerden elde edilen polimerler	13
2.2. Biyo-bazlı Ambalaj Materyallerinin Özellikleri	15
2.2.1. Mekanik ve bariyer özellikleri	15
2.2.2. Aktif özellikleri.....	16
2.2.2.1. Antimikrobiyal özellik.....	17
2.2.2.2. Antioksidan özellik.....	19
2.3. Biyo-bazlı Ambalaj Materyallerinin Özelliklerinin Geliştirilmesi	21
2.3.1. Biyo-bazlı polimerlerin sentetik polimerlerle kombinasyonu	22
2.3.1.1. Siklik olefin kopolimerler	23
2.3.1.2. Polimer karışımlar	26
2.3.1.3. Çok katmanlı polimerler.....	28
2.3.2. Biyo-bazlı nanokompozit ambalaj malzemeleri	30
2.3.2.1. Biyo-bazlı nanokompozitlerin bariyer ve mekanik özellikleri	31
2.3.2.2. Aktif özellikleri	32
2.3.2.3. Biyobazlı nanokompozitlerin gıda ambalajlama uygulamaları	36
3. MATERYAL VE YÖNTEM	38
3.1. Materyal.....	40
3.2. Üzüm Çekirdeği Tozundan Fenolik Maddelerin Ekstraksiyonunun Optimize Edilmesi.....	40
3.2.1. Ekstraksiyon yöntemi	40
3.2.2. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi.....	41
3.2.3. Antioksidan aktivite.....	41
3.2.4. Fenolik bileşenlerin belirlenmesi	41
3.2.5. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi	42
3.2.6. Deneysel tasarım ve optimizasyon	43

3.3. Farklı Oranlarda Üzüm Çekirdeği İçeren Kitosan Filmlerin Özelliklerinin Belirlenmesi.....	44
3.3.1. Filmlerin hazırlanması.....	46
3.3.2. Filmlerin karakterizasyon analizleri.....	47
3.3.2.1. Taramalı elektron mikroskobu ile filmlerin yüzey özelliklerinin belirlenmesi.....	47
3.3.2.2. Su buharı geçirgenlik değerlerinin belirlenmesi.....	47
3.3.2.3. Mekanik özelliklerin belirlenmesi.....	47
3.3.2.4. Optik özelliklerin belirlenmesi.....	48
3.3.3. Filmlerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi.....	48
3.3.4. Filmlerin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi.....	49
3.3.5. Raf ömrü çalışmaları.....	50
3.3.5.1. Tavuk göğüs fileto örneklerinin hazırlanması ve ambalajlanması.....	50
3.3.5.2. pH kontrolü.....	51
3.3.5.3. Renk ölçümü.....	51
3.3.5.4. Mikrobiyolojik analizler.....	51
3.3.5.5. Oksidasyon analizleri.....	52
3.3.6. Filmlere eklenecek olan GSE oranının belirlenmesi.....	52
3.4. GSE içeren CH bazlı Nano Kompozit Filmlerin Elde Edilmesi ve Karakterizasyonu.....	53
3.4.1. Nanokompozit iki katmanlı filmlerin hazırlanması.....	54
3.4.1.1. Yüzey kaplama işlemi ile filmlerin elde edilmesi.....	54
3.4.1.2. Pres yardımı ile iki katmanlı filmlerin elde edilmesi.....	56
3.4.2. Film Karakterizasyon analizleri.....	57
3.4.2.1. Temas açısının belirlenmesi.....	58
3.4.2.2. Suda toplam çözünür madde miktarı ve Su tutma kapasitesinin belirlenmesi.....	58
3.4.3. Salınım Çalışmaları.....	59
3.4.3.1. Gıda benzerleri sıvılar kullanılarak salınım kinetiklerinin belirlenmesi.....	59
3.4.3.2. Aktif bileşen salınımının matematiksel modellenmesi.....	59
3.4.4. En uygun ambalaj malzemesinin seçilmesi.....	60
3.5. Seçilen Nano Kompozit Filmlerin Gıda Uygulamaları.....	61
3.5.1. Gıda denemesi için film örneklerinin hazırlanması.....	61
3.5.2. Tavuk göğüs fileto örneklerinin hazırlanması ve ambalajlanması.....	61
3.6. İstatistiksel Analiz.....	62
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	64
4.1. Üzüm Çekirdeğinden Aktif Bileşenlerin Ekstrakte Edilmesi.....	64
4.1.1. Optimizasyon parametrelerinin fenolik madde ekstraksiyonuna etkileri.....	64
4.1.2. Ekstraksiyon Uygulamasının optimizasyonu.....	66
4.2. Farklı Oranlarda GSE İçeren Kitosan Filmlerin Özellikleri.....	67
4.2.1. Film karakterizasyonu.....	67
4.2.1.1. Taramalı elektron mikroskobu.....	67

4.2.1.2. Su buharı geçirgenliği ve mekanik özellikler	68
4.2.1.3. Optik özellikler	70
4.2.2. Film örneklerinin aktif özellikleri	71
4.2.3. Raf ömrü çalışmaları.....	72
4.2.3.1. pH değeri	72
4.2.3.2. Renk değerleri	72
4.2.3.3. Mikrobiyolojik analiz	74
4.2.3.4. Oksidatif stabilite.....	76
4.2.4. Filmlere eklenecek olan GSE oranının belirlenmesi	77
4.3. GSE İçeren CH Bazlı Nano Kompozit Filmlerin Elde Edilmesi ve Karakterizasyonu.....	80
4.3.1. Film karakterizasyonu	80
4.3.1.1. Yüzey ve kesit morfolojisi	80
4.3.1.2. Temas Açısı	83
4.3.1.3. Su buharı geçirgenlik, suda çözünürlük ve su tutma kapasitesi değerleri	85
4.3.1.4. Mekanik özellikler	90
4.3.1.5. Optik özellikler	94
4.3.2. Film örneklerine ait antimikrobiyal aktivite değerleri	98
4.3.3. Film örneklerine ait antioksidan aktivite değerleri	100
4.3.4. Salınım çalışmaları	101
4.4. Gıda Uygulamasında Kullanılacak Ambalaj Malzemesinin Seçimi.....	106
4.4.1. pH değerleri	106
4.4.2. Renk değerleri.....	107
4.4.3. Mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	110
4.4.4. Oksidasyon stabilitesi	112
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	114
KAYNAKLAR	118
EKLER.....	140
EK A. Üzüm Çekirdeğinden Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonun Optimizasyon Sonuçları	141
EK B. Filmlere Eklenecek GSE Oranının Belirlenmesinde Kullanılan Çoklu Regresyon Sonuçları	145
EK C. Gıda Uygulamasında Kullanılacak Film Örneklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Çoklu Regresyon Sonuçları.....	149
ÖZGEÇMİŞ.....	154

ÖZET

Doktora Tezi

ANTIOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİK KAZANDIRILMIŞ NANOKOMPOZİT FİLMLEİN GELİŞTİRİLMESİ VE GIDA UYGULAMALARI

Ece SÖĞÜT

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Atıf Can SEYDİM

Bu tez çalışması kısaca dört ayrı aşamadan oluşmaktadır: birinci aşama üzüm çekirdeği tozundan fenolik bileşenlerin ekstrakte edilmesi, ikinci aşama ekstrakte edilen bileşenlerin kitosan filmlere eklenmesi, üçüncü aşama nanokompozit filmlerin oluşturulması ve son aşama gıda ambalajı olarak uygulanmasıdır.

Bu çalışmanın amacı, gıda ambalajlama uygulamaları için gelişmiş mekanik ve bariyer özelliklere sahip kitosan (CH) bazlı, polikaprolakton (PCL) ve siklik olefin kopolimer (COC) iki katmanlı aktif filmlerin oluşturulmasıdır. Üzüm çekirdeği tozu ekstraktı (GSE) ve nanoselüloz (NC) içeren, aktif özellikleri taşıyabilecek, iki katmanlı aktif filmler üretilmiş ve ikinci katmanın CH filmlerin aktif ve fiziko-mekanik özelliklerine etkileri test edilmiştir. CH filmlere GSE (5, 10, 15%, w/w) ilave edilmesinin etkileri fiziko-mekanik, yapısal ve aktif özellikler bakımından analiz edilmiştir. Aynı zamanda, COC ve PCL'in iki katmanlı film formunda ve NC (1-5%, w/w) varlığında CH filmlerin mekanik, bariyer, morfolojik ve aktif özellikleri üzerine etkileri de incelenmiştir. Son olarak, aktif iki katmanlı filmlerin gıda uygulamaları için uygunluğunun test edilmesi amacıyla bir film grubu kullanılmıştır. NC (2%, w/w) ve GSE (15%, w/w) içeren CH ve PCL bazlı iki katmanlı filmler, gıda uygulamaları için yeterli aktif ve mekanik özellikler göstermiştir. Bu nedenle, CH, % 15 GSE ve/veya % 2 NC içeren CH filmler ile PCL bazlı iki katmanlı filmler hazırlanarak, buzdolabı koşullarında (+4°C) 15 gün boyunca depolanması sırasında tavuk göğüs fileto örneklerinin kalitesi üzerine etkileri çalışılmıştır.

GSE içeren filmler CH filmlerle karşılaştırıldığında daha yüksek su buharı geçirgenlik değerleri, opaklık ve a^* ve b^* değerleri göstermiştir ($p<0.05$). GSE miktarının artması transmittans ve L^* değerlerini düşürmüştür. %15 oranında GSE içeren CH film örnekleri en yüksek elastik modül (EM) ve elastikiyet (E,%) değerleri göstermiştir ($p<0.05$). CH filmler *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı CH filmlere göre daha etkin antimikrobiyal etki göstermiştir. GSE ilavesi, CH filmlere antioksidan özellik kazandırmış ve CH filmlere %15 GSE ilavesi tavuk göğüs fileto örneklerinin buzdolabı koşullarında oksidasyonu inhibe etmiştir ($p<0.05$). GSE

içeren %15 GSE içeren CH filmler toplam mezofilik (TMAB) ve koliform bakteri yükünü azaltmış ($p<0.05$) ve depolama boyunca CH filmlere göre TMAB ve koliform bakteriler için sırasıyla, 1.50 ve 2.33 log azalma sağlamıştır.

CH bazlı PCL ve COC iki katmanlı film örneklerinin karakterizasyon analizleri temas açısı, taramalı elektron mikroskopu (SEM), optik analizler, mekanik ve bariyer özellikleri testleri ile gerçekleştirilmiştir. SEM görüntüleri, CH filmlerle COC ve PCL katmanlar arasında uyum olduğunu gösterirken sadece GSE içeren CH filmler ve COC katmanı arasında ayrılma gözlenmiştir. CH film yüzeyleri daha düşük temas açısı değerleri gösterirken NC ve GSE içeren CH filmlerin yüzeylerinde daha yüksek temas açısı değerleri gözlenmiştir. CH yüzeyine COC ve PCL katmanların uygulanması ve NC ilavesi su buharı geçirgenliğini (WVP) geliştirirken GSE ilavesi tersi bir etkiye neden olmuştur. CH filmlere NC ilavesi filmlerin su tutma kapasitesi ve çözünürlük değerlerini düşürmüştür. NC ilavesi, EM değerlerinde artışa ve TS ve E değerlerinde azalışa neden olmuştur. İki katmanlı filmler, tek katmanlı filmlerle karşılaştırıldığında daha düşük EM ve TS değerleri göstermiştir ve aynı zamanda daha elastik ve daha az şeffaf filmler oluşturulmuştur ($p<0.05$). İki katmanlı filmler, tek katmanlı filmlere göre daha opak bulunmuştur ve daha düşük L^* ve transmittans değerlerine sahiptirler ($p<0.05$). Film örneklerinin antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri ve salınım davranışları da test edilmiştir. İki katmanlı filmler de dahil, tüm film örnekleri *E. coli* ve *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ek olarak, GSE ilave edilmiş film örnekleri % $14.33\pm 0.24 - 20.45\pm 0.07$ arasında 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) süpürücü etki göstermiştir. NC içeren PCL bazlı iki katmanlı filmler COC iki katmanlı filmleri ile karşılaştırıldığında CH filmlerin özelliklerini gıda uygulamaları için daha uygun hale getirmiştir.

Tavuk göğüs fileto örnekleri, üretilen film örnekleri ile ambalajlanmış ve sonrasında düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) filmlerle paketlenmiştir. Tüm örneklerin mikrobiyolojik (TMAB ve toplam koliform bakteri sayısı) ve fiziko-kimyasal özellikleri (pH renk değişimi, tiyobarbitürik asit reaktif bileşenleri (TBARS), periyodik olarak analiz edilmiştir. Örneklerin pH değerleri, 6.33-6.81 arasında, farklı ambalaj materyallerinden etkilenmiştir ($p<0.05$). Kontrol örneği (LDPE ambalaj) ile karşılaştırıldığında aktif filmlerle ambalajlanan örneklerin TBARS değerleri daha düşüktür ($p<0.05$). Tavuk göğüs fileto örneklerinin L^* değerleri 6 günlük depolamadan sonra düşüş göstermiştir ($p<0.05$). Tavuk göğüs fileto örneklerinin a^* ve b^* değerleri de farklı ambalaj malzemelerinden etkilenmiştir ($p<0.05$). NC ve GSE içeren filmler, kontrol örnekleri (LDPE) ile karşılaştırıldığında tavuk göğüs fileto örneklerinin TMAB ve koliform sayısında azalışa neden olmuştur ($p<0.05$). Sonuçlar gösteriyor ki, CH ve PCL bazlı iki katmanlı filmler, aktif ambalajlama materyali katmanı olarak fonksiyonel bileşenlerin gıda uygulamaları için transferinde potansiyele sahiptir. Elde edilen iki katmanlı filmler, fonksiyonel bileşenlerin konvansiyonel polimerler ile aktif ambalaj katmanı haline transferinde potansiyele sahip olacaktır.

Anahtar kelimeler: Üzüm çekirdeği ekstraktı, Kitosan, Nanoselüloz, Çift katmanlı film, Antioksidan, Antimikrobiyal, Raf ömrü

2018, 155 sayfa

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

DEVELOPMENT OF ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL NANOCOMPOSITE FILMS AND THEIR FOOD APPLICATIONS

Ece SÖĞÜT

Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Atif Can SEYDİM

This study comprised of four individual stages: in the first stage phenolic components were extracted from grape seed powder, in the second stage extracted components were incorporated into chitosan films, in the third stage nanocomposite films were prepared and in the last stage food packaging application was carried out.

The objective of this study was to develop chitosan (CH) based polycaprolactone (PCL) and cyclic olefin copolymer (COC) active bilayer films with enhanced mechanical and barrier properties for food packaging applications. Active bilayer films, that could carry active properties, including grape seed extract (GSE) and nanocellulose (NC), were prepared and tested the effect of a second layer on the active and physico-mechanical properties of CH films. The effect of GSE incorporation (5, 10, 15%, w/w) into CH film was evaluated using physicomachanical, structural and active properties. Although, the effect of COC and PCL application in the bilayer film form and in the presence of NC (1-5%, w/w) on the mechanical, barrier, morphological and active properties of CH films were evaluated. Finally, one of the film sample group was used to test the possibility of active bilayer films for food packaging application. CH and PCL based bilayer films including NC (2%, w/w) and GSE (15%, w/w) showed the required active and mechanical-barrier properties for food packaging application. Thus, CH, CH15G, CH2N, CH15G2N and PCL-C bilayer film samples were prepared and the effect of films on the quality of fresh chicken breast fillets during refrigerated storage was studied during 15 days of storage.

GSE included films showed higher water vapor permeability, opacity, a^* , and b^* values ($p < 0.05$). Increasing GSE concentration lowered the transmittance and L^* values. 15% GSE included CH films showed the highest elastic modulus and elongation at break values ($p < 0.05$). The addition of GSE provided antioxidant activity to CH films and the addition of 15% GSE into CH films inhibited oxidation of chicken breast fillets during refrigerated storage ($p < 0.05$). GSE included CH films inhibited *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* more efficiently than CH stand-alone films. CH films incorporated 15% GSE inhibited total mesophilic aerobic bacteria (TMAB) and

coliforms in chicken breast fillets ($p < 0.05$) and provided 1.50 and 2.33-log reduction in TMAB and coliforms, respectively, during storage.

The characterization of CH based COC and PCL bilayer films were carried out by contact angle measurements, scanning electron microscopy (SEM), optical analysis, tensile and permeability tests. SEM images showed that there was a functional adhesion layer between CH and COC and PCL while a detachment occurred for GSE included COC bilayer films, only. CH film surface showed lower contact angle value, whereas the higher contact angle values were observed for CH film surfaces including GSE and NC. The formation of COC and PCL layers on CH surface and NC addition improved the water vapor permeability (WVP) while GSE addition had an adverse effect on WVP. The addition of NC into the CH films reduced the water uptake and solubility of films. The inclusion of NC resulted in an increased elastic modulus and a decrease in TS and ϵ (%) values. Bilayer films exhibited lower elastic modulus and tensile strength when compared to monolayer films, although they were more stretchable and less transparent ($p < 0.05$). Bilayer films were more opaque than monolayer films showing lower L^* and transmittance values ($p < 0.05$). The antimicrobial and antioxidant activity of films and release behavior were also studied. All film samples including bilayer films showed antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. Moreover, GSE added film samples showed antioxidant properties ranging 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity between 14.33 ± 0.24 – 20.45 ± 0.07 %. The formation of the bilayer with PCL and NC incorporation enhanced the suitability of CH based films for food packaging applications when compared to COC bilayer films.

Chicken breast fillets were packaged with film samples and then vacuum packaged with low-density polyethylene (LDPE). All samples were analyzed periodically for microbiological (total mesophilic aerobic (TMAB) and coliform bacteria and physico-chemical characteristics (change in pH, color and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)). The pH values of chicken breast fillets were, ranging from 6.33 to 6.81, affected by different packaging films ($p < 0.05$). Samples packaged with active films had lower TBARS values than those of control samples ($p < 0.05$). The L^* values of chicken breast fillets significantly decreased after 6 days of storage ($p < 0.05$). The a^* and b^* values of chicken breast fillets were significantly affected by different packaging films ($p < 0.05$). Film samples incorporated GSE and NC led to a significant reduction in TMAB and coliforms in chicken breast fillets ($p < 0.05$) during storage when compared with control (packaged with only LDPE). The results indicated that CH and PCL based bilayer films could be a promising material to transfer functional compounds as active packaging material layer for food packaging applications. These bilayer films will have a potential use for transferring functional compounds as active packaging material layer along with conventional polymers.

Keywords: Grape seed extract, Chitosan, Nanocellulose, Bi-layer, Antioxidant, Antimicrobial, Shelf life,

2018, 155 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım tüm zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Atıf Can SEYDİM'e teşekkürlerimi sunarım. Literatür araştırmalarım ve laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Zeynep Banu SEYDİM, Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ ve Ar. Gör. Dr. Bilge ERTEKİN FİLİZ'e ve tezimin bir kısmını gerçekleştirdiğim İstanbul Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde Laboratuvarlarını kullandığımız hocam Doç. Dr. Ali DURMUŞ'a teşekkür ederim.

OYP-5273-DR-12 ve OYP-4914-D2-17 No'lu Projeler ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde 2211/A Yurtiçi Doktora Burs Programı ve 2214/A Doktora Sırası Yurtdışı Araştırma Burs Programı ile maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan ve yardımlarını esirgemeyen eşim Oğuz SÖĞÜT'e, kardeşim Çiğdem ÇAĞDAŞ'a, annem ve babam Mükerrrem, Nafiz ÇAĞDAŞ'a sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Ece SÖĞÜT
ISPARTA, 2018

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Aktif ambalaj, yenilebilir film ve kaplamalar, çevreci yaklaşımlar üzerine yapılan araştırma sayıları	2
Şekil 2.1. Biyo-polimerlerin sınıflandırılması.....	8
Şekil 2.2. Nişastanın kimyasal yapısı	9
Şekil 2.3. Kitosanın kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.4. Poli(laktik asit) kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.5. Polikaprolaktonun kimyasal yapısı.....	14
Şekil 2.6. COC'nin kimyasal yapısı.....	24
Şekil 2.7. Gaz moleküllerinin polimer-kil nanokompozit boyunca izlediği yol	32
Şekil 3.1. İlk 3 aşamaya ait işlem basamakları	39
Şekil 3.2. GSE içeren CH filmlerin elde edilmesi	46
Şekil 3.3. Ambalajlama tasarımı.....	51
Şekil 3.4. yüzey kaplama ile iki katmanlı filmlerin elde edilmesi	55
Şekil 3.5. İki katmanlı filmlerin pres yardımıyla elde edilmesi	56
Şekil 3.6. Ambalajlama tasarımı.....	62
Şekil 4.1. Sabit ekstraksiyon süresindeki program yanıtları	65
Şekil 4.2. Üzüm çekirdeği ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite	66
Şekil 4.3. CH ve CH15G filmlere ait kesit ve yüzey SEM mikrogramları.....	68
Şekil 4.4. Film örneklerinin seçilen bakterilere karşı logaritmik inhibisyon değerleri.	71
Şekil 4.5. Depolama boyunca tavuk göğüs fileto örneklerinin pH değerlerindeki değişim.....	72
Şekil 4.6. Tavuk göğüs fileto örneklerinin renk değerlerindeki değişim	73
Şekil 4.7. Tavuk göğüs fileto örneklerinin TMAB ve toplam koliform sayıları	75
Şekil 4.8. GSE ilavesinin tavuk göğüs fileto örneklerinin TBARS değerleri üzerine etkileri.....	77
Şekil 4.9. CH, CH15G, CH5N ve CH15G5N filmlere ait yüzey mikrogramları .	80
Şekil 4.10. COC-C iki katmanlı filmlere ait kesit SEM görüntüleri	82
Şekil 4.11. PCL-C iki katmanlı filmlere ait kesit SEM görüntüleri.....	83
Şekil 4.12. NC ve/veya GSE içeren veya içermeyen CH film örnekleri yüzeyinde COC ve PCL (%5, kloroform) film çözeltileri ile su ve gliserol için temas açısı değerleri	84
Şekil 4.13. Film örneklerinin <i>E. coli</i> ve <i>L. monocytogenes'e</i> karşı gösterdiği inhibisyon (sıvı ortam) değerleri.....	99
Şekil 4.14. GSE içeren film örneklerine ait antioksidan aktivite değerleri.....	101
Şekil 4.15. GSE bileşenlerine ait kromatogram.....	101
Şekil 4.16. Simülant A için zamanın bir fonksiyonu olarak aktif bileşen salınım miktarı	103
Şekil 4.17. Simülant B için zamanın bir fonksiyonu olarak aktif bileşen salınım miktarı	104
Şekil 4.18. Farklı ambalaj filmlerinin depolama süresince tavuk göğüs fileto örneklerinin pH değerleri üzerine etkileri.....	107

Şekil 4.19. Farklı ambalaj filmlerinin depolama süresince tavuk göğüs fileto örneklerinin renk değerleri üzerine etkileri	109
Şekil 4.20. Farklı ambalaj filmlerinin depolama süresince tavuk göğüs fileto örneklerinin mikrobiyal kalitesine etkileri.....	110
Şekil 4.21. Farklı ambalaj filmlerinin depolama süresince tavuk göğüs fileto örneklerinin oksidasyon stabilitesi üzerine etkileri	112



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Gıda ambalajlamadaki eğilimler.....	1
Çizelge 1.2. 2010 yılından sonra seçilen anahtar kelimelere göre yapılan araştırma sayıları	4
Çizelge 2.1. Antimikrobiyal biyo-bazlı polimer ambalaj uygulamaları.....	18
Çizelge 2.2. Antioksidan biyo-bazlı polimer ambalaj uygulamaları.....	20
Çizelge 2.3. Siklik olefin kopolimerlerin özellikler	25
Çizelge 2.4. Nanokompozitlerin gıda ambalajlama alanındaki potansiyel uygulamaları	37
Çizelge 3.1. Bağımsız değişkenler ve faktöriyel tasarım için seviyeleri	43
Çizelge 3.2. CH filmlere eklenecek olan GSE'ye ve optimum koşullar için elde edilen değerlere ait aktif özellikler	45
Çizelge 3.3. GSE oranının seçilmesi için belirlenen kriterler	53
Çizelge 3.4. Film örneklerine ait kodlama.....	54
Çizelge 3.5. Test edilen film özellikleri ve ambalaj malzemesi seçimindeki etki dereceleri.....	60
Çizelge 3.6. İstatistiksel analiz.....	63
Çizelge 4.1. Optimizasyon sonuçları.....	67
Çizelge 4.2. Kalınlık, su buharı geçirgenlik değerleri ve mekanik özellikler	69
Çizelge 4.3. Film örneklerinin optik özellikleri	70
Çizelge 4.4. GSE oranının seçilmesi için belirlenen kriterler	78
Çizelge 4.5. Tek katmanlı film örneklerine ait kalınlık, su buharı geçirgenliği, çözünürlük ve su tutma kapasitesi değerleri	86
Çizelge 4.6. İki katmanlı film örneklerine ait kalınlık, su buharı geçirgenliği değerleri.....	87
Çizelge 4.7. İki katmanlı film örneklerine ait çözünürlük ve su tutma kapasitesi değerleri.....	88
Çizelge 4.8. Tek katmanlı film örneklerinin mekanik özellikleri	91
Çizelge 4.9. İki katmanlı film örneklerinin mekanik özellikleri.....	92
Çizelge 4.10. Tek katmanlı film örneklerinin optik özellikleri.....	94
Çizelge 4.11. İki katmanlı film örneklerine ait optik özellikler.....	95
Çizelge 4.12. İki katmanlı film örneklerine ait renk değerleri	96
Çizelge 4.13. Korsmeyer-Peppas model parametreleri	105
Çizelge A.1. Tasarım matrisi ve tam faktöriyel tasarım	141
Çizelge A.2. Tam faktöriyel tasarım için varyans analiz (ANOVA) tablosu ...	142
Çizelge B.1. Farklı oranlarda GSE içeren CH filmlerle ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinin renk değerlerindeki değişim.....	145
Çizelge B.2. Çoklu regresyon analizi program çıktıları (parametreler)	146
Çizelge B.3. Çoklu regresyon analizi program çıktıları (çözümler)	147
Çizelge B.4. Çoklu regresyon analizi program çıktıları (tahmin)	148
Çizelge C.1. Tek katmanlı ve iki katmanlı film örneklerine ait logaritmik azalma miktarları	149
Çizelge C.2. Parametrelere ait elde edilen en yüksek ve en düşük değerler ve önem dereceleri.....	150
Çizelge C.3. Modele uygun çözümler ve sonuçları	151

Çizelge C.4. Modele göre en uygun ambalaj filmi ve bu film örneklerine ait sonuçlar	152
Çizelge C.5. Farklı filmlerle ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinin renk değerlerindeki değişim	153



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAPH	2,2'-azobis(2-amidino-propan) dihidroklorid
ASTM	American Society for Testing and Materials
ATCC	American Type Culture Collection
CH	Kitosan
COC	Siklik Olefin Kopolimer
dds	Dakikadaki devir sayısı
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
DSC	Fark tarama kalorimetresi
ϵ	Elastikiyet
EM	Elastik Modül
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GSE	Üzüm Çekirdeği Ekstraktı
LDPE	Düşük yoğunluklu polietilen
MAP	Modifiye atmosfer paketlenme
NC	Nanoselüloz
PA	Poliamid
PBAT	poli(butilen adipat-ko-terafitalat)
PBS	Polibütillen süksinat
PCA	Plate count agar
PCL	Polikaprolakton
PE	Polietilen
PEG	Polietilenglikol
PEO	Polietilenoksit
PGA	Polyglycolic acid
PHA	Poli(hidroksi alkonat)
PHB	Poli(hidroksi bütirat)
PHBV	Poli(hidroksi bütirat ko-valerat)
PLA	Poli(laktik asit)
PP	Polipropilen
PPC	Polipropilen karbonat
PVA	Polivinil alkol
PVP	Poli(vinilprolidon)
SBS	Stiren-bütadien-stiren
SEM	Taramalı elektron mikroskopu
T	Transmittans
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif bileşenleri
TCA	Trikloroasetik asit
Tg	Camsı geçiş sıcaklığı
TMAB	Toplam mezofilik aerobik bakteri
TS	Çekme dayanımı
UV	Ultraviyole
VRBA	Violet red bile agar
WVP	Su Buharı Geçirgenliği

1. GİRİŞ

Gıda ambalajlamanın esas amacı, depolama ve taşıma sürecinde gıda ürünlerinin kalitesinin ve güvenliğinin sağlanması ve gıdayı kimyasal bulaşılardan, oksijen, nem, ışık, dış faktörler, bozulma etkeni mikroorganizmalar gibi istenmeyen faktör ya da durumlardan koruyarak gıdanın raf ömrünü uzatmaktır. Bu şekildeki fonksiyonları yerine getirmek için, ambalaj malzemesi fiziksel koruma sağlamalı ve istenilen seviyede raf ömrü süresi sağlayarak ürünün kalitesini koruyacak fiziko-kimyasal koşulları oluşturabilmelidir. Gıda ambalajı, mekanik, optik, ısı özellikler gibi asıl fonksiyonlara ek olarak, nem kaybını ya da üründe fazla nem birikmesini engellemeli, mikrobiyal bulaşılardan ürünü korumalı ve su buharı, oksijen, karbondioksit, ve kötü koku, aroma gibi diğer uçucu bileşiklere karşı bariyer özellik göstermelidir (Brown ve Williams, 2003).

Son zamanlarda, kullanılan kaynakların azaltılması, ambalaj materyallerini ve ambalaj üretim proseslerini içeren çevresel faktörler, ürünün ulaştırılması, depolanması ve satışının tekrar tasarlanması gibi pek çok farklı faktör, gıda ambalaj materyallerinin gelişim evresi içerisine girmiştir (Çizelge 1.1).

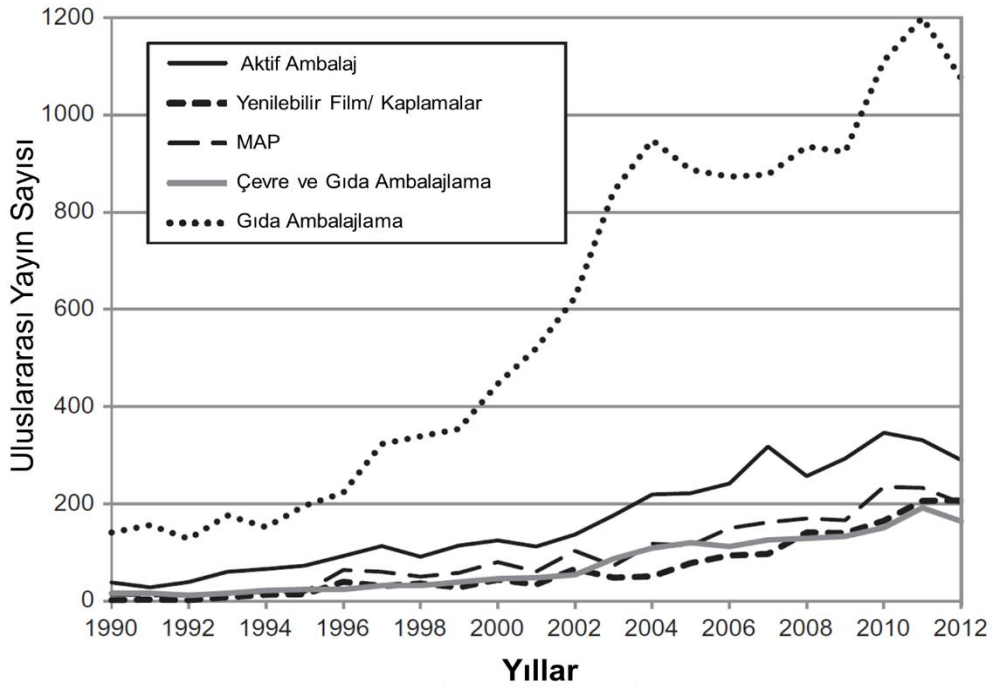
Çizelge 1.1. Gıda ambalajlamadaki eğilimler (Han, 2014)

Dönem	Fonksiyonları/Amaçları
1960'lar	Uygunluk, Satış noktasında pazarlama
1970'ler	Enerji miktarını azaltma, Kullanılan kaynak miktarını azaltma, daha hafif ambalaj materyallerinin üretilmesi
1980'ler	Güvenlik, Market rafında müşteri darbe ve kontrollerine daha dayanıklı ambalaj materyallerinin üretimi
1990'lar	Çevresel faktörler (atık miktarı vb.)
2000'ler	Sağlık ve güvenlik
2010'lar	Karbon ayak izi azaltma
2010 sonrası	Yeni nesil malzemeler, Kompozit materyaller

Gıda ambalajlamanın basit ve birincil amacı yerini çevresel faktörler, market rafında satış, market rafında sürekli kontrol/müşteri kontrolüne dayanıklılık, materyal kullanım miktarının azaltılması, güvenlik vb. diğer ek amaçların da yer aldığı daha geniş kapsamlı amaçlara bırakmıştır. Bunun yanı sıra, biyoterörizme

olan farkındalığın artması, gıda ambalaj materyallerinin güvenliği arttıracak şekilde tekrar tasarlanmasına neden olmuştur.

Son yıllarda, gıda üretim teknolojilerinde meydana gelen yeniliklerin gıdaların daha etkin, daha uygun, daha ucuz, daha kaliteli ve güvenli bir şekilde üretilmesi için yeni olanaklar sağlamıştır. Raf ömrü uzun ürünlerin her hangi bir yerde herhangi bir koşulda satılabiliyor olması gıda ambalaj materyallerinde değişime yol açmıştır. Yeni üretim teknolojilerinin gelişmesi ve tüketicilerin sağlık, çevre vb. konularda daha duyarlı hale gelmesi, daha dayanıklı gıda ürünlerinin üretilmesine ve bu ürünler için uygun ambalaj materyallerinin geliştirilmesine yol açmıştır. İlk aşamada, ambalaj malzemelerinde basit bariyer özellikler geliştirilmiş ve daha sonrasında ise ambalaj materyallerine, daha çevreci yaklaşımlar çerçevesinde, aktif ambalaj, modifiye atmosfer paketleme (MAP), yenilebilir özellikler gibi yeni görevler yüklenmiştir. Gıda üretim ve gıda ambalaj sektöründe meydana gelen bu değişiklikler gıda ambalajlama alanındaki araştırmaların da yönünü değiştirerek modifiye atmosfer, yenilebilir kaplamalar ve aktif ambalajlama sistemleri gibi alanlara yöneltmiştir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Aktif ambalaj, yenilebilir film ve kaplamalar, çevreci yaklaşımlar üzerine yapılan araştırma sayıları (Han, 2014)

Biyo-bazlı polimerlerin, gıda ürünlerinin raf ömrünü arttırmak ve kalite özelliklerini geliştirmek amacıyla, gıda endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanılan petrol bazlı polimerlere alternatif olarak kullanılma oranı artmaya başlamıştır (Bonilla vd., 2014; Sun vd., 2013). Bu nedenle, gıda endüstrisi aktif özelliklere sahip biyo-bazlı ambalaj malzemelerinin geliştirilmesi için çalışmaktadır (Jideani ve Vogt, 2016; Pereira de Abreu vd., 2012). Böylelikle, kullanılan toplam ambalaj malzemesinde azalış meydana gelirken, geri dönüşümlü ambalaj materyallerinde artış meydana gelmiştir.

Gıda ambalaj materyallerinin doğal bileşenlerle değişiminde gıda maddesinin zarar görmeyeceği ve güvenliğini, bütünlüğünü koruyacağı yeni ambalaj malzemelerinin gelişimi yeni araştırma alanı haline gelmiştir. Üretilen biyo-bazlı ambalaj malzemeleri, gıda ambalaj materyallerinin birincil işlevi olan gıdanın bütünlüğünü koruma görevini yerine getirmede bazı kısıtlamalara sahiptir. Bu yüzden, biyo-bazlı ambalaj malzemelerinin geliştirilmesinde pek çok farklı yöntem üzerine çalışılmaktadır. Bu alanda, biyo-bazlı kaplamaların ya da aktif özellikli iç katmanların oluşturulması veya nanodolgu maddelerinin kullanılarak biyo-bazlı polimerlerin özelliklerinin geliştirilmesi kullanılacak en iyi alternatiflerden biridir (Hong vd., 2005; Farris vd., 2011).

Çok katmanlı filmlerin oluşturulması, kullanılan polimer katmanlara bağlı olarak, polimerin hem bariyer özelliklerini hem de mekanik özelliklerini geliştirebilecek en kolay yöntemler arasındadır. İki katmanlı filmler, bir katmanın diğer katman üzerine uygulanarak elde edildiği filmlerdir (Rivero vd., 2009). İki katmanlı filmler, aktif özelliklere sahip biyo-bazlı polimerlerin mekanik, bariyer ya da fiziksel özellikleri oldukça iyi bir başka polimer ile kombinasyonunu sağlamaktadır.

Biyo-bazlı polimerlerin gıda ambalaj materyali olarak kullanımı için özelliklerinin geliştirilmesinde kullanılan yöntemlerden birisi de nanodolgu maddeleri ile zenginleştirmedir. Nanokompozitler, yeni bir malzeme sınıfı olup, bir boyutu en az nanometre boyutunda olan nanopartikül ya da bileşen içeren polimerler (Pettersson ve Oksman, 2006) olarak tanımlanır. Bir ve iki boyutlu

geometriye sahip nanodolgu maddeleri sahip oldukları yüksek boy/en oranı sayesinde polimerin mekanik ve bariyer özelliklerini geliştirmekte ve biyo-bazlı polimerlerin kısıtlamalarının üstesinden gelebilmektedir. Gıda ambalaj malzemelerinin gıda için etkin bir bariyer olmasının yanı sıra, ekstra aktif özellikler de taşıması gerektiği kabul edilen gerçeklerden birisidir. Aktif ambalaj uygulamalarından bazıları, oksijen tutucu, karbondioksit soğurucu, nem tutucu (desikant) ve antimikrobiyal ambalajlardır. Gıda ambalaj materyalinin aktif özelliklere sahip olmasının yanında, doğal ve çevre dostu olması da beklenmektedir. Günümüzde, gıda ürünlerindeki kimyasal, sentetik maddelerin yerini doğal bileşenler almaktadır. Örneğin, 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. Son yıllarda aktif özelliklere sahip ya da nanokompozit özellikli gıda ambalaj materyalleri üzerine, anahtar kelimeler baz alınarak, yapılan çalışma sayıları Çizelge 1.2’de gösterilmektedir.

Çizelge 1.2. 2010 yılından sonra seçilen anahtar kelimelere göre yapılan araştırma sayıları

Anahtar kelime	Çalışma sayısı
Kitosan	2072
Polikaprolakton	110
Çok katmanlı gıda ambalaj filmleri	314
Antimikrobiyal ambalaj filmleri	1247
Antioksidan ambalaj filmleri	739
Üzüm çekirdeği ekstraktı içeren filmler	35
Aktif ambalajlama	1095
Aktif iki katmanlı filmler	37
Nanokompozit gıda ambalaj materyalleri	518

Veriler “Web of Science Core Collection” veri tabanından alınmıştır (Anonim, 2018)

Et ve et ürünleri, insan diyetinde kullanılan en önemli protein kaynaklarından. Ancak, mikrobiyal gelişim ve oksidasyon nedeniyle, et depolama koşullarında istenmeyen organoleptik değişikliklere maruz kalmakta ve satışı sırasında da

tercih edilmemesine neden olmaktadır (Dehnad vd., 2014). Bu yüzden, et ve et ürünlerinin raf ömrünü uzatabilecek ambalaj malzemelerinin üretilmesi yüksek önem taşımaktadır (Economou vd., 2009). Antimikrobiyal ve antioksidan ambalajlama sistemleri mikroorganizmalardan ya da oksidasyondan kaynaklanabilecek olumsuz değişikliklerin önüne geçmek için kullanılabilir en kolay yöntemler arasındadır. İki katmanlı filmler gibi çok fonksiyonlu ambalajlama sistemleri hem ambalaj materyaline aktif özellikler sağlayıp hem de mekanik dayanımını arttırırken bir taraftan da ürünün raf ömrünü uzatabilme özelliğine sahiptir. Antimikrobiyal ambalajlama filmleri, et ürünlerinin yüzeyinde meydana gelen mikrobiyal bulaşların ya da bozulmaların önüne geçebilmektedir (Khan vd., 2016). Bunun yanı sıra, et ürünlerinde meydana gelen ana bozulma nedenleri arasında gösterilen oksidasyonun, bazı araştırmacılar tarafından antioksidan ambalajlama sistemleri sayesinde azaltıldığı gösterilmiştir (Qin vd., 2013; Khan vd., 2017).

Bu tez çalışmasının amacı aktif özelliklere sahip biyo-bazlı nanokompozit ambalaj materyali üretmektir. Bu amaçla, biyo-bazlı ambalaj materyali olarak kitosan seçilmiştir. Kitosan filmlerin tek başlarına antimikrobiyal aktiviteye sahip olmaları gıdalardaki mikrobiyal gelişimi kontrol altına alma açısından ek avantaj sağlamaktadır. Bunun yanı sıra, güçlü antioksidan aktiviteye sahip ve aynı zamanda üzüm sanayi yan ürünü/atığı olan üzüm çekirdeği ekstraktı ambalaj filmlere eklenerek antioksidan aktivite de kazandırılmaya çalışılmıştır. Bu şekilde çok fonksiyonlu ambalaj materyali üretmek amaçlanmıştır. Biyo-bazlı ambalaj malzemelerinin mekanik ve bariyer özelliklerinin zayıf olması, bu materyallerin gıda ambalajlama alanında kullanımını kısıtlamaktadır. Bu yüzden mekanik özelliklerinde gelişim sağlamak amacıyla nanodolgu maddesi olarak doğal kaynaktan elde edilmiş nanoselüloz seçilmiştir. Kitosan filmlerin bariyer özelliklerinde gelişim sağlamak için iki katmanlı film üretme yöntemi uygun görülmüştür. Kitosan filmlerin yüzeyi polikaprolakton ve siklik olefin kopolimer gibi polimerlerle kaplanarak bariyer özelliklerini geliştirmek amaçlanmıştır. Bu özelliklerle aktif bileşenler içeren kitosan bazlı, polikaprolakton ve siklik olefin kopolimer iki katmanlı nanokompozit aktif filmler gıda ambalaj materyali olarak üretilmiş ve tavuk göğüs fileto örneklerinin raf ömrüne etkileri incelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Gıda Ambalajlamada Kullanılan Biyo-bazlı Polimerler

Biyo-bazlı polimerler son yılların en fazla ilgi gören polimer matrisi haline gelmiştir. Biyo-bazlı polimerler, yenilenebilir kaynaklardan elde edilmektedir ve çevresel problemlerin çözümü olarak görülmektedirler. Bu polimerlerin artan kullanım oranlarının birincil nedeni, polimerleri üretmede kullanılan monomerlerin asıl kaynağı olan petrol kaynaklarının azalıyor olmasıdır. Bunun yanı sıra, insanların bilinçlenmesi ve çevre dostu materyalleri talep etmeleri sonucunda konvansiyonel, biyobozunur olmayan polimerlerin yerini değişen yasalarla birlikte “yeşil polimerler” ya da biyo-bazlı polimerler almıştır. Polipropilen, polistiren, polietilen ve poli(metil metaakrilat) gibi konvansiyonel polimerler biyobozunur özellikte değildir ve bu materyallerin geri dönüşümü ya da tekrar kullanımı oldukça zor olup çevreye atık olarak geri dönmektedirler.

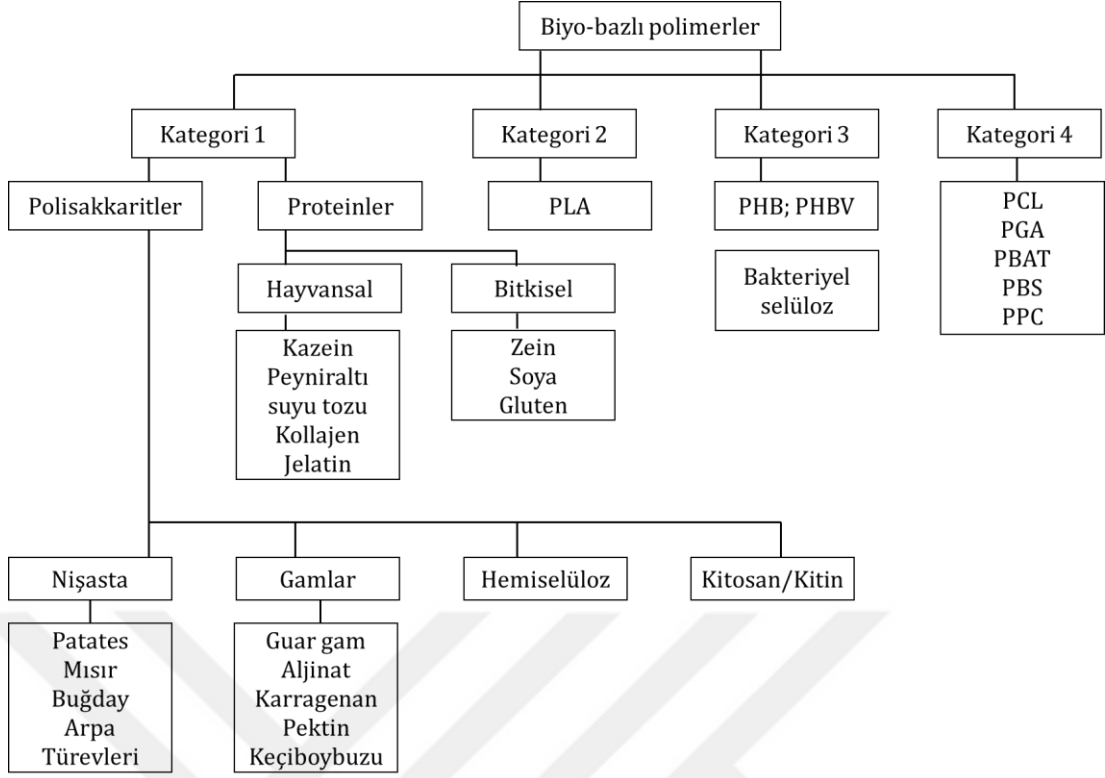
Biyo-bazlı ambalaj malzemeleri, yıllar içerisindeki gelişimlerine göre 3 jenerasyon altında toplanabilir. 1. jenerasyon materyaller, nişasta gibi biyo-bazlı polimerlerle %5-20 oranında zenginleştirilmiş düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) gibi sentetik polimerleri içermektedir. Bu kategorideki polimerler sadece küçük moleküllere ya da parçalara ayrılırlar, biyobozunur özellik göstermezler. 2. jenerasyon materyaller sentetik polimerler ile %40-75 oranında jelatinize nişasta karışımlarını içermektedir ve bazıları tamamen biyobozunur özelliktedir. 3. jenerasyon materyaller ise tamamen biyo-bazlı polimerlerden oluşmaktadır ve tamamıyla biyobozunur özellik gösterir (Gontard vd., 1994).

Biyobozunur polimerlerin sayısı oldukça azdır ve yaşayan organizmaların aktivitesine bağlı olarak tamamen parçalanmak için tasarlanmışlardır. Biyobozunurluk ve kompost ayrı kavramlardır. Eğer materyal biyobozunur özellikte ise herhangi bir zamanda çevreye atıldığında hiçbir işleme gerek kalmaksızın kendiliğinden gerçekleşebilir. Ancak, bir materyal kompostlama işlemi öncesi inorganik kalıntılardan ayrılmalı ve işlenebilmesi için bazı ön uygulamalara tabi tutulmalıdır (Vlieger, 2003). Bir bozunur plastik, doğal olarak

var olan bakteri, maya veya küflerin aktiviteleri sonucunda bozunma prosesiyle daha düşük molekül ağırlıklı parçalara ayrılır. Polimerlerin tamamen biyobozunur olup olmadığı ise respirometrik testler yapılarak belirlenmektedir. Bu analiz, plastik materyalin laboratuvar koşullarında kontrollü kompostlama işlemine tabi tutulmasıyla aerobik biyobozunma hızını ölçer.

Gıda ambalajlama endüstrisi için tamamen biyobozunur özellikteki ambalaj materyallerinin kullanılabilmesi, bu materyallerin doğada tamamen yok olma sürecinden önce gıdanın belirlenen raf ömrüne kadar dayanmasını gerektirmektedir. 3. jenerasyon biyobozunur polimer, özelliklerine, orijinlerine ve sentezlenme metoduna göre sınıflandırılmaktadır. Robertson (2013), biyopolimerleri sentezlenme şekillerine göre 4 ayrı kategoriye ayırmıştır (Şekil 2.1):

- Direkt biyokütleden elde edilen polimerler (kategori 1),
- Biyokütle monomerlerinden klasik kimyasal sentezle üretilenler (kategori 2),
- Doğal ya da genetik modifiye organizmalardan direkt olarak üretilen polimerler (kategori 3),
- Monomerleri petrol bazlı monomerlerden elde edilen polimerler (kategori 4).



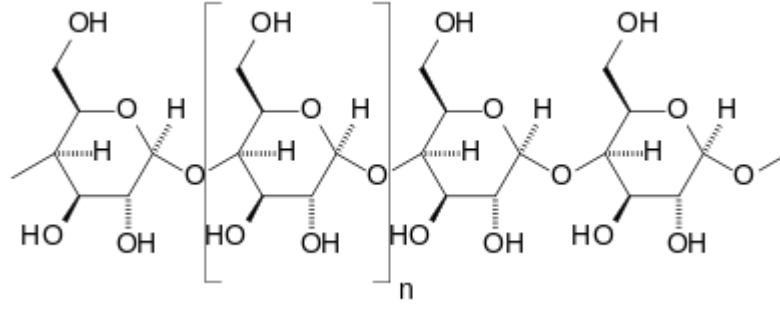
Şekil 2.1. Biyo-polimerlerin sınıflandırılması

2.1.1. Direkt biyokütleden elde edilen polimerler

Kategori 1’de yer alan polimerler genellikle deniz ve tarımsal kaynaklardan elde edilen polimerleri içerir. Selüloz, nişasta ve kitin-kitosan gibi polisakkaritler, soya, peynir altı suyu tozu, kollajen, kazein gibi proteinler bu gruba girmektedir. Bu kategoride olup gıda ambalajlamada en yaygın kullanılan ürün, selüloz bazlı kağıt ve karton türevleridir. Tek başlarına kullanılabilecekleri gibi herhangi bir biyobozunur sentetik polimerle (polikaprolakton gibi) ya da biyobozunur polyesterlerle (poli(laktik asit) gibi) kombine edilerek de kullanılabilirler.

2.1.1.1. Nişasta

Nişasta, doğada yaygın olarak bulunan bir polisakkarit olup birçok bitkinin karbon kaynağıdır. Nişasta, yapısal olarak farklı iki fraksiyon olan amiloz (lineer) ve amilopektini (dallanmış) oluşturmak için birbirine bağlanan glikoz ünitelerinden oluşmaktadır (Şekil 2.2).

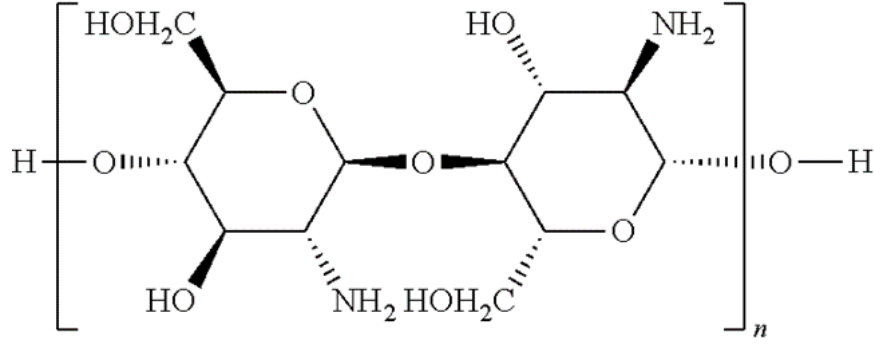


Şekil 2.2. Nişastanın kimyasal yapısı

Önemli bir gıda bileşeni olmasının yanında, nişasta, kağıt endüstrisi tarafından kağıdın mukavemetini geliştirmek amacıyla sıklıkla kullanılan bir biyopolimerdir. Ağırlıkça %20-30 konsantrasyona kadar türevlendirme şekline bağlı olarak sıcak suda çözünebilmektedir ve kaplama yöntemi ile lif bazlı ambalaj malzemelerinin üzerine uygulanabilmektedir. Nişastanın yapısı ve nanopartiküllerle olan etkileşimi sonucu kompleks nanokompozit sistemler oluşmaktadır. Nişasta makro ölçekten moleküler ölçeğe kadar çok seviyeli yapılara sahiptir: nişasta granülleri (mm), yarı kristal ve düzensiz çok moleküllü yapılar (100 μm), kristalin bölgeler (10 nm) ve lineer amiloz ile dallanmış amilopektin (nm) zincirleri. Bu sayede, nanopartiküllerin kompleks çok seviyeli bir yapı olan nişasta içerisine eklenmesiyle pek çok farklı uygulama alanı olan nişasta bazlı nanokompozitler elde edilmektedir. Farklı nano-dolgu ve farklı hazırlama teknikleri kullanılarak üretilen pek çok nişasta bazlı nanokompozit çalışması bulunmaktadır (He vd., 2012; Gao vd., 2012; Raquez vd., 2011).

2.1.1.2. Kitosan

Kitosan, kitinden elde edilen bir polisakkarittir. Kitin, selülozdan sonra doğada en yaygın bulunan ikinci doğal polisakkarittir ve deniz ürünleri endüstrisi yan ürünlerinden çok aşamalı prosesler yardımıyla ekstrakte edilebilmektedir. Kitinin moleküler yapısı, β -1,4-glikozidik bağıyla bağlı 2-asetamid-2 deoksi- β -D-glikoz üniteleridir. Asetoamido gruplarının aminlere deasteilasyonu ile kitin, asidik koşullarda suda çözünebilen kitosana, 2-amino-2-deoksi-D-glikoz, dönüştürülür (Ferreira vd., 2009) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Kitosanın kimyasal yapısı

Kitosanın zayıf asitlerde çözündürülmesi NH_2 gruplarının NH_3^{+} 'ya dönüşmesine neden olur, böylece molekül katyonik hale gelir. Katyonik karakter sayesinde polimerin daha fazla türevlendirmesine izin verir ve gıda bileşenlerinde ya da kaplama işlemlerinde istenen etkileşimler sağlanır. Kitosan, oldukça yüksek viskoz, kalın film çözeltileri verir. Bu şekilde selüloz substratları üzerine kaplama, transparan, esnek, düşük oksijen geçirgenliğine sahip ve yarı kristallenebilir, kendi kendine film oluşturabilir özellikte filmler elde edilebilir. Kitosanın sudaki maksimum çözünürlüğü molekül ağırlığına bağlı olarak ağırlıkça %1-10 oranındadır. Artan konsantrasyonla birlikte çözelti viskozitesi hızlı bir şekilde artmaktadır ve bu durum kitosanın işlenebilirliğini azaltmaktadır. Özellikle kaplama proseslerinde kalın bir bariyer katmanı konvansiyonel yöntemlerle elde edilememektedir.

Biyo-bazlı polimerler arasında, iyi film oluşturma kabiliyeti ve biyobozunur özellikleri ile kitosan (CH) gıda ambalaj uygulamalarına en uygun polimerler arasındadır (Aider, 2010; Duan ve Zhang, 2013; Fan vd., 2009). CH, aynı zamanda doğal olarak antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve sahip olduğu pozitif yük sayesinde biyolojik yüzeylerde belirli ölçüde adhezyon sağlayarak çok katmanlı film üretimine olanak sağlar (Kumar vd., 2004; Dutta vd., 2009; Kong vd., 2010; Bonilla vd., 2014). CH aynı zamanda, oksijene karşı oldukça iyi bariyer özellikleri de göstermektedir (Suyatma vd., 2004). Ancak, CH bazlı filmlerin zayıf su buharı bariyer özellikleri, suya afinite göstermeleri gibi özellikleri mekanik özelliklerinin de zayıflamasına neden olmaktadır (Suyatma vd., 2004; Elsabee ve Abdou, 2013; Wan vd., 2013; Bourbon vd., 2011). Bu yüzden, kitosan bazlı

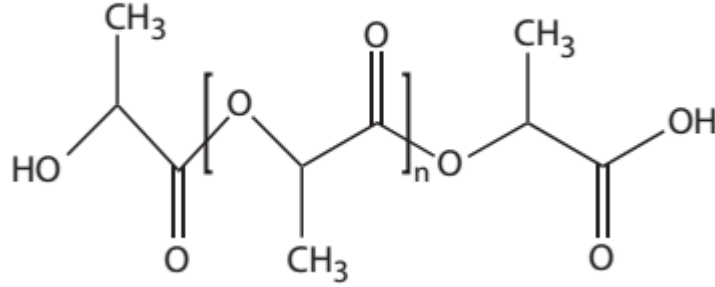
nanokompozitlerle ilgili yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır (Zamudio-Flores vd., 2010; Chang vd., 2010; Ramirez vd., 2017). CH filmlerin özelliklerini geliştirmek amacıyla nanodolgu maddeleri (Hu vd., 2015; Rubentheren vd., 2015), antimikrobialler (Hosseini vd., 2009; Rubilar vd., 2013) ve antioksidan ajanlar (Moradi vd., 2012; Kanatt vd., 2012; Friesen vd., 2015; Ferreira vd., 2014) gibi bileşenler CH filmlere eklenmektedir. Kitosan filmlerin mekanik ve ısıl özelliklerini geliştirmek için kil nanopartikülleri (Grigoriadi vd., 2015), gümüş ve altın nanopartikülleri (Youssef vd., 2014), çinko oksit nanopartikülleri (Youssef vd., 2015), çok katmanlı karbon nano tüpler (Hernández-Vargas vd., 2013) ve grafen oksit nano levha (Ahmed vd., 2017) gibi partiküller kitosan filmlere eklenmiştir.

Kitosan, her bir katmanın spesifik özelliklere sahip olacağı çok katmanlı ambalaj materyallerinde kullanılabilir özelliktedir. Kitosan katmanı, antimikrobiyal özelliğe sahipken diğer bir katman su buharı bariyer özellikleri taşıyabilir. Aynı zamanda, pH ve çevre koşullarından etkilense bile kitosan bazlı sistemler, aktif bileşenlerin kontrollü salınımı için kullanılabilir. Kitosan filmler polilaktik asit (Gartner vd., 2015), polivinilalkol (Bonillo vd., 2014) ve jelatin (Pereda vd., 2011) gibi polimerlerle karıştırılarak, kitosan filmlerin özellikleri iyileştirilmeye çalışılmıştır. Bazı yazarlar, faz ayrımı gerçekleşmeden, ara fazda kimyasal boyutta etkileşimler sağlanarak kitosan filmlerin başka polimerlerle karıştırılabileceğini göstermiştir (Ortega-Torro vd., 2015; Matzinos vd., 2002).

2.1.2. Biyokütle monomerlerinden klasik kimyasal sentezle üretilenler

Bu kategoride poli(laktik asit), biyopoli(etilen tereftalat) yer almaktadır. Biyoetilen, şeker pancarı, şeker kamışı gibi hammaddelerin fermentasyonu sonucu oluşan biyoetanolün katalitik dehidrasyonu ile üretilmektedir. Biyopoli(etilen tereftalat) ise, 2009 yılında The Coca-Cola Company tarafından %30 biyolojik kaynaklı ve %70 petrol kaynaklı ambalaj materyali olarak piyasaya sürülmüş ve %100 yenilenebilir kaynaklardan elde edilen formları araştırılan bir polimerdir.

Poli(laktik asit) (PLA), laktik asit monomerlerinin ya da siklik laktik dimerlerin polimerizasyonu ile sentetik olarak üretilen termoplastik, biyobozunur polimerdir. Laktik asit, mısır, buğday ya da gıda/ziraat endüstrisi atıkları gibi doğal karbonhidratların fermantasyonu sonucu üretilir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Poli(laktik asit) kimyasal yapısı

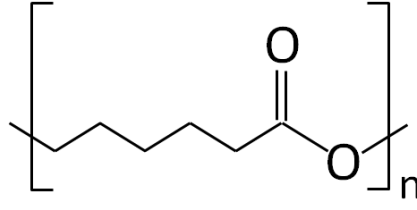
Günümüzde ticari ambalaj uygulamalarında kullanılan PLA verimi oldukça yüksektir ve laktit üretimi yoluyla laktik asitlerin polimerizasyonu yöntemi ile üretilmektedir (Auras vd., 2005). PLA suda çözünür olmadığından, bu polimerin kağıt sanayide kaplama materyali olarak kullanımı kısıtlanmaktadır. Ancak, PLA'nın kloroformda çözündürülerek elde edilen kaplaması su absorpsiyon değerlerini büyük oranda düşürmektedir ve yüksek nem içeriğine sahip gıdalar ya da dondurulmuş gıdaların ambalajlamasında kullanılan malzemelerin yüzey hibrofobitesini arttırmaktadır. Kaplama çözeltilerinin kullanıldığı bir çalışmada, PLA'nın kloroformdaki çözünürlüğü için üst sınırın ağırlıkça %5 olduğu belirtilmiştir (Rhim vd., 2007). Ancak, gıda ile temas eden ambalaj malzemelerinde toksik bir çözücünün kullanılması uygun değildir. Bu yüzden, PLA içeren çalışmalarda ekstruzyon kaplama daha uygun bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda, PLA polimerinin kırılma dayanımının yüksek olduğu (Paul vd., 2003) ve nanopartikül eklendiğinde bu durumun daha büyük sorunlara yol açtığı belirtilmektedir (Plackett vd., 2006). Kakroodi vd. (2017), PLA filmlerinin gaz geçirgenliği gibi bazı özellikleri mikrofibrilasyon prosesi kullanarak geliştirildiğini göstermiştir.

2.1.3. Doğal ya da genetik modifiye organizmalardan direkt olarak üretilen polimerler

Bu grup, genellikle mikrobiyal polyesterleri içermektedir ve yaygın olarak bulunanlar, polihidroksialkonatlar (PHA) ve polihidroksibütiratlar (PHB) dır. Polihidroksialkonatlar (PHA) mikroorganizmalar tarafından enerji ve karbon kaynağı olarak üretilen biyopolimerlerdir. Polihidroksibütirat (PHB) ve hidroksibütiratın (HB) kopolimerleri, hidroksivalerat (HV), poli(hidroksibütirat-ko-valerat) (PHB/V) bu gruba örnek olarak verilebilir. PHB, yüksek kristalli filmler oluşturur ve bu yüzden hidroksivaleratın daha uzun alkil zincirlerini içeren kopolimerlerden üretilen filmler mükemmel sertlik ve kuvvette olmasına rağmen oldukça kırılmandır. Yüksek oranda hidrofobik karakterde oldukları için suya dayanıklı film oluşturma ve kaplama özellikleri gösterir. PHA filmleri, LDPE'nin su buharı geçirgenlik değerlerine yakın değerlere sahip olduğu için gıda ambalaj materyali olarak oldukça uygundur. PHA ların dezavantajı zayıf gaz bariyer özellikleridir ve üretim maliyetlerinin yüksek olmasıdır. Bunun yanı sıra, PHB polimeri ısıl düzensizlik göstermekte ve yüksek sıcaklarda hızlı/ani bir şekilde bozulması PHB'nin ticari kullanımını kısıtlamaktadır (Ray ve Bousmina, 2005). Dasan vd. (2017) nanokristal selüloz kullanarak hazırladıkları PLA/PHBV polimer filmlerinde oksijen bariyer özelliklerinin geliştirildiğini göstermişlerdir.

2.1.4. Monomerleri petrol bazlı monomerlerden elde edilen polimerler

En çok bilinen petrol bazlı biyobozunur polimerler, alifatik polyesterler veya alifatik-aromatik ko-poliesterlerdir. Polikaprolakton (PCL), yüksek kristalleşme ve hidrofobik karaktere sahip sentetik, lineer alifatik polyester olup ϵ -kaprolaktonun halka açılımı polimerizasyonu ile üretilmektedir (Sharmin vd., 2012). ϵ -kaprolakton sentezi için başlangıç materyal, petrol kaynaklıdır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Polikaprolaktonun kimyasal yapısı

Sentetik orijinine karşın PCL kısmen biyobozunur özellikte olup düşük çekme gerilimine ve oldukça yüksek kopma uzaması değerlerine sahiptir. PCL diğer polimerlerle yüksek uyumluluğa sahiptir ve direk kaplama materyali olarak kullanıldığı gibi kompozit bariyer filmlerde de kullanılmaktadır.

Fiziksel özellikleri ve ticari üretiminin olması bu polimeri oldukça çekici kılmaktadır. Düşük erime noktasına sahip olması, diğer polimerlerle karıştırılmasını gerektirmektedir (Lee vd., 2002). Yapılan çoğu araştırma, PCL'in fiziksel özelliklerini geliştirmek için PCL/organik modifiye tabakalı silika (OMLS) nanokompozitleri hazırlama üzerinedir (Gorrasi vd., 2002; Gorrasi vd., 2004; Messersmith ve Giannelis, 1993; Messersmith ve Giannelis, 1995; Utracki vd., 2003; Tortora vd., 2002; Bharadwaj vd., 2002). Gorrasi vd. (2002, 2003), montmorillonit içeren PCL nanokompozit filmler hazırlayarak morfolojik ve bariyer özellikleri açısından inceleme yapmış ve kullanılan nanodolgu maddesinin yapısı/tipinin özellikler üzerine etkili olduğunu bulmuştur. Yapılan aynı çalışmada, PCL nanokompozit filmleri farklı yöntemlerle elde edilerek aralarındaki farklılıklar incelenmiş, hangi yöntemin uygun olacağı belirlenmiştir. PCL/OMLS nanokompozitlerinin eriyik halinde karıştırılması ya da halka açılımı polimerizasyonu ile elde edildiği durumlar ile polimer içerisinde dağılmış PCL/OMLS nanokompozitleri karşılaştırıldığında, polimer içerisinde dağılmış yapı ile elde edilenler daha iyi özellikler elde edildiği belirtilmiştir.

Polimer içerisinde dağılmış yapı elde edilerek hazırlanan (eksfoliye) yapılar, dolgunun yüksek boy/en oranı sayesinde, polimerin mekanik özelliklerinde gelişim sağlamaktadır. Bu durum, yapılan çalışmaların hemen hemen hepsinde gözlenmiştir (Sinha Ray ve Bousmina, 2005; Sinha Ray ve Okamoto, 2003;

Jimenez vd., 1997). Bu şekilde elde edilen PCL'in mekanik dayanım gerektiren, konvansiyonel polimerlerin yerine geçebileceği görülmektedir.

Biyo-bazlı ambalajlar, mekanik ya da bariyer özelliklerinde değişikliğe neden olmaksızın belirlenen periyodun sonrasında doğada etkin bir şekilde bozulmalı ve yok olmalıdır. İnorganik partiküllerin biyo-bazlı polimerler içerisine eklenmesi polimerin fiziksel özelliklerini geliştirmek için uygun değildir ancak, biyobozunurluk özelliklerinde gelişme sağlayabilmektedirler. Bir biyo-bazlı polimerin biyobozunurluğu, kullanılan nanodolgunun doğasına ve yüzeyinde modifikasyon yapmak için kullanılan yüzey aktif bileşene bağlı olarak değişmektedir. Bu sayede, pek çok biyo-bazlı polimerin biyobozunurluk derecesi üretim aşamasında değiştirilebilmektedir (Ishiaku vd., 2002; Sinha Ray vd., 2002; Sinha Ray ve Okamoto, 2003; Pandey vd., 2005).

Polikaprolakton (PCL), alifatik bir polyester olup esneklik ve biyobozunurluk özellikleri gösterdiği için bazı araştırmacılar, PCL'i diğer polimerlerle karıştırarak ya da yüzeylerine lamine ederek kullanmışlardır. Joseph vd. (2011), CH ve PCL polimerleri karıştırarak mekanik ve bariyer özelliklerinin geliştirildiğini belirtmiştir. Alix vd. (2013) nişasta, CH ve PCL polimerlerinin karışımlarından oluşan bir polimer oluşturarak gıda ile temas edebilecek nem tutucu özellikli ambalaj malzemesi üretmiştir. Aynı zamanda, Makino ve Hirata (1997), taze sebzelerin raf ömrünü geliştirmek için CH-selüloz ve PCL bazlı lamine filmler kullanmışlardır.

2.2. Biyo-bazlı Ambalaj Materyallerinin Özellikleri

2.2.1. Mekanik ve bariyer özellikler

Kullanılan pek çok biyo-bazlı polimerin özellikle yüksek nem ortamında, bariyer özelliklerinin oldukça kötü olduğu bilinmektedir ve sentetik polimerle kaplanarak gıda ambalajında istenilen bariyer özellikleri elde edilmeye çalışılır. Nişasta bazlı polimerlerin su buharı geçirgenlik değerleri sentetik polimerlerden 4-6 kat daha fazladır. PLA konvansiyonel polimerlerden 4 kat daha fazla su buharı

geçirgenlik değerine sahipken PHA, LDPE ile hemen hemen aynı değerlere sahiptir.

Pek çok biyo-bazlı polimerin gaz geçirgenlik değerleri bulunduğu ortam nemine göre değişmektedir. PHB, polietilen tereftalat (PET) ve polipropilen (PP)'den daha iyi oksijen bariyeri olup, kısa raf ömrüne sahip ürünler için yeterli koku ve yağ bariyer özellikleri sunar (Nayak, 1999). Biyo-bazlı polimerlerin bariyer özellikleri, bu polimerleri nanokompozitler halinde üretme, modifiye kil kullanma veya yüzeyde plazma uygulaması ile SiO_x kalıntıları bırakma gibi yöntemlerle geliştirilebilir.

Sentetik polimerlerin CO₂/O₂ geçirgenlik oranı polimerin doğasına göre 4:1 ve 6:1 şekilde değişmektedir. Bu oran, PLA için 7:1, nişasta-PCL için 4:1-14:1 aralığında (Petersen vd., 2001) ve buğday gluteni için 15:1 (Barron vd., 2002) şeklinde değişmektedir.

Biyo-bazlı polimerlerin bazıları sentetik polimerlerle aynı mekanik özelliklere sahip olsa da ısı ve neme karşı oldukça duyarlıdırlar. Örneğin PLA'nın moleküler düzeninin değiştirilmesi, polimer zincirinin uzunluğunun değiştirilmesi, polimerin yumuşak ve elastik yapısından sert ve kuvvetli yapıya dönüşmesini sağlayabilmektedir (Södergard ve Stolz, 2002).

2.2.2. Aktif özellikler

Aktif ambalaj, ambalaj koşullarında ya da ambalajın kendisinde yapılan değişikliklerle gıdanın bütünlüğünü bozmadan raf ömrünü ve kalitesini arttıran ambalaj materyallerine ya da sistemlerine verilen addır. Genel olarak, aktif ambalajlama, konvansiyonel ambalajlama sistemlerinde olmayan fonksiyonel özellikleri taşımaktadır. Bunlar arasında oksijen tutucular, nem absorbe ediciler, aroma tutucular vb. sistemler bulunmaktadır (Arfat vd., 2015; Pereira de Abreu vd., 2012; Ramos vd., 2015; Joerger, 2007; Quintavalla ve Vicini, 2002). Son zamanlarda, doğal antioksidan ya da antimikrobiyal ajanların kullanıldığı aktif ambalajlama sistemleri daha çok tercih edilmektedir.

2.2.2.1. Antimikrobiyal özellik

Antimikrobiyal ambalajlama sağladığı kalite ve güven özellikleri sayesinde, hem endüstri hem de araştırmacılar tarafından sıkça çalışılan konular arasındadır. Ambalaj malzemelerine eklenen antimikrobiyal ajanlar, gıda yüzeyinde meydana gelen mikrobiyal bulaşılardan gıdayı koruyarak uzun raf ömrü sağlar (Appendini ve Hotchkiss, 2002; LaCoste vd., 2005). Bu yaklaşım, gıda içerisine yığın halinde çok fazla miktarda antimikrobiyal eklenmesinin önüne geçmiştir. Ambalaj materyalinden kontrollü salınım yaparak gıda yüzeyine geçen antimikrobiyal ajan, gıdanın direk yüzeyine püskürtme, damlatma vb. yöntemlere göre oldukça avantajlıdır. Gıdaya direkt antimikrobiyal ajanın eklenmesi, antimikrobiyal aktivitenin kısa sürede kaybedilmesi, etkin konsantrasyonun rahatsız edici boyutları ve gıdaya fazla miktarda antimikrobiyal ajanın migrasyonu gibi sorunları beraberinde getirmektedir (Vermeiren vd., 2002).

Antimikrobiyal biyo-bazlı ambalajlar, biyo-bazlı polimerlerin içerisine antimikrobiyal ajanların yerleştirilmesi ile elde edilmektedir. Ambalaj materyali içerisine eklenen antimikrobiyal bileşen gıda örneğindeki mikrobiyal yükü azaltarak ya da mikroorganizmaların gelişmesini yavaşlatarak etki göstermektedir (Quintavalla vd., 2002). Biyo-bazlı ambalaj malzemelerinin içerisine antimikrobiyal ajan eklenerek yapılan çalışmalar oldukça fazladır ve 2010 yılından sonra yapılan bazı çalışmalar Çizelge 1.2'de gösterildiği gibi özetlenmiştir.

Çizelge 2.1. Antimikrobiyal biyo-bazlı polimer ambalaj uygulamaları

Antimikrobiyal ajan	Ambalaj materyali	Gıda /substrat	Kaynak
Nano-gümüş	Jelatin	-	Halder vd. (2011)
Laktosin	Buğday gluteni	-	Massani vd. (2014)
Kitosan	Laktoperoksidaz	Balık	Jasour vd. (2014)
Tarçın yağı	Pektin-Papaya püresi	-	Otoni vd. (2014)
Karanfil yağı	Kitosan	Alabalık	Albertos vd. (2014)
Kekik yağı, propiyonik asit	Aljinat	Tavuk eti	Matiacevic vd. (2015)
Kekik ve karanfil yağı	Peynir altı suyu tozu	Kaşar	Kavas vd. (2015)
Kekik	Jelatin-Aljinat	Balık	Kazemi ve Rezaei, (2015)
Uçucu yağ	Kitosan	Pişmiş domuz eti	Ruiz-Navajas vd. (2015)
Sodyum benzoat, potasyum askorbat	Pullulan, kitosan, pektin	Çilek	Treviño-Garza vd. (2015)
Copaiba yağı	PLA	-	Morelli vd. (2015)
Tarçın yağı	PHBV-zein	-	Cerqueira vd. (2016)
Uçucu yağ	PLA-PBS	-	Llana-Ruiz-Cabello vd. (2016)
Kekik yağı	PLA	-	Tawakkal vd. (2016)
Nisin	Selüloz	-	Saini vd. (2016)
Laktoferrin	Bakteriyel selüloz	-	Padrao vd. (2016)
Gümüş-kitosan	PLA	-	Turalija vd. (2016)
Karvakrol	PLA-PHB	-	Visai vd. (2017)
Zeolit	Biyo-bazlı HDPE	-	Torres-Giner vd. (2017)
Propolis	Kitosan	-	Rollini vd. (2017)
Karanfil yağı	Pektin	-	Nisar vd. (2018)

Son zamanlarda, katmanlı nanokompozit materyaller kontrollü salınım uygulamalarında sıkça kullanılmaktadır. Bunun sebebi, katmanlar arasında bulunan aktif ajanın ortama kontrollü bir şekilde salınımını gerçekleştirecek mekanizma polimerin üretim aşamasında kontrol edilebilir düzeydedir (Tajima vd. 2005; Donga ve Feng, 2005).

2.2.2.2. Antioksidan özellik

Antioksidan özellikli ambalaj malzemeleri antioksidan özellik gösteren bileşenlerin ambalaj materyallerine eklenmesi ile elde edilen aktif ambalajlama sistemlerinden birisidir. Gıda ürünlerinde bozulmalardan sorumlu reaksiyonların başında oksidasyon kaynaklı bozulmalar gelmektedir. Ürünün ambalajlanmasında kullanılan ambalaj materyali (oksijen, su buharı vb. geçirgenlik), ambalajlama şekli (hava boşluğu) ve gıdanın bileşimi (yağ bakımından zengin) gibi değişkenler gıdanın bozulma sürecinde rol oynamaktadır. Özellikle yağ bakımından zengin gıdalarda oksidasyon, acılaşma gibi sorunlar gözlenirken, oksijen geçirgenliği yüksek ambalajlarla ya da tepe boşluğunda fazlaca oksijen bulunan ambalajlarla ambalajlanan gıdaların hem aerobik mikrobiyal gelişime hem de oksidasyona maruz kalarak bozulması söz konusudur. Bunun yanı sıra, gıdalarda kullanılan sentetik antioksidanların kullanımına sınırlama getirilmesi ambalaj malzemelerinin içerisinde de doğal antioksidanların kullanımını arttırmıştır. Biyo-bazlı ambalaj malzemelerinin içerisine doğal antioksidan ajan eklenerek yapılan çalışmalar oldukça fazladır ve 2007 yılından sonra yapılan bazı çalışmalar Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. Antioksidan biyo-bazlı polimer ambalaj uygulamaları

Antioksidan ajan	Ambalaj materyali	Gıda/substrat	Kaynak
Biberiye ve kekik ekstraktı	Jelatin/Kitosan	Balık	Gomez-Estaca vd. (2007)
α - tokoferol	Jelatin	Domuz yağı	Jongjareonrak vd. (2008)
Uçucu yağlar	Kitosan ve selüloz türevleri	Balkabağı	Ponce vd. (2008)
Kekik	Soya proteini izolatu	-	Pruned vd. (2008)
Tarçın yağı	Kitosan	Alabalık	Ojagh vd. (2010)
Bektaşı üzümü ekstraktı	Kitosan	-	Mayachiew ve Devahastin, (2010)
Yeşil çay ekstraktı	Kitosan	-	Siripatrawan vd. (2010)
Kiraz ve mango püresi	Nişasta	-	Souza vd. (2011)
Üzüm çekirdeği ekstraktı	Kitosan	-	Moradi vd. (2012)
Yeşil çay, Palm yağı ekstraktı	Nişasta	-	Perazzo vd. (2014)
Kuersetin	Nişasta bazlı polyesterler	-	Elisabetta vd. (2014)
Yerba ekstraktı, mango püresi	Nişasta	Palm yağı	Batista-Reis vd. (2015)
Uçucu yağ	PLA	Alabalık	Javidi vd. (2016)
Tanen	Soya proteini	-	Wang ve Wang, (2017)
Piperidin	PLLA	-	Haema vd. (2017)
Karvakrol	PLA-PHB	-	Burgos vd. (2017)
Prosiyanidin	Jelatin-Kitosan	-	Ramziia vd. (2017)
Pirinç ekstraktı	Karboksimetil selüloz	-	Rodsamran ve Sothornvit, (2018)
Meyan kökü	Soya proteini	-	Han vd. (2018)

Kullanılan pek çok katkı maddesi içerisinde, üzerine en çok araştırma yapılan bileşikler fenolik bileşiklerdir. Çünkü fenolik bileşikler hem antioksidan hem de antimikrobiyal aktiviteye sahip çok fonksiyonlu özellikler göstermektedir (Furiga vd., 2009). Son zamanlarda, zerdeçal, ferulik asit, gallik asit, kuersetin ve tannik asit gibi fenolik bileşenlerin kitosan gibi biyo-bazlı polimer filmlerin yapısına olan etkileri üzerine yapılan çalışmalar artış göstermiştir (Liu vd., 2016; Mathew ve Abraham, 2008; Rubentheren vd., 2015; Souza vd., 2015; Sun vd., 2014). Bazı araştırmacılar, fenolik bileşenlerin, mekanik özellikleri geliştirmek

amacıyla çapraz bağlama ajanı olarak kullanılabilceğini (Mathew ve Abraham, 2008) ya da kırılmalık özelliklerini geliştirmek için plastifiyan olarak kullanılabilceğini göstermiştir (Sun vd., 2014).

Doğal antioksidan olarak kullanılan pek çok bileşik bulunmaktadır ve bu bileşenler arasında üzüm sanayi atığı olan ve fenolik bileşiklerce zengin bir madde olan üzüm çekirdeği ilgi çekmektedir. Üzüm çekirdeği gibi antioksidan aktiviteye sahip bileşenlerin ambalaj materyaline eklenmesi, bu materyallerin fonksiyonel özelliklerini geliştirerek yağ içeriği yüksek olan gıdaların korunmasında bu ambalaj sistemlerinin kullanımına olanak sağlar. Bu şekilde antioksidanların kullanımı ile yağ oksidasyonu önlenmektedir (Gutierrez vd., 2008; Ahn vd., 2008). Üzüm çekirdeği %40 lif, %16 yağ, %11 protein ve %7 kompleks fenolik madde içeriği ile gıda endüstrisinde kullanım potansiyeline sahip bir ürün olup gıdanın besinsel değerini ve kalitesini geliştirebilecek özelliklere sahip doğal bir antioksidandır (Kim vd., 2006). Gıda işlemede üzüm çekirdeği ekstraktlarının çeşitli gıda ürünleri için oksidasyonu yavaşlattığı belirtilmektedir (Banon vd., 2007; Brannan, 2009; Rababah vd., 2006).

Üzüm çekirdeği ekstraktları (GSE) fenolik asitlerden en çok gallik asit, kateşin, epikateşin ve prosiyanidin gibi fenolik maddeler içermektedir (Monagas vd., 2003). Bu polifenolik bileşenler, hem antioksidan hem de antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Furiga vd., 2009). Bazı çalışmalarda, GSE doğal aktif ajan olarak, CH filmlere aktif özellik kazandırmak amacıyla başarılı bir şekilde CH film yapısıyla kombine edilmiştir (Moradi vd., 2012; Ferreira vd., 2014). Alves vd. (2018) GSE ve karvakrol içeren CH filmlerin somon balığının buzdolabı koşullarında depolama sırasında raf ömrünü arttırdığını göstermiştir.

2.3. Biyo-bazlı Ambalaj Materyallerinin Özelliklerinin Geliştirilmesi

Biyo-bazlı polimerler üzerine yapılan araştırmaların sayısı her geçen gün artış gösterse de gıda ambalaj uygulamaları için kullanımı hala kısıtlıdır (Petersen vd., 1999). Yapılan bazı çalışmalar, kısa zincirli polimerlerin, biyobozunur özellikleri nedeniyle kısa raf ömrüne sahip ürünlerin buzdolabı koşulları altında saklanması

koşuluyla kullanılabileceğini göstermektedir. Potansiyel uygulamalar arasında, hızlı tüketim tarzı salataların, yumurta kartonlarının, taze ya da minimum işlem görmüş meyve-sebzelerin, yoğurt gibi süt ürünlerinin ya da organik ürünlerin ambalajlaması olabileceği gösterilmektedir. CO₂/O₂ geçirgenlik oranı oldukça yüksek olan biyo-bazlı polimerler solunum yapan taze meyve-sebzelerin ambalajlanmasında kullanılmak için oldukça uygundur.

Biyo-bazlı ambalaj materyallerinin gıda ambalajlama alanında kullanımını kısıtlayan ana faktörler bu polimerlerin düşük performansları ve yüksek maliyetleridir. Kırılabilirlik, uzun süreli işleme koşullarına dayanıklı olmamaları, özellikle su bariyer özelliklerinin iyi olmaması ve mekanik dirençlerinin yüksek nem ortamında düşmesi bu polimerlerin kullanım alanını kısıtlamaktadır. Son zamanlarda üretim hacminin biraz daha artırılması ile maliyetler düşmeye başlasa da bu polimerlerin doğada yeteri kadar bulunmamaları üretim hacmini tekrar kısıtlayacaktır.

Biyo-bazlı polimerlerin özellikleri, alüminyum ile metalizasyon, ince organik ya da inorganik (silikon oksit, alüminyum oksit ve elmas benzeri karbon gibi) katmanlarla kaplama ve nano dolgu maddeleri ilave etme gibi yöntemler kullanılarak geliştirilebilir. Örneğin, SiO_x ile kaplama ticari olarak en çok kullanılan teknolojidir ve PLA şişelerin kaplanması, PLA'nın su buharı geçirgenliğinin %60 oranında düşürüldüğü gösterilmiştir. Poli(propilen karbonat) (PPC), düşük camsı geçiş sıcaklığına (T_g) sahip amorf bir polimerdir ve kristalin biyobozunur polimerlerle, polimer karışımları hazırlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu şekilde, PPC'nin yüksek sıcaklıklarda mekanik dayanımı artırılmaktadır. PLA ve PBS gibi kristalin biyobozunur polimerlerin pek çoğu bu amaçla kullanılmaktadır (Qin ve Wang, 2010).

2.3.1. Biyo-bazlı polimerlerin sentetik polimerlerle kombinasyonu

Gıda ürünlerinin ambalajlanmasında en çok kullanılan materyaller sentetik polimerlerdir. Ancak, günümüzde biyo-bazlı polimerlerin biyobozunurluk gibi özelliklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yüzden, yeni polimerik malzemelerin

üretiminde kullanılan yöntemlerden bir tanesi de sentetik polimerlerin biyo-bazlı polimerlerle kombine edilmesidir. İki ya da daha fazla polimerin birleşiminden oluşan materyaller mekanik ve bariyer özelliklerinde sağlanan gelişimler nedeniyle oldukça ilgi görmektedir (Sionkowska, 2011). Biyo-bazlı polimerler biyobozunurluk özellik gösterirken sentetik polimerler, üretim aşamasında bir başlatıcı kimyasala ihtiyaç duyar ve çok fazla safsızlık içerir. Ancak, sentetik polimerler biyo-bazlı polimerlerle karşılaştırıldığında oldukça iyi mekanik, ısıl ve bariyer özelliklere sahiptir. Biyo-bazlı polimerlerin kullanım alanları kısıtlı olmasına rağmen sentetik polimerler pek çok farklı şekil ve özellikte üretilebilir. Örneğin, biyo-bazlı polimerler yüksek sıcaklıklar altında tüm özelliklerini kaybederek yapıları bozulmaktadır. Biyo-bazlı polimerler ve sentetik polimerlerin karışımından oluşan yeni polimerlerin hem mekanik-ısıl-bariyer özellikleri iyi olmalı hem de biyo-bazlı polimerin özelliklerini taşıyabilmelidir. Gıda ambalajlama alanında polimer kombinasyonlar için en çok kullanılan biyo-bazlı polimerlerin başında nişasta ve kitosan gelmektedir. Sentetik ve biyo-bazlı polimerlerin kombinasyonlarını hazırlamak için bu polimerlerden oluşan karışımlar ya da bu polimerleri içeren çok katmanlı yapılar üretilmekte ve bu yeni sınıflara nano dolgu ya da aktif bileşenler eklenerek çok fonksiyonlu yeni polimer sınıfları üretilmektedir.

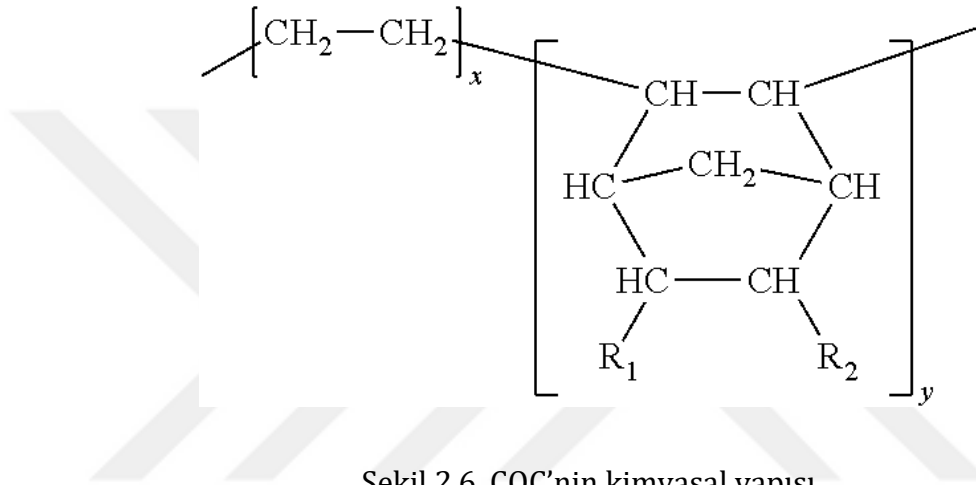
Bu kısımda, sentetik polimerlerden olan siklik olefin kopolimer (COC)'in de gıda ambalajlama materyali olarak kullanılma potansiyeli üzerinde durulmuş ve açıklama yapılmıştır.

2.3.1.1. Siklik olefin kopolimerler

Gıda ambalajlama materyali olarak kullanılan polimerlerin özelliklerini geliştirme üzerine yapılan çalışmalar hala devam etmektedir, ancak yaygın olarak kullanılan bu materyallerin bazı özellikleri iyileştirilememektedir. Siklik olefin kopolimerler (COC) saydamlık, kimyasal direnç, düşük kırılgenlik, düşük spesifik ağırlık ve düşük su alımı gibi mükemmel kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptir (Liu vd., 2007). Bu sayede COC pek çok uygulama alanında kullanılmasına rağmen gıda uygulamaları ile ilgili çalışmalar oldukça azdır. Poliolefin bazlı COC'nin gıda

ambalaj materyali olarak kullanımı yeni ancak geliştirilmesi ve aktif ambalaj haline getirilmesi konusunda çalışmalar mevcut değildir.

Genel amaçlı poliolefin materyallerin performans karakteristiklerinin mühendislik plastikleri olarak pratik kullanım seviyesine getirecek derecede geliştirilmesi için modifiye edilmesi hem endüstride hem de araştırma alanında üzerinde durulan bir başlıktır. COC, siklik olefin monomer ve eten bazlı yeni bir polimer sınıfından oluşturmaktadır (Shin vd., 2005) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. COC'nin kimyasal yapısı

COC cam gibi parlak bir görünüme, düşük yoğunluğa, yüksek ısıl eğilme sıcaklığı, yüksek dayanım, düşük kopma esnemesi, yüksek rijidite, iyi yüzey sertliği ve mükemmel elektriksel özelliklere sahiptir (Çizelge 2.3). Bunların yanı sıra, oldukça saftırlar ve mükemmel su buharı bariyer özellikleri ve düşük nem absorpsiyonu gösterirler. Bu materyaller, enjeksiyon kalıplama, üfleme ya da ekstruzyon sırasında oldukça iyi akar, şrinklenir ve eğrilir.

Çizelge 2.3. Siklik olefin kopolimerlerin özellikleri

Fiziksel/Mekaniksel özellikler	Değer
Yoğunluk (g/cc)	1.02
Su absorpsiyonu (%)	<0.01
Su buharı geçirgenliği (g/m ² /gün)	0.02-0.04
Çekme gerilimi (psi)	9570
Kopma kuvveti (%)	3-10
Çekme modülü (kpsi)	377-464
Isıl eğilme sıcaklığı (°C)	75-170
Camsı geçiş sıcaklığı (°C)	80-185
Eriyik akış indeksi (g/10 dk)	4-56 (Tg değerine göre değişir)
Kalıp çekmesi (%)	0.6-0.7
Optik özellikler	
Işı geçirgenliği (%)	92
Refraktif indeks (587.6 nm'de)	1.533
Abbe sayısı	56
Işıl esneklik (mm ² /n)	6x10 ⁻⁷
Bulanıklık (%)	<1
Çift kırınım	Düşük
Elektriksel özellikler	
Dielektrik sabiti (60 Hz'de)	2.35
Karşılaştırmalı izleme indeksi (volt)	>600
Hacim öz direnci (ohm-cm)	10 ¹⁶
dielektrik çökümü (kV/mm)	30
Dielektrik kayıp (60 Hz'de, %)	<0.02

Veriler Ticona Topas COC, 8007, 5013, 6013, 6015, 6017 kodlu ürün gruplarını kapsamaktadır (Anonim, 2017).

Siklik olefin kopolimerlerin camsı geçiş sıcaklığı norbornon miktarı ile ayarlanabildiği için, spesifik uygulamalarda kullanılmak üzere pek çok farklı türde ticari siklo olefin kopolimer bulmak mümkündür. Boyutsal dayanımı arttırmak amacıyla poliolefinik materyal siklo olefin kopolimerlerle son zamanlarda karıştırılmaktadır.

COC'nin, yüksek transparanlık, kimyasal direnç, düşük kırılma, düşük özgül ağırlık ve suya afinite göstermemesi gibi özellikleri (Liu vd., 2007) bazı araştırmacıların COC'yi polietilen (Kolarik vd., 2005) ve polipropilen (Pegoretti vd., 2003) gibi polimerlerin mekanik (Johan vd., 2011), ısıl özelliklerini (Samarzija vd., 2011) ve reolojik davranışını (Vaziri vd., 2011) geliştirmek için kullanmasını sağlamıştır. Kolarik vd. (2003) ve Pegoretti vd. (2003) polipropilen-

siklo olefin kopolimer karışımı (PP/COC); Kolarik vd. (2006) ve Pimbert, (2003) yüksek yoğunluklu polietilen-siklo olefin kopolimer karışımı hazırlayarak karakteristik özelliklerini incelemişler ve COC eklemenin sonuç materyalinin mekanik özelliklerini nasıl etkilediğini belirlemişlerdir. PP/COC karışımı Pimbert, (2003) tarafından da çalışılmış ve PP malzemenin kristalizasyonunun gelişmesi için mikro dağılmış fazın karakteristiklerinden ne kadar fazla etkilendiğini bulmuştur. Aynı zamanda PP/COC karışımları çalışılmış ve COC komponentin fibröz morfolojisinin yaygın olmayan oluşumunu gözlemlenmiş (Slouf vd., 2004). Benzer şekilde diğer termoplastik kırılğan polimerlerde olduğu gibi, pristin COC yapısına az miktarlarda elastomerlerin eklenmesi ile darbe dayanımı geliştirilebilir. Khanarian, (2000) COC nin orijinal optik geçirgenliği değişmeksizin sertliğinin az miktarlarda stiren-bütadien-stiren (SBS) ilavesi ile geliştirilebileceği üzerine bir çalışma sunmuştur.

2.3.1.2. Polimer harmanlar

Sentetik polimerler, uzun zamandır, en iyi özelliklere sahip yeni polimer sınıflarını oluşturmak için birbirleriyle karışım halinde kullanılmaktadır. Genel olarak, biyo-bazlı polimerler sentetik olanlara göre daha maliyetli olsa da kitosan gibi bazı biyo-bazlı polimerler doğada oldukça fazla bulunduğu için az maliyete üretilebilme potansiyeline sahiptir.

Biyo-bazlı polimer ve sentetik polimerlerin, çok yönlü bir materyal olarak üretilebilmesi için en iyi şekilde birleştirilmeleri gerekmektedir. İki polimer, eriyikte karıştırma ile birleştirilebilir ya da aynı çözücü içerisinde çözüldürülerek birleştirilebilir. Bu alanda en çok potansiyele sahip metot yüksek basınç ve kayma gerilimi altında polimerlerin birbirleriyle birleşmesini sağlamaktır. Bu koşullar altında, polimerler akışkan hale getirilip birleştirilmektedir (Rogovina ve Vikhoreva, 2006). Ancak, yüksek basınç altında eriyik hale getirme protein bazlı polimerler için uygun değildir. Yüksek basınç ve sıcaklık proteinlerin denatüre olmasına ve biyopolimer yapının bozulmasına neden olacaktır.

Aynı çözücü kullanılarak polimerlerin karıştırılması işlemi ile proteinlerin denatürasyonunun önüne geçilebilir ancak, biyo-bazlı polimerlerin çoğu her çözücü içerisinde çözünmemekte veya daha kısa zincirli formlarına hidrolize olmaktadır. Biyo-bazlı polimerin çözücü problemi aşıldıktan sonraki adım ise hangi sentetik polimer ile birleştirileceğinin belirlenmesi adımıdır. Bu aşamada hem sentetik polimerin hem de biyo-bazlı polimerin tüm özellikleri hakkında detaylı bilgi sahibi olunmalıdır. Her iki polimerin de uygun çözücü kullanılarak çözündürülmesinden sonra, bu polimerlerin çözücü içerisindeyken birbirleri arasındaki etkileşimlerin de anlaşılması gerekmektedir. İki polimerin birbiriyle karışması durumu oldukça önemli bir parametredir. Her polimer aynı çözücüde çözünse bile birbiriyle karışmayabilir. Polimerlerin birbiriyle karışıp karışmayacağını belirleyen bazı önemli metotlar bulunmaktadır:

- Karışımların optik homojenliğini belirleyen yöntemler,
- Camsı geçiş sıcaklığının belirlendiği yöntemler,
- Moleküler seviyede etkileşimlerin doğrudan belirlendiği yöntemler,
- Karışımların dolaylı olarak belirlendiği yöntemler

Bu yöntemlerden bazıları hem zaman alıcı hem de maliyetli olabilmektedir. Bu yöntemler arasında en çok kullanılan teknik polimerlerin her birinin camsı geçiş sıcaklığını (T_g) belirlemektir. Çünkü T_g , polimerin amorf fazına işaret etmektedir. T_g 'yi belirlemek için kullanılan yaygın metot diferansiyel taramalı kalorimetredir (DSC). DSC diyagramları kullanılarak polimer karışımların makro uyumlulukları belirlenebilir. Ancak, biyo-bazlı polimerlerin T_g değerlerini DSC diyagramları kullanarak belirlemek oldukça zordur, bazı biyo-bazlı polimerler ise T_g değerine sahip değildir.

Kitosan ve hidrofilik karakterdeki pek çok sentetik polimer karışım halinde elde edilmeye çalışılmıştır. Bunlardan en önemlileri poli(vinilalkol) (PVA), polietilenoksit (PEO) ve poli(vinilpirolidon) (PVP)'dir (Khor ve Lim, 2003; Khoo vd., 2003). Yapılan çalışmalarda, PVP ve kitosanın karışabilir olduğu gösterilmiştir. Ancak, PVA kitosan ile uyumlu (harman oluşturabilme) değildir (Khoo vd., 2003). PVA-kitosan polimerleri karışabilir özellikte olmasa da

kitosanın tek başına sahip olduğu özelliklere nazaran daha iyi özellikler gösterdiği belirtilmektedir (Khoo vd., 2003). Kitosan, PEO ile de karışabilir özelliğe sahiptir. Özellikle pH 'ya duyarlı kontrollü salınım çalışmalarında bu iki polimerin karışımının kullanıldığı görülmektedir (Sakurai vd., 2000). Yapılan bazı çalışmalarda ise kitosanın nylon 11 ile çözücü sistem kullanılarak karıştırıldığı görülmektedir (Kuo vd., 2006).

Gıda ambalajlama alanında potansiyele sahip bir diğer polimer olan poli(laktik asit) ve kitosan karışma özelliğine sahiptir. PLA aynı zamanda biyobozunur özellik göstermektedir. Bu iki biyobozunur polimer çözücü kullanılarak karıştırılabilir formdadır (Suyatma vd., 2004). PLA'nın su buharı geçirgenlik özellikleri kitosan ile karşılaştırıldığında daha iyi olduğu için elde edilecek karışım polimerinin bariyer özellikleri daha iyi olacaktır. Ancak, kitosan içerisine PLA'nın eklenmesi mekanik özelliklerde aynı etkiyi göstermemektedir (Suyatma vd., 2004). Kitosan ile karışma özelliğine sahip bir diğer polimer biyobozunur özellikte olan polikaprolakton (PCL)'dur (Haas vd., 2005; Sarasam ve Madihally, 2005). Bazı çalışmalarda, kitosan sadece bir sentetik polimerle karıştırılmamış aynı zamanda üçüncü bir bileşen daha karışıma eklenmiştir. Örneğin, kitosan PCL karışımlarına üçüncü bir bileşen olarak peynir altı suyu izolatu eklenerek kitosanın suya afinitesi azaltılmış (Olabarrieta vd., 2001) veya polietilen glikol eklenerek kitosanın bir başka sentetik polimerle etkileşimi arttırılmıştır (Zeng vd., 2004). Kitosan aynı zamanda, PA 6 ve polilaktat ile çözücü yöntemi kullanılarak karıştırılmaya çalışılmış ancak hiçbir etkileşimin olmadığı gözlenmiştir (Dufresne vd., 1999; Peesan vd., 2005).

2.3.1.3. Çok katmanlı polimerler

Biyo-bazlı polimerlerin tek başına kullanılabilmesi çözülmesi gereken bir problemdir. Bu alanda, biyo-bazlı kaplamaların ya da aktif özellikli iç katmanların oluşturulması kullanılacak en iyi alternatiflerden biridir (Farris vd., 2011). İki katmanlı filmlerin oluşturulması, kullanılan polimer katmanlara bağlı olarak, polimerin hem bariyer özelliklerini hem de mekanik özelliklerini geliştirebilecek en kolay yöntemler arasındadır. İki katmanlı filmler, bir katmanın diğer katman

üzerine uygulanarak elde edildiği filmlerdir (Rivero vd., 2009). İki katmanlı filmlerin, bağlı tek katmanlı filmlerle karşılaştırıldığında mekanik, fiziksel ve bariyer özelliklerinde gelişme olduğu bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Rivero vd., 2009; Pereda vd., 2011).

Biyo-bazlı polimerlerin sentetik polimerlere alternatif olarak kullanılabilmesi için geliştirilmesi gereken özelliklerinin başında suya yüksek afinite göstermeleri gelmektedir. Biyo-bazlı polimerlerin su buharı geçirgenlik özelliklerini ve suya direncini arttırmak için kullanılacak diğer yöntemlerin başında çok katmanlı polimer filmlerin üretilmesi gelmektedir. Biyo-bazlı polimerler biyobozunur özellikteki ve suya daha dirençli polimerlerle ya da sentetik polimerlerle kaplanarak çok katmanlı sistemler elde edilebilir. Bunun için kullanılan yöntemler arasında ko-ekstrüzyon veya çok katmanlı ekstrüzyon ve laminasyon en yüksek potansiyele sahip yöntemler olup çözücü kullanılmayan tek aşamalı üretim sistemlerdir (Yu vd., 2006).

Çok katmanlı ambalaj malzemeleri iki veya daha fazla polimeri tek katmanda birleştirerek yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Yu vd., 2006). Biyo-bazlı polimerlerin kombine edildiği çok katmanlı sistemler biyo-bazlı ambalaj malzemelerinin gıda alanında kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Termoplastik nişasta ve diğer polimerlerin kombine edildiği 3 katmanlı polimer sisteminde biyo-bazlı materyalin suya direncinin arttığı gösterilmiştir (Wang vd., 2000). Laminasyon kullanılarak elde edilen iki katmanlı filmlerin de özelliklerinin geliştirildiği bazı çalışmalarda gösterilmektedir (Rivero vd., 2009; Pereda vd., 2011; Valencia-Sullca vd., 2017). İki katmanlı filmler, aktif özelliklere sahip biyo-bazlı polimerlerin mekanik, bariyer ya da fiziksel özellikleri oldukça iyi bir başka polimer ile kombinasyonunu sağlamaktadır. Rivero vd. (2009)'a göre CH-jelatin bazlı iki katmanlı filmlerin CH ya da jelatin filmlerle karşılaştırıldığında mekanik özelliklerinde ve su buharı geçirgenlik değerlerinde gelişme elde edilmiştir. Benzer şekilde, Pereda vd. (2011), mekanik özellikleri ve bariyer özellikleri gelişmiş CH-jelatin iki katmanlı filmler elde etmiştir. Aynı zamanda, Valencia-Sullca vd. (2017) nişasta-CH iki katmanlı filmlerin ilgili tek katmanlı filmlere göre daha iyi mekanik direnç gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bu

şekilde, aktif özelliklere sahip bir katman ya da biyo-bazlı polimer, mekanik ya da bariyer özellikleri daha iyi olan bir diğer sentetik polimerler birleştirilebilmektedir (Rivero vd., 2009).

2.3.2. Biyo-bazlı nanokompozit ambalaj malzemeleri

Doğal kaynakların giderek azalması ve insanların çevresel sorunlar hakkında daha bilinçli hale gelmesi petrol bazlı plastik materyallerin yerini, gıda uygulamaları için biyo-polimer bazlı nanokompozitler gibi yenilikçi ambalajlama malzemeleri almaya başlamıştır (Han, 2014). Biyo-bazlı nanokompozitler, bir boyutu en az nanometre (1-100 nm) aralığında olan nano partiküllerle zenginleştirilmiş biyopolimer yapılarıdır. Biyo-bazlı nanokompozitler, biyopolimerin ham haliyle ya da mikro ve/veya makro zenginleştirme ajanıyla zenginleştirilmiş halleriyle karşılaştırıldığında çok daha iyi özelliklere sahiptir. Bunun nedeni, nano partiküllerin sahip olduğu yüksek boy/en oranıdır (Sinha Ray ve Bousmina, 2005).

Nanodolgu maddeleri, bir malzeme sınıfı olup metal organik kafesler veya polihedral oligomerik silseskioksan gibi organik-inorganik hibrit yapılarıdır. Organik nanodolgular karbon atomu içeren ve biyokütleden elde edilen dolgu maddeleri olup bu gruba karbon siyahı, selüloz bazlı nanodolgular örnek verilebilir. İnorganik nanodolgular ise kil mineralleri, katmanlı silika (mika grubu) ve diğer katmanlı mineraller olmak üzere karbon atomu içermeyen ancak doğal kaynaklardan elde edilen dolgulardan oluşur. Bu grupta yer alan nanodolgular arasında biyo-bazlı polimerlerle en çok uyum sağlayabilecek potansiyele sahip olan dolgu maddesi nanoselülozik yapılarıdır. Nanoselülozun suda çözünür özellik göstermesi ve doğada yaygın olarak bulunan biyo-bazlı polimerler olan nişasta ve kitosan gibi biyo-bazlı polimerlerle yüksek uyum göstermesi gibi özellikleri bu dolgu maddesinin potansiyelini arttırmaktadır (Khan vd., 2014; Moon vd., 2011). Nanoselüloz (NC) zenginleştirme ajanlarının sahip oldukları yüksek boy/en oranı sayesinde CH, aljinat, karagenan ve nişasta gibi eklendikleri biyo-bazlı polimerlerin bariyer ve mekanik özelliklerini geliştirdiği araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (Azeredo vd., 2010; Khan vd.,

2012; Chang vd., 2010; Huq vd., 2012; Khan vd., 2012; Pereda vd., 2014; Sanchez-Garcia vd., 2010). Khan vd. (2014), NC partiküllerinin polimer içerisinde iyi disperse olduğu zaman yapıya sağlamlık kazandırdığını ve bariyer özelliklerini de geliştirdiğini belirtmiştir. Ayrıca aktif bileşenlerin taşıyıcısı olarak oldukça uygun özelliklere sahiptir (Choi vd., 2009; Andresen vd., 2007).

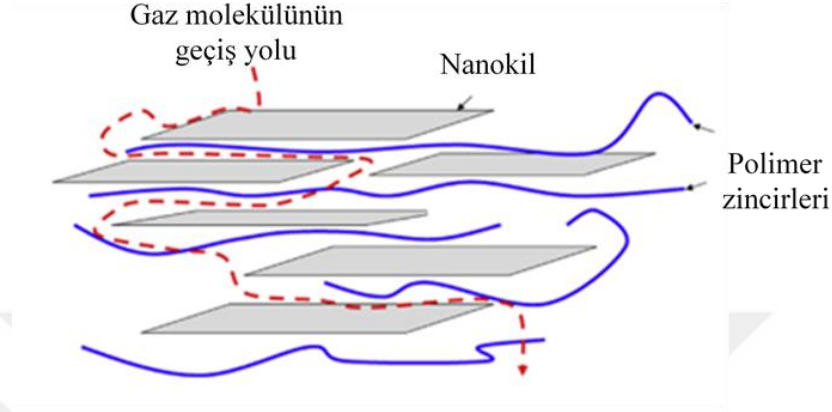
Nanoselüloz kullanılarak elde edilen biyo-bazlı nanokompozit materyallerin sayısı giderek artmaktadır. Bunun yanı sıra, doğal aktif bileşenlerin nano boyutlu dolgu maddeleri ile kombinasyonu bu iki bileşenin sinerjistik etki göstermesini sağlayarak aktif bileşenin etkisini arttırabilmektedir (Choi vd., 2009).

İnorganik dolgu maddelerinden kil mineralleri, simektit grup (montmorillonit, rektorit, saponit vb.), kaolin grubu (kaolinit, haloysit), sepiolit ve vermikülit şeklinde gruplandırılmaktadır (Unalan vd., 2014). Kullanılan nano dolgunun boyutundan kimyasal yapısına kadar her türlü özellik içine eklendiği polimerin bazı özelliklerini değiştirmektedir. Biyo-bazlı nano kompozitlerin sahip olduğu özellikler yapılarıyla doğrudan ilişkilidir. Bu yüzden, gıda ambalajlama uygulamaları için, bariyer, mekanik, ısı, biyobozunurluk, optik ve diğer fonksiyonel özellikleri gibi biyo-bazlı nanokompozitlerin sahip olduğu özelliklerin performansları ölçülmelidir.

2.3.2.1. Biyo-bazlı nanokompozitlerin bariyer ve mekanik özellikleri

Polimer nanokompozitler, su ve diğer gazlara karşı mükemmel bariyer özelliklere sahiptir. Yapılan çalışmalar, bariyer özelliklerinde elde edilen gelişmenin kullanılan nanodolgunun tipi (nanodolgu ve polimer arası etkileşim), en-boy oranı ve nanokompozitin yapısı ile yüksek oranda ilişkili olduğunu göstermektedir. Genel olarak, en iyi bariyer özellikleri yüksek en-boy oranına sahip nanodolgunun polimer matrisi içerisinde çok iyi dağıldığı sistemlerde görülmektedir (Choudalakis ve Gotsis, 2009). Biyo-bazlı nanokompozitlerin bariyer özelliklerinde meydana gelen gelişim, nanopartikülün polimer matrisi içerisinde iyice dağılarak su moleküllerine karşı geçirmezlik sağlayan bir yapı oluşturmaları nedeniyle meydana gelmektedir (Choudalakis ve Gotsis, 2009; Xu

vd., 2006). Nanodolgunun polimer yapı içerisinde sağladığı dolambaçlı yol su moleküllerinin ya da gaz partiküllerinin polimer içerisinde daha fazla yol alarak difüzyon hızını azaltmaktadır (Yano vd., 1993) (Şekil 2.7). Bu sayede, nanokompozitler gıda uygulamaları için daha çekici hale gelmektedir.



Şekil 2.7. Gaz moleküllerinin polimer-kil nanokompozit boyunca izlediği yol (Cussler vd., 1998)

Organokil kullanılarak zenginleştirilen pek çok farklı biyo-bazlı polimerin, %5 gibi az oranlarda dahi, mekanik özelliklerinde büyük gelişmeler kaydedilmiştir. Polimer-kil nanokompozitlerinde polimerin mekanik özelliklerindeki gelişim genellikle eklenen nanokilin miktarı ile ilişkilendirilir. Yapılan pek çok çalışmada nanokillerin uygun miktarda biyo-bazlı polimerlere eklendiği zaman, mekanik özelliklerinde (elastik modül ve kopma geriliminde artma) gelişme görülmüştür (Chivrac vd., 2008; Rao, 2007; Rhim vd., 2011; Rimdusti vd., 2008; Roohani vd., 2008; Tang vd., 2008). Biyo-bazlı polimerlerin mekanik özelliklerinde gözlenen gelişim nanodolgu maddelerinin sahip olduğu yüksek en-boy oranı ve polimer matriks-nano dolgu arasındaki yüksek uyumdan kaynaklanmaktadır.

2.3.2.2. Aktif özellikleri

Genel olarak, ambalaj materyali gıda ya da çevresi ile etkileşime girerek gıdanın raf ömrünü, güvenliğini ve duyu özelliklerini, kalitesini değiştirmeden geliştirmede aktif rol oynuyorsa, aktif ambalaj olarak tanımlanır (Vermeiren vd., 1999). Bu alanda, gıdanın kalitesini korumak, ambalaj kaynaklı çevre kirliliğini

ve atık problemlerini önlemek, güvenli gıda üretmek için pek çok aktif ambalaj materyali geliştirilmiştir. Aktif ambalajlama alanında meydana gelen gelişmeler, oksidasyonun önlenmesi, solunum hızlarının ayarlanması, nem migrasyonu, mikrobiyal gelişimin önlenmesi gibi pek çok alanda kendini göstermiştir. Bu alandaki diğer gelişmeler arasında, karbondioksit absorbe ediciler, koku tutucular, etilen uzaklaştırma ajanları, aroma tutucular gibi aktif ambalaj materyalleridir. Bu teknolojiler arasında, oksijen tutucular, nem absorbanları ve bariyer özellikli ambalaj materyalleri marketin %80'ini oluşturmaktadır.

Oksijen pek çok gıdanın doğrudan veya dolaylı yoldan bozunma sebebidir. Direk oksidasyon reaksiyonları meyvelerin esmerleşmesi, bitkisel yağların acılaştırılması şeklinde olabilir. Dolaylı yoldan bozunma ise örneğin aerobik mikroorganizmaların aktiviteleri sonucu oluşan oksijenden kaynaklanabilir. Oksijen tutucuların gıda ambalajının içerisine eklenmesi ambalaj ortamında oksijen seviyesini düşük tutmada oldukça kullanışlı bir uygulamadır. Bu alanda yapılan çalışmalardan birisi nano boyutlu titanyum oksidin fotokatalitik aktivitesi üzerinedir (Xiao vd., 2004). Bu çalışmada farklı polimerlere eklenen titanyum oksit nanopartiküllerinin başarılı bir oksijen tutucu olduğu ve oksijene duyarlı gıdaların ambalajlanması için uygun olduğu gösterilmiştir. Ancak titanyum oksidin en önemli dezavantajı UVA ışığa ihtiyaç duymasındadır (Mills vd., 2006).

Nano partiküller ambalaj materyaline reaktif partiküller olarak eklenebilir. Nano sensörler çevresel değişimlere (depolama odasındaki sıcaklık ve nem değişimi, oksijene maruz kalma seviyesinde artış), bozunma ürünlerine ya da mikrobiyal kontaminasyona cevap verebilme özelliğindedir (Bouwmeester vd., 2009). Gıdanın raf ömrü, gıdanın dağıtım ya da depolama sırasında maruz kalabileceği etkiler düşünülerek belirlenir. Ancak, hesaplama sırasında kullanılan değerler gerçek durumların ne olabileceğini kesin olarak tahmin edemez. Örneğin, gıda sürekli olarak sıcaklık değişimlerine maruz kalmaktadır ve bu durum özellikle soğuk zincir gerektiren ürünler için bir tehlikedir. Bunun yanı sıra, ambalajdaki mikro kusurlar ya da sızdırmaz ambalajdaki mikroporlar gıdanın beklenmedik derecede yüksek oranlarda oksijene maruz kalmasına neden olacak ve

beklenmedik değişiklikler meydana gelecektir. Nano sensörlerin gıda ambalajına eklenmesi ile oluşabilecek kimyasal bileşenler, patojenler ve toksinler belirlenebilecek ve bu şekilde oluşmasına karşı önlem almaktan çok daha faydalı ve gerçek bir yöntem geliştirilmiş olur (Liao vd., 2005).

Oksijen, aerobik mikroorganizmaların gıdanın depolanması esnasında gelişimine izin verir. Azot veya vakum altında paketlenme gibi oksijensiz ambalajlama sistemlerinde oksijen olup olmadığını belirlemek amacıyla geri dönüşümsüz ve toksik olmayan oksijen sensörlerinin geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmalar artmaktadır. Lee vd. (2005) yaptıkları çalışmada UV ile aktive olan, oksijen varlığında mavi renkli, oksijen yokken renksiz olabilen titanyum oksit nano partikülleri kullanarak oksijen sensörü geliştirmiştir. Bu çalışmada, rengin değişme hızı oksijene maruz kalma hızı ile doğru orantılıdır. Gutiérrez-Tauste vd. (2007) SnO_2 nano kompozit filmleri sıvı halde çöktürme yöntemi ile cam üzerine kaplamışlar ve bu yöntemin oksijene duyarlı gıdalar için oksijen indikatörü olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir. Mills ve Hazafy (2009) nanokristal SnO_2 partikülleri ışık duyarlı kolorimetrik O_2 indikatörü olarak kullanmış ve UVB ışık altında ambalaj filmin oksijen varlığına göre renk değiştirdiğini (oksijene maruz kalınca mavi, oksijensiz ortamda renksiz) göstermiştir.

Ambalaj materyalinin mikrobiyolojik kontaminasyonu büyük olasılıkla taşıma, depolama ya da satış alanında tutma sırasında gerçekleşmektedir. Genel bir kural olarak, taze bir gıda ürününün mikrobiyal yükü ambalaj boyunca yayılan miktarda artmaktadır. Ancak, biyobazlı ambalaj materyallerinin kendisinden kaynaklı potansiyel mikrobiyal etkiye de dikkat edilmelidir. Gıda ambalajlamada kullanılan biyonanokompozitler benzoik asit, sorbik asit veya bunların ilgili sodyum tuzları kullanılarak korunabilir (Tharanathan, 2003).

Bazı nanopartiküllerin ya da nano kompozitlerin antimikrobiyal fonksiyonu, gelişimi engelleyici etki (Cioffi vd., 2005), antimikrobiyal ajan, antimikrobiyal taşıyıcı (Bi vd., 2011) ya da direk ambalaj filmi olma (Rhim vd., 2006) özellikleri

bakımından ve farklı sektörler (Quintavalla vd., 2002) açısından oldukça fazla çalışılan bir konudur.

Nanokompozit antimikrobiyal sistemler sahip oldukları yüksek alan-hacim oranı sayesinde oldukça etkindir ve nano boyutlu antimikrobiyal ajanın yüzey reaktivitesi mikroorganizmaların daha etkin bir şekilde inhibe edilmesini sağlamaktadır (Damm vd., 2008). Antimikrobiyal etki oluşturmak için nano kompozitlerde yaygın bir şekilde kullanılan bileşenler; metal iyonları (gümüş, bakır, altın, paladyum), metal oksitler (TiO₂, ZnO, MgO), organik modifiye nanokiller (Ag-zeolit, montmorillonit), doğal biyopolimerler (kitosan), doğal antimikrobiyal ajanlar (nisin, timol, karvakrol, antibiyotik), enzimler (peroksidaz, lizozim) ve sentetik antimikrobiyaller (EDTA, benzoik, propiyonik asit). Bu materyallerin tek başına ve kombinasyon şeklinde kullanıldığı çalışmalar mevcuttur.

Polimerik materyallere fonksiyonellik kazandırmak için kullanılan pek çok nanopartikül arasından gümüş nanopartikülleri özgün ambalaj malzemelerinin geliştirilmesinde en yaygın kullanılan materyaldir. Bunun nedeni, optik, elektrik, katalitik özellikler, termal stabilite ve antimikrobiyalite gibi üstün özellikler sağlamasıdır (Dallas vd., 2011). Özellikle gümüş nanopartiküllerinin antimikrobiyal özellikleri (geniş bir yelpazede bakteri, virüs ve küflere karşı etki gösterir) kullanılarak ambalajlama gibi pek çok alanda uygulaması bulunmaktadır (Russell ve Hugo, 1994).

Bakır iyonları mikroorganizmaları ve virüsleri yok eder ve bakır metalik enzim bileşeni olarak yaşam için zorunludur. Bakır, hayvan vücudunda birikmediği sürece güvenli sayılır ve ileri hayvanlarda sağlık üzerine olumsuz etkilere neden olabilir. Yapılan bir çalışmada, stabilize bakır nanopartikülleri içeren ve antifungal/bakteriyostatik etkilere sahip nanokompozit bazlı bir gıda ambalaj polimeri geliştirilmiştir. Ancak, bakır genel olarak gıda ambalaj sanayinde kullanılmamaktadır. Çünkü gıda ile temasta bulunduğu toksik olduğu belirtilmiş ve oksidasyona katalitik etkisi nedeniyle gıdalardaki biyokimyasal bozulmayı hızlandırmaktadır (Fernández vd., 2010).

TiO₂, ZnO ve MgO gibi metal oksitleri, sahip oldukları yüksek aktivite ve diğer organik antimikrobiyal ajanlarla karşılaştırıldığında sahip olduğu yüksek stabilite sayesinde antimikrobiyal ambalajlama filmlerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Özellikle bu belirtilen metal oksitler, bir ışık kaynağından enerji absorbe ederek katalitik aktivite oluşturması sayesinde foto katalizör olarak kullanılmaktadır. Bir foto katalizör ultraviyole radyasyona maruz bırakıldığında oldukça reaktif oksijen türleri üretilir ki bu durum onların antimikrobiyal aktivitelerinin mekanizmalarından birisi olduğunu gösterir (Dong vd., 2011). ZnO nanopartiküllerinin cam yüzeyine çöktürme yöntemi kullanılarak kaplama yapıldığı bir çalışmada, bu ürünün hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterilere karşı etki gösterdiği belirtilmiştir (Applerot vd., 2009).

Mineral killerin biyosid taşıyıcı olarak kullanımı üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmaların arasında en çok Ag, Cu, Zn, Mg gibi inorganik biyositlerin taşındığı çalışmalar bulunmaktadır. Biyosidal metaller kil yapısı içerisine, iyon değişimi yoluyla iyon yükü kazandırmak için eklenmektedir. Alternatif olarak nötral metallerin nanopartikülleri kil içerisinde, kile yüklenen metal tuzların indirgenmesi yoluyla oluşturulabilir (Rhim vd., 2006). Nanokiller aynı zamanda, antimikrobiyal fonksiyon sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır. Magnezyum filosilikatın kullanıldığı bir çalışmada *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* türlerinin etkin bir şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir (Chandrasekaran vd., 2011). Bu çalışmada kullanılan nanokilin mikrobiyal gelişimi inhibe etme mekanizması amino grupları ile bu grupların yük etkileşimi sonucu hücrenin membran bütünlüğünün bozulması ve esansiyel bileşenlerin hücre tarafından alınamamasıdır.

2.3.2.3. Biyo-bazlı nanokompozitlerin gıda ambalajlama uygulamaları

Biyo-bazlı nanaokompozitlerin özelliklerinde meydana gelen önemli gelişmeler, bu materyallerin işlenmiş et, peynir, şekerleme, tahıllar, gevrekler, ambalajlı olarak işlenen gıdalar, meyve suları, karbonatlı içecekler, bira, süt ürünleri gibi gıda ürünlerinde kullanım potansiyelini arttırmaktadır (Smolander ve Chaudhry, 2010). Gıda kalite ve güvenliğinde meydana gelen gelişimler, gerekli olan ambalaj

miktarını azaltacaktır. Çünkü aynı bariyer ya da mekanik özelliklere sahip daha az ambalaj materyali kullanılmaya başlanacaktır. Bu durum, sonrasında ambalaj maliyetlerinin azalmasını daha az ambalaj atığının çıkmasını sağlayacaktır. Raf ömrünün gelişmesi (artması) ve düşük ambalaj maliyetleri, üreticiler tarafından nanokompozitlerin tercih edilmesinin ana sebebi haline gelmiştir. Nanokompozitler, günümüzde gıda ambalajlama alanında bazı potansiyel uygulamalara ve gelişmelere sahiptir (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4. Nanokompozitlerin gıda ambalajlama alanındaki potansiyel uygulamaları (Han, 2015)

Ürün özelliği	Uygulama alanı
Mekanik, ısı, bariyer özellikleri geliştirilmiş ambalaj materyali	Raf ömrünü arttırma, ambalaj atık miktarını azaltma, dozaj azaltma
Isıl stabilite	Isıya dayanım, boyut stabilitesi
Optik özellikler	Ambalaj içerisini görme, UV-görüntüleme ambalajları
Biyobozunurluk	Gelişmiş biyobozunurluk, çevre dostu ambalajlama sistemleri
Aktif ambalaj	Raf ömrünü arttırma, oksijen tutucular, antimikrobiyal ambalajlama sistemleri
Akıllı ambalaj	Çevre ile etkileşim, kendi kendini onaran ambalajlama sistemleri
Kontrollü salınım	İlaçlar, biyoaktif bileşenler
Ürünün durumunu görüntüleme	Zaman-sıcaklık indikatörleri, tazelik indikatörleri, sızıntı indikatörleri, gaz detektörleri
Nanosensör	Gıda kalitesi belirleyici, mikrobiyal veya biyokimyasal değişimleri haber verme
Nanokaplama	Baz ambalaj materyalinin yüzey özelliklerini geliştirme
Antimikrobiyal	Aktif antimikrobiyal, antifungal yüzeyler
Ürün üzerinde bilgi	Radyo frekansları ile tanımlama (RFID), nano-barkod, ürün aslı/menşei

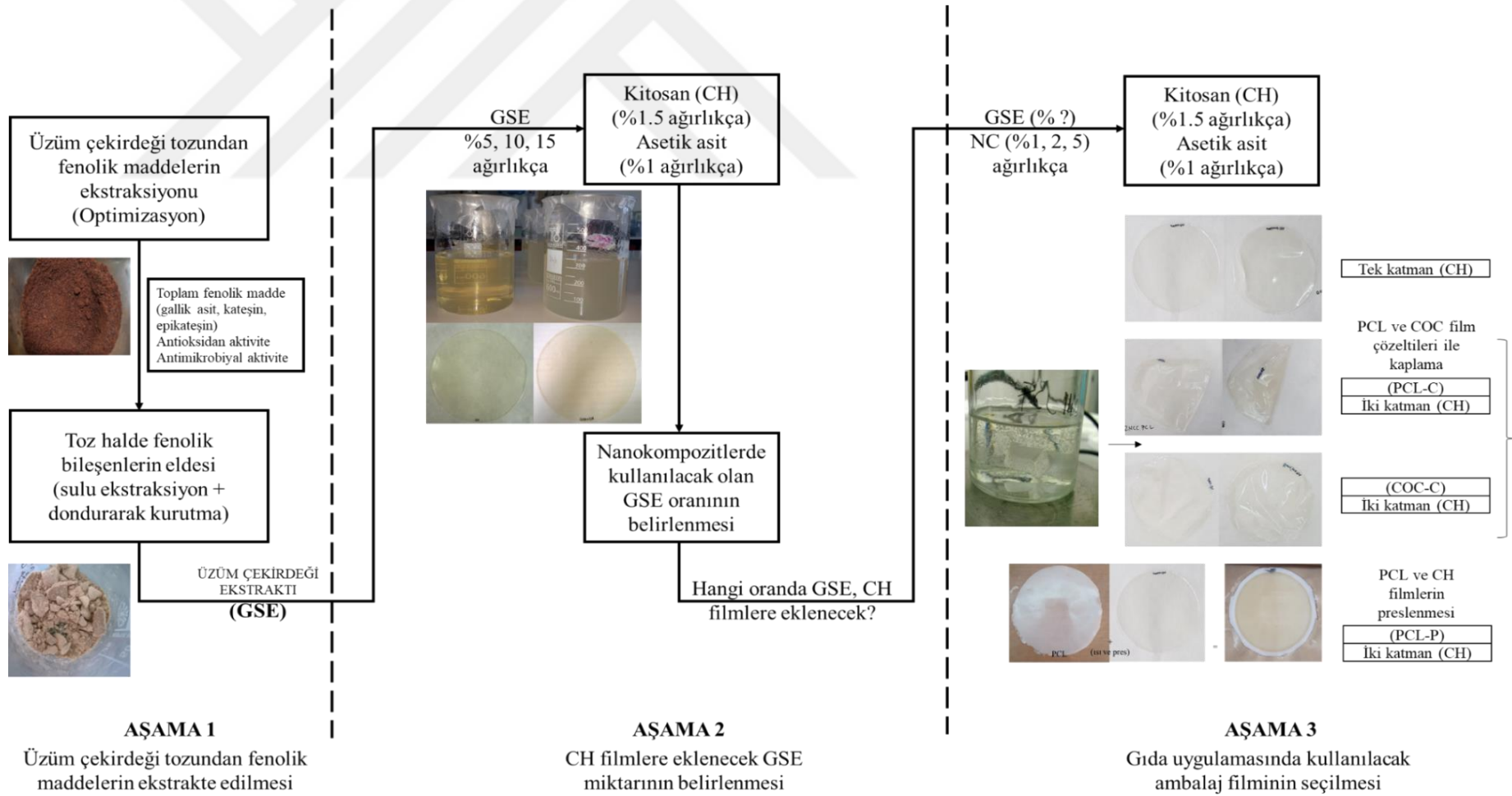
Nanokompozit uygulamalarında kullanılan pek çok polimer termoset ve termoplastik polimerlerden oluşmaktadır. Ancak, biyo-bazlı nanokompozitler için her ne kadar pek çok çalışma bulunsada, maliyetleri oldukça yüksek ve büyük ölçeklerde uygulanabilirliği azdır. Aynı zamanda, nanopartiküllerin ambalaj materyallerinde kullanımı ile ilgili risklerin var olduğu göz önünde bulundurulmaktadır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışması, birbirini takip eden dört kısımdan oluşmaktadır:

- **1. Aşama**, üzüm çekirdeğinden fenolik bileşenlerin ekstrakte edilmesi (GSE eldesi)
- **2. Aşama**, farklı oranlarda GSE ilave edilen kitosan (CH) filmlerin özelliklerinin belirlenerek, daha sonraki aşamalarda CH nanokompozit filmlere eklenecek en uygun GSE oranının bulunması
- **3. Aşama**, belirlenen oranda GSE içeren CH filmlere %1, 2 ve 5 oranında NC eklenerek nanokompozit filmlerin oluşturulması ve bu filmlerin COC ve PCL filmler kullanılarak iki katmanlı filmler haline getirilmesi. Filmlerin özelliklerine göre en iyi özelliği gösteren filmin gıda uygulaması için seçilmesi
- **4. Aşama**, seçilen film örneklerinin gıda uygulamasında kullanılması

Birinci aşamada, üzüm çekirdeği tozundan aktif bileşenlerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve **ikinci aşamada** ekstrakte edilen aktif bileşenlerin kitosan filmlere hangi oranda ekleneceğinin belirlenmesi için denemeler yapılmıştır. **Üçüncü aşamada**, seçilen aktif bileşen oranı ile nano kompozit filmler üretilerek karakterizasyon analizleri gerçekleştirilerek gıda ambalajlama için kullanılabilir ve istenilen amaca en uygun ambalaj filmi seçilmiştir. Tez çalışmasının en **son aşamasında** ise, üçüncü aşamada seçilen filmler, tavuk göğüs fileto örnekleri için raf ömrü denemelerinde kullanılmıştır. Tez çalışmasını aşamalarını anlatan şematik gösterim Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. İlk 3 aşamaya ait işlem basamakları

3.1. Materyal

Tez çalışmasının birinci aşamasında kullanılan üzüm çekirdeği tozu Denizli'deki yerel bir işletmeden satın alınmış ve analiz süresine kadar -18°C'de saklanmıştır. Ekstraksiyon için kullanılan etanol ve analizler için kullanılan tüm reaktifler analitik saflıkta olup Sigma Aldrich (St. Louis, Missouri, ABD)'ten temin edilmiştir. Kromatografik analizlerde kullanılan asetonitril, HPLC analizlerine uygun saflıkta olup Sigma Aldrich (St. Louis, Missouri, ABD)'ten temin edilmiştir. Kromatografik analiz için kalibrasyon eğrileri kateşin, epikateşin ve gallik asit (Sigma Aldrich, ABD) kullanılarak hazırlanmıştır.

Çalışmalarda kullanılan kitosan (CH, orta moleküler ağırlık, %85 asetilasyon derecesi, 200 cP/%1 asetik asit çözeltisi) Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, ABD)'den temin edilmiştir. Polikaprolakton, (PCL, CAPA 6800) Perstorp Holding AB (İsveç), siklik olefin kopolimer (COC), TOPAS (Frankfurt-Höchst, Almanya), nano-kristal selüloz (NC), BGB Ultra (Kanada) den temin edilmiştir. Magnezyum nitrat ($Mg(NO_3)_2$), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), trikloroasetik asit (TCA), 2-tiyobarbitürik asit (TBA) ve gliserol Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, ABD) den temin edilmiştir. Asetik asit, kloroform ve diğer kimyasallar analitik saflıkta çözücüler olarak film çözeltilerinin elde edilmesinde kullanılmıştır (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD).

3.2. Üzüm Çekirdeği Tozundan Fenolik Maddelerin Ekstraksiyonunun Optimize Edilmesi (1. AŞAMA)

3.2.1. Ekstraksiyon yöntemi

Ekstraksiyon prosesi için katı: sıvı ekstraksiyon tekniği kullanılmıştır. Belirlenen oranlarda üzüm çekirdeği tozu farklı oranlarda karıştırılmış Su: etanol çözücü sistemi ile muamele edilmiştir. Çözücü ile karıştırılan üzüm çekirdeği tozu örnekleri manyetik karıştırıcı vasıtasıyla farklı sürelerde ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen sıvı, katı kısmından vakum altında filtre edilerek ayrılmış ve analiz anına kadar -18°C'de saklanmıştır.

3.2.2. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Üzüm çekirdeği tozu örneklerinin su-etanol ekstraktlarının toplam fenol içeriği Folin-Ciocalteu metoduna göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Singleton vd., 1999). Ekstraktlardan uygun seyreltiler alınarak 0.2 N 5 mL Folin-Ciocalteu ayracı ile karıştırılmıştır. 5 dakikanın sonunda 4 ml (75 g/L) doymuş Na_2CO_3 çözeltisi ilave edilerek karıştırılmış ve oda sıcaklığında 2 saat karanlıkta bekletildikten sonra oluşan mavi rengin absorbansı 765 nm dalga boyunda spektrofotometrik (S-20, Boeco, Almanya) olarak ölçülmüştür. Standart eğri 0.125-2 mg/mL aralığındaki farklı konsantrasyonlara sahip gallik asit kullanılarak elde edilmiştir ($R^2=0.99$). Örneklerin toplam fenol içeriği mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g olarak verilmiştir.

3.2.3. Antioksidan aktivite

Aktif bileşenlerin antioksidan kapasiteleri, oksijen-radikal absorbans kapasitesi (ORAC) testi kullanılarak belirlenmiştir (Huang vd., 2005). Bu yöntemde antioksidan kapasite floresansın bir antioksidan çözelti varlığında indirgenme grafiğinden elde edilen net değerlerin hesaplanmasıyla belirlenir. Peroksil radikal üretici olarak 2,2-azobis(2-amidinopropan) dihidroklorid (AAPH) ya da hidroksil radikal üretici olarak $\text{Cu(II)H}_2\text{O}_2$ ya da geçiş metal oksidantı olarak Cu(I) kullanılır. Bu test yöntemi, serbest radikalın hem inhibisyon süresini hem de inhibisyon oranını (% olarak) antioksidan aktivite sonunda oluşturulan grafiğin altında kalan alanı kullanarak belirlemektedir. Çalışma sonuçları 1 litre test edilen çözelti ile aynı antioksidan aktiviteye sahip μM cinsinden troloks miktarı şeklinde, troloks eşdeğeri olarak verilmiştir.

3.2.4. Fenolik bileşenlerin belirlenmesi

Gallik asit, kateşin ve epikateşinin standart stok çözeltileri 5 mg standardın 10 mL saf suda çözündürülmesi ile hazırlanmıştır. Daha düşük konsantrasyondaki çalışma çözeltileri stok çözeltiden uygun dilüsyonlar yapılarak hazırlanmıştır. Analiz edilecek farklı ekstraktlar analiz öncesi 1:10 kat seyreltme yapıldıktan

sonra 0.45 µm membran filtre kullanılarak filtre edilmiştir. Kromatografik analiz için HPLC sistem LC Solutiom software ile ayırım modülü, pompa, vakum degaz ünitesi ve diode array detektörden oluşmaktadır (Schimadzu, LC-20AD, Japan). Kromatografik ayırım RP-18 kolon (150mmx3mm, 5 µm, Phenomenex, Gemini 5u C18, ABD) kullanılarak izokratik elüsyon ile gerçekleştirilmiştir. Mobil faz, asetonitril (%15, A) ve 50 mM O-fosforik asit-su (%85, B) karışımından oluşmaktadır. Enjeksiyon hacmi 25 µL ve kolon sıcaklığı 30 °C'dir. Kromatografik pikler alıkonma zamanları baz alınarak tanımlanmıştır. Ekstraktlarda bulunan gallik asit, kateşin ve epikateşin konsantrasyonu, ilgili çözelti için hazırlanmış standart eğri ile ekstraktlardaki entegre pik alanları karşılaştırılarak belirlenmiştir. Standartlar için kalibrasyon eğrileri farklı konsantrasyonlardaki standart örnek çözeltilerinin enjekte edilerek alanlarının belirlenmesi ve elde edilen alanların konsantrasyonlarına karşı grafiklerin oluşturulması ile elde edilmiştir. Oluşturulan grafiklerden yararlanılarak örnek ekstraktlardaki miktar belirlenmiştir. Metodun kesinliğini ölçmek için analizler aynı gün içerisinde 2 kere ve farklı 2 günde tekrarlanmıştır. Kalibrasyon eğrilerinden hesaplanan değerler ile nominal konsantrasyonlar arasındaki % fark karşılaştırılarak analizin doğruluğu hakkında bilgi edinilmiştir.

3.2.5. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Escherichia coli (ATCC 26922) ve *Listeria monocytogenes* (ATCC 19115) kültürleri (-18°C'de Gliserol %30+Brain Heart Infusion Broth, (BHI) içerisinde) canlandırılmak üzere BHI sıvı besiyerlerine (100 µL) aktararak arka arkaya 2-3 gün boyunca 37°C/1 gün inkübasyona bırakılmıştır. Geliştirilen kültürlerin gelişimleri *E. coli* ve *L. monocytogenes* için sırasıyla Chromacult Agar (37°C/24 saat) ve Listeria Selective Agar (37°C/24 saat) kullanılarak da incelenmiştir. Geliştirilen kültürlerin konsantrasyonu McFarland standartları kullanılarak dansitometre yardımıyla 10⁵ kob/mL konsantrasyona ayarlanmıştır. 5 log konsantrasyondaki kültürden BHI agar içeren petrilere 200 µL aktarılmış ve besi yerinin mikroorganizmayı tamamen absorbe edilmesi beklenmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktlarından steril koşullarda 25-50 µL alınarak steril disklerle aktarma yapılarak belli bir süre disklerin ekstraktları absorbe etmesi

beklenmiştir. Emdirilmiş diskler kültür inoküle edilen petrilere yerleştirilip belli bir süre beklendikten sonra 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 16-24 saat inkübasyondan sonra disk etrafında mikroorganizma gelişimi gözlenmeyen inhibisyon alan çapları ölçülmüştür. Bunun yanı sıra ekstraktların antimikrobiyal aktivitesinin kalıcı olup olmadığını kontrol etmek amacıyla inkübasyon süresi 48-72 saat uzatılarak inceleme yapılmıştır.

3.2.6. Deneysel tasarım ve optimizasyon

Ekstraksiyon işlemi değişkenlerinin, üzüm çekirdeği tozu örneklerinin toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivitesi, bazı fenolik bileşenleri ve antimikrobiyal aktivitesi üzerine asıl etkileri Yüzey-Yanıt Metodu kullanılarak belirlenmiştir. Çözücü sistem (F1=etanol:su), katı/çözücü oranı (F2) ve ekstraksiyon süresi (F3) bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Bu faktörler ve seviyeleri Çizelge 3.1'de gösterildiği gibidir. İşlem değişkenlerinin aralığı yapılan bazı çalışmalar incelenerek ve yapılan ön denemelerden elde edilen verilere bakılarak belirlenmiştir. Deneme tasarımı, 5 merkez noktası olan 19 denemeli ve 2³ tam faktöriyel tasarıma 5 eksenel nokta ($\alpha = \pm 1.68179$) ile elde edilmiştir. Gözlenen sonuçlardaki açıklanamayan değişimlerin etkileri, deneysel verilerin sırası rastgele dağıtılarak minimize edilmiştir. Her bir cevap için matematik modeller çoklu regresyon analizi ile hesaplanmış ve modelleme, lineer, karesi alınmış ve kesişim terimlerini içeren kuadratik model ile başlatılmıştır. Her bir cevap için önemli terimler varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.1. Bağımsız değişkenler ve faktöriyel tasarım için seviyeleri

Değişkenler	Değişkenlik seviyeleri		
	-1	0	+1
F ₁ çözücü oranı (etanol:su, ml)	60:40	75:25	90:10
F ₂ üzüm çekirdeği tozu oranı (g ÜÇ/ml Çözücü)	0.10	0.15	0.20
F ₃ ekstraksiyon süresi (dk)	32	76	120

Endüstriyel proseslerin optimizasyonunda ürünün kalite karakteristiklerini tanımlayan bazı cevap değişkenlerinin optimize edilmesi gerekmektedir. Bu değişkenlerden bazılarının maksimum değerde olması gerekirken bazı değişkenlerin de minimum değerde olması gerekmektedir. Pek çok durumda uygulanacak koşul elde edilen sonuçlardan birisi için en iyi etkiyi gösterirken diğer değişken için tam tersi etki yaratabilmektedir. Bu problemin üstesinden gelebilmek için pek çok yaklaşım geliştirilmiştir. İlk yaklaşım sınırlı optimum koşul belirleme, ikinci yaklaşım farklı cevap değişkenlerine ait iz düşüm diyagramlarını üst üste getirme ve üçüncü yaklaşım ise bütün cevapları tek bir ölçüm ile kombine eden tercih edilebilirlik fonksiyonu kullanarak çok cevaplı bir problemi çözme şeklindedir (Eren ve Kaymak-Ertekin, 2007). Bu çalışmada, istenirlik (desirability) fonksiyonu fenolik içeriğin ve antioksidan aktivite değerlerinin maksimum olduğu kriter için geliştirilmiştir. Ekstraksiyon prosesinin optimize edilmesinde ve elde edilen sonuçların modele uygunluğunun tespit edilmesinde Minitab 17 (Brandon, Birleşik Krallık). Bu çalışmada, tercih edilebilirlik fonksiyonu (desirability function) cevapların (toplam fenolik, antioksidan aktivite vb.) maksimum değerlerinin belirlenmesi üzerine kurulmuştur.

3.3. Farklı Oranlarda Üzüm Çekirdeği (GSE) İçeren Kitosan (CH) Filmlerin Özelliklerinin Belirlenmesi (2. AŞAMA)

Ekstraksiyon prosesi için katı:sıvı ekstraksiyon tekniği kullanılarak çalışmanın birinci aşamasında üzüm çekirdeğinden aktif bileşenlerin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler ışığında optimum koşullara göre ekstraksiyon işlemi tamamlanmıştır. Optimizasyon sonuçlarına göre değerlendirme yapıldığında su fazının artması ile istenen aktif özelliklerde artış gözlenmiştir. Bunun yanı sıra etanol fazının tamamının evaporatörde uzaklaştırılmaması daha sonraki aşama olan, ekstraktın kurutulduktan sonra filmlere eklenmesi aşamasında tamamen çözünmeme gibi bazı problemlere yol açmıştır. Aktif özelliklere sahip film örnekleri oluştururken filmin yapısının bozulmaması gerektiği göz önüne alınarak ekstraksiyon prosesi revize edilmiştir. Buna göre, üzüm çekirdeği tozu (25 g), fenolik bileşenlerini elde etmek amacıyla

225 g destile su kullanılarak manyetik karıştırıcı ile ekstrakte edilmiş, elde edilen ekstrakt dondurularak kurutma işlemine tabi tutulmuştur (BW-100F, Bluewave Industry Co.,Ltd. Shanghai, China). Kurutulan örnekler kullanım sürelerine kadar -18°C'de saklanmıştır. Filmlerin oluşturulması sırasında tamamen su fazı kullanılarak denemelere devam edilmiş ve çözünme probleminin üstesinden gelinmiştir. GSE'nin CH filmlere eklenecek şekli ile sulu çözeltisine ait aktif özellikler Çizelge 3.2'de verildiği gibidir. Tamamen su kullanılarak ekstrakte edilen üzüm çekirdeği tozu örneklerine ait toplam fenolik bileşen miktarı, antioksidan aktivite değerleri ve bazı fenolik bileşenler ile antioksidan/antimikrobiyal aktivite değerleri de belirlenerek optimum koşullarda ekstrakte edilen değerler ile karşılaştırılmış ve aralarında fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. CH filmlere eklenecek olan GSE'ye ve optimum koşullar için elde edilen değerlere ait aktif özellikler

Analiz edilen özellik	Filmlere eklenecek şekli ile elde edilen değerler	Optimizasyonda elde edilen değerler	p^{***}
Toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/kg)	4.49±0.50	2.52	0.077
Antioksidan aktivite (% DPPH inhibisyon değeri)	27.8±1.24	.*	
Fenolik bileşenler			
Gallik asit (ppm)	4.02±0.15	1.37	0.001
Kateşin (ppm)	1.64±0.12	0.61	0.001
Epikateşin (ppm)	0.05±0.001	0.04	0.001
Antimikrobiyal aktivite (zon, mm)			
<i>Escherichia coli</i>	9.50±0.71	12.63	0.227
<i>Listeria monocytogenes</i>	10.50±0.18	10.68	0.246
<i>Staphylococcus aureus</i>	10.50±0.71	.**	
<i>Pseudomonas aureginosa</i>	9.70±0.35	.**	

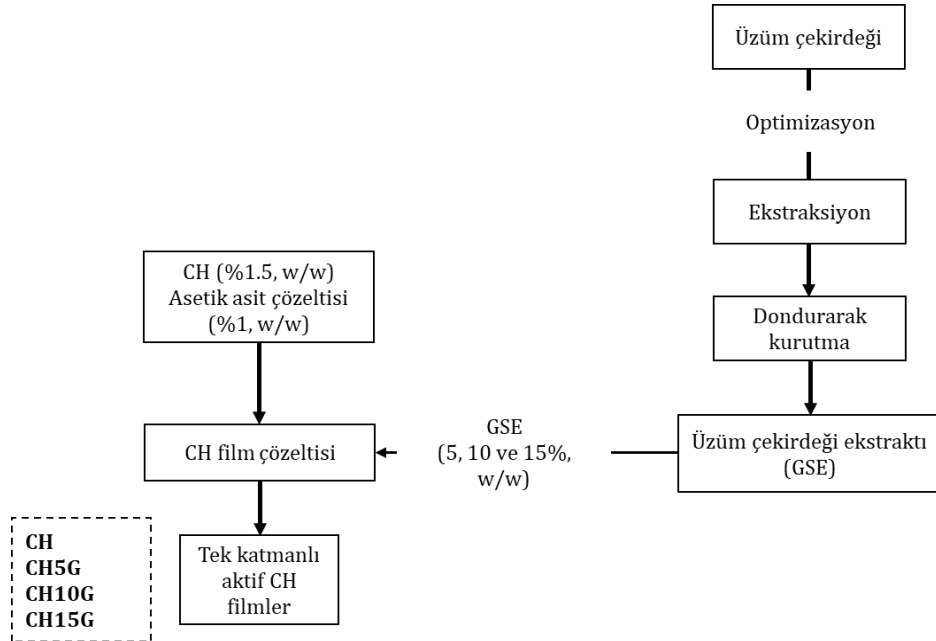
*Optimizasyonda ORAC yöntemi kullanıldığı için karşılaştırmaya dahil edilmemiştir.

**Optimizasyon için yanıt sayısının fazla olması nedeniyle Gram (-) ve Gram (+) bakterilerden sadece birer tane mikroorganizma seçilmiştir.

***Aynı satırda $p<0.05$ olanlar arasındaki fark önemlidir (t testi kullanılarak iki örnek (optimizasyonda elde edilen değerler ve filmlere eklenecek şekli ile elde edilen değerler) arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı değerlendirilmiştir).

3.3.1. Filmlerin hazırlanması

CH filmler, dökme yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır Sanchez-Gonzalez vd. (2010). CH (%1.5, ağırlıkça) %1'lik (ağırlıkça) asetik asit çözeltisinde tamamen çözündürülmüştür. CH film çözeltisi, %0.3 (ağırlıkça) gliserol eklenerek elde edilmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktı (GSE) (%5, 10 ve 15, ağırlıkça, kuru CH ağırlığı bazında) CH film çözeltisine eklenerek 5 dakika boyunca homojenizatörde (DAIHAN HG-15A, Kore) homojenize edilmiştir. CH film çözeltisi degaz edildikten sonra 50 g film çözeltisi teflon kaplı petriyelerin ($\varnothing=150\text{mm}$) merkezine dökülüp homojen bir şekilde yayılmıştır (Şekil 3.2). Dökülen film çözeltileri oda koşullarında kurutulmuştur (48 sa). Kontrol filmler hiç GSE içermeyen filmlerdir ve CH olarak kodlanmıştır. GSE içeren filmler için, %5, 10 ve 15 GSE oranlarında sırasıyla CH5G, CH10G ve CH15G kodları kullanılmıştır. Kuruyan filmler 25°C ve % 50 bağıl nemde bir hafta boyunca bekletildikten sonra karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Koşullandırma işleminden sonra film örneklerinin nem içeriği $21.90\pm 0.40-29.71\pm 0.01$ aralığında bulunmuştur. Koşullandırılan film örneklerinin kalınlıkları 6 rastgele bölüm seçilerek dijital mikrometre (Digimatic Micrometer QuantuMike IP65, Mitutoyo, Japonya) ile ölçülmüştür.



Şekil 3.2. GSE içeren CH filmlerin elde edilmesi

3.3.2. Filmlerin karakterizasyon analizleri

3.3.2.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile filmlerin yüzey özelliklerinin belirlenmesi

Film örneklerinin yüzey ve kesit görüntüleri taramalı elektron mikroskobu (FEI Quanta 250 FEG, Oregon USA) kullanılarak düşük vakum altında alınmıştır (10 kV). Örneklerin mikro-yapılarının belirlenmesi için görüntüler 500-2000 kat büyütme altında elde edilmiştir.

3.3.2.2. Su buharı geçirgenlik (WVP) değerlerinin belirlenmesi

Film örneklerinin su buharı geçirgenlik değerleri (WVP) E96-95 gravimetrik metodu (ASTM, 1995) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm ölçümler film örneklerinin %100 bağıl neme maruz bırakılmasıyla yapılmıştır. Bu yöntemde, 5 ml destile su içeren geçirgenlik kapları film örnekleri ile kaplanır daha sonra kaplar aşırı doygun $Mg(NO_3)_2$ (%53 bağıl nem) içeren desikatörlere aktarılarak 25°C'deki inkübatöre aktarılır. Geçirgenlik ölçümleri film katmanının %100 RH ya maruz bırakılıp, kapların periyodik olarak (2 gün boyunca her 1.5 saatte) ağırlıklarının alınması ile gerçekleştirilmiştir.

3.3.2.3. Mekanik özelliklerin belirlenmesi

Film örneklerinin elastik modülü (EM), çekme dayanımı (TS) ve kopma noktasındaki uzama (%) değerleri ASTM D882 standart metodu (ASTM, 2001) kullanılarak Lloyd LR5 üniversal test (Londra, Birleşik Krallık) cihazı ile ölçülmüştür. EM, TS ve uzama değerleri, farklı film örnekleri (5×2.5 cm) için elde edilen kuvvet (N) - yer değiştirme (mm) verilerinden ve gerilim (Pa) - uzama (%) eğrilerinden hesaplanmıştır. Bu analizde test için kullanılan cihazın çekme çenelerine yerleştirilen film örnekleri 50 mm/dk hızla çekme çeneleri tarafından çekilmiş ve elde edilen değerler ile bir grafik oluşturulmuştur. En az 8 film örneği kullanılarak ölçümler yapılmıştır.

3.3.2.4. Optik özelliklerin belirlenmesi

Opaklık testi, Friesen vd. (2015)'in uyguladığı metot kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Test edilecek her bir film Spektrofotometre küvetinin boyutlarına uyacak şekilde dikdörtgen (1×4 cm) halinde kesilmiştir. Daha sonra film örnekleri küvetlere yerleştirilip film örneklerinin 400-800 nm dalga boyları arasındaki absorbands spektrumları, UV-Visible (Schimadzu, UV-1601, Japonya) Spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Film örneklerinin opaklık değerleri absorbands-dalga boyu eğrisinin altında kalan alan (absorbans x dalga boyu, AU nm) ve ölçüm yapılan film örneğinin kalınlık değerleri kullanılarak hesaplanmıştır (AU nm/mm). Bunun yanı sıra film örneklerine ait transmittans değerleri (% transmittans) 450 nm dalga boylarındaki geçirgenlik değerleri UV-Visible (Schimadzu, UV-1601, Japonya) Spektrofotometre ölçülerek belirlenmiştir. Film örneklerine ait renk değerleri Minolta Chroma Meter (CR-400, Konica Minolta, Inc., Japonya) ile beyaz kalibrasyon plakası (Y=92.7, x=0.3160, y=0.3321) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler kalibrasyon levhası ile kalibre edildikten sonra CIE L^* , a^* ve b^* (parlaklık 'L', kırmızı-yeşil 'a' ve sarı-mavi 'b') değerleri alınarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.3. Filmlerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi

Filmlerin antimikrobiyal aktivitelerini test etmek için *E. coli* (ATCC 26922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ve *L. monocytogenes* (ATCC 19115) kültürleri kullanılmıştır. -18°C'de saklanan (Gliserol %30+Brain Heart Infusion Broth (BHI)) kültürler canlandırılmak üzere BHI sıvı besiyerlerine (100 µL) aktarılarak arka arkaya 2-3 gün boyunca 37°C/1 gün ve sadece *P. aeruginosa* için 25°C/ gün inkübasyona bırakılmıştır. Geliştirilen kültürlerin konsantrasyonu McFarland standartları kullanılarak dansitometre yardımıyla 10^5 kob/mL konsantrasyona ayarlanmış ve BHI broth ve BHI agar besiyerlerine aktarılmıştır. Film örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri sıvı ortam kullanılarak test edilmiştir (ASTM, 2014, E2149-10). 5 cm² alana sahip film örnekleri (önceden tartımı alınmış) UV ışık altında steril hale getirildikten sonra 10^5 kob/mL konsantrasyonda kültür içeren 10 mL BHI sıvı ortama steril koşullar

altında aktarılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra peptonlu su kullanılarak uygun dilüsyonları gerçekleştirilmiş ve plak yayma yöntemi ile BHI agar besi yerinde gelişen mikroorganizmalar sayılmıştır. Film örneklerinin inhibisyon değerleri hiç film örneği içermeyen kontrol tüplerde gelişen mikroorganizma sayısı ile karşılaştırılarak belirlenmiş ve inhibisyon değerleri log kob/mL olarak verilmiştir.

3.3.4. Filmlerin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi

Film örnekleri analiz öncesinde asetik asit sulu çözeltisi (%1, ağırlıkça) kullanılarak 24 saat boyunca çözüldürülmüştür. Özetle, 50 mg film örneği alınarak 15 mL asetik asit çözeltisine aktarılmış ve tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Film örneklerinin hem potansiyel toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde hem de antioksidan aktivite analizlerinde bu film çözeltileri uygun seyreltiler yapılarak kullanılmıştır.

Çözünen film örneklerinin toplam fenolik madde içeriği Singleton vd. (1999)'nin kullandığı yöntem ile belirlenmiştir. Tüm film çözeltileri, Folin-Ciocalteu reaktifi (0.2 N) ve sodyum karbonat (% 7.5) ile karıştırılmış ve 2 saat oda sıcaklığında karanlık bir ortamda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında örneklerin absorbans değerleri 765 nm'de okunmuştur (Shimadzu, UV-1601, Tokyo, Japonya). Filmlerin toplam fenolik madde içeriğinin hesaplanması için farklı konsantrasyonlarda gallik asit kullanılarak standart eğri hazırlanmış ve örneklerin toplam fenolik madde içeriği mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g cinsinden verilmiştir.

Film örneklerinin antioksidan aktivite değerleri stabil radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) kullanılarak spektrofotometrik bir şekilde radikal süpürücü aktiviteye bağlı olarak hesaplanmıştır (Sanchez-Moreno vd., 1998). Özetle, farklı konsantrasyonlarda film çözeltisi alınarak 6 ml'ye tamamlanacak şekilde 0.07 mM DPPH ile muamele edilmiştir. Hazırlanan son çözelti ve sadece DPPH çözeltisi 40 dk karanlıkta bekletilmiş ve 517 nm de etanole karşı absorbans

değerleri kaydedilmiştir. Antioksidan aktivite indirgenen %DPPH değeri hesaplanarak inhibisyon değerleri (%) şeklinde verilmiştir:

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \frac{A_{DPPH} - A_{\text{örnek}}}{A_{DPPH}} \times 100 \quad (3.1)$$

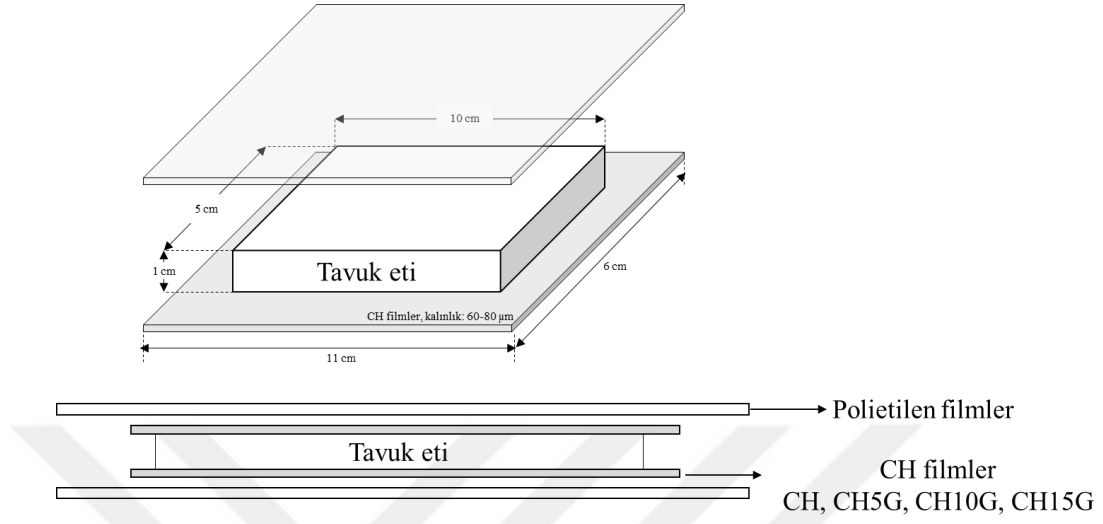
A_{DPPH} sadece DPPH çözeltisinin absorbansı ve $A_{\text{örnek}}$ örneğin absorbansı olmak üzere örneklerin antioksidan aktiviteleri indüksiyon periyodunda DPPH serbest radikalini indirgeme kabiliyetine bağlı olarak hesaplanmıştır.

3.3.5. Raf ömrü çalışmaları

3.3.5.1. Tavuk göğüs fileto örneklerinin hazırlanması ve ambalajlanması

Tavuk eti örnekleri yerel bir işletmeden alınmıştır (Isparta/Türkiye). Tavuk göğüs filetosu ambalajlama öncesi görünür yağları alınmış ve kesme cihazı ile steril koşullarda 5×10×1.5 cm boyutlarda kesilmiştir. Uygun ölçüde kesilen tavuk göğüs fileto örnekleri steril kaplarda toplanmış ve ambalajlama işlemi için 3 ayrı gruba ayrılmıştır. Ambalajlama işleminde tavuk göğüs fileto örnekleri 1 adet film üst kısımda bir adet film altı kısımda olacak şekilde film örnekleri ile sarılmıştır. GSE içermeyen CH film örnekleri ile sarılan tavuk göğüs fileto örnekleri pozitif kontrol olarak seçilmiştir. Tüm örnekler daha sonra düşük yoğunluklu polietilen torbalar (LDPE 50 µm, oksijen geçirgenliği; 911.145 mL O₂/m² 23°C/24 saat, 1 atm, % 0 bağıl nem) (Sümer Plastik, Türkiye) kullanılarak vakum altında paketlenmiştir (Şekil 3.3). Vakum uygulama amacı, film örneklerinin depolama boyunca tavuk göğüs filetoların yüzeyinde kalmasını sağlamaktır. Sadece LDPE torbalar kullanılarak ambalajlanan tavuk göğüs fileto örnekleri negatif kontrol seçilmiştir. Pozitif kontrol CH ve negatif kontrol ise C olarak kodlanmıştır. %5, 10 ve %15 GSE içeren filmler ile ambalajlanan örnekler ise sırasıyla CH5G, CH10G ve CH15G olarak kodlanmıştır. Ambalajlama işleminde kullanılan tüm film örnekleri ve LDPE torbalar ambalajlama işleminde kullanılmadan önce UV-C ışık altında (Philips, TUV G4T5 UV-C) sterilize edilmiştir. Ambalajlanan örnekler, laboratuvar tipi buzdolabında (4°C) 15 gün boyunca depolanmıştır. Her bir grup için, 0, 3, 6,

9, 12 ve 15. günlerde 3 ayrı ambalajlı ürün rastgele seçilmiş ve belirlenen analizler gerçekleştirilmiştir.



3.3.5.2. pH kontrolü

10 g tavuk göğüs fileto örnekleri 100 g saf su kullanılarak homojen hale getirilmiştir (Waring 7011HS, Torrington, ABD). pH ölçümleri (Schott Instruments Lab8, Mainz, Almanya) her bir tekerrür ve örnek için 3 kere tekrarlanmıştır.

3.3.5.3. Renk ölçümü

Örneklerin CIE L^* (parlaklık), a^* (kırmızılık-yeşillik) ve b^* (sarılık-mavilik) değerleri renk ölçer (CR-400, Konica-Minolta Corporation, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Her bir tekrar için farklı örneklerin yüzeylerinden rastgele 6 renk ölçümü alınmıştır.

3.3.5.4. Mikrobiyolojik analizler

Örneklerin toplam mezofilik aerobik canlı (TMAB) ve toplam koliform bakteri sayımı depolama boyunca kontrol edilerek belirlenmiştir. Analizler için, filmler

örnekten steril koşullarda uzaklaştırılmış ve örnekler stomacher kullanılarak steril peptonlu su (% 0.1) ile homojen hale getirilmiştir (2 dk). Hazırlanan homojenattan seri dilüsyonları hazırlanmış ve sayım için uygun besiyerlerine aktarılmıştır. Toplam mezofilik aerobik canlı sayımı, Plate Count Agar (PCA) kullanılarak ve toplam koliform sayımı Violet Red Bile Agar (VRBA) kullanılarak 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kob/g örnek şeklinde verilmiştir.

3.3.5.5. Oksidasyon analizleri

Tavuk göğüs fileto örneklerinin oksidasyon stabilitesi Buege ve Aust (1978) tarafından açıklanan yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. 5 g örnek 15 mL su ile homojen hale getirilmiş ve filtre edilmiştir. 2 mL filtrat, 4 mL trikloroasetik asit (TCA, % 20, w/v) ve 2-tiyobarbitürik asit (TBA, 0.02 M) çözeltileri karışımı eklendikten sonra 95°C'de 50 dk boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra örnekler soğutulup santrifüj (Nuve NF800R, Türkiye) edilmiştir. Santrifüj edilen örneklerden alınan süpernatantın, sadece saf su ve TBA/TCA çözeltileri karışımını içeren kör örneğe karşı 532 nm'deki absorbans değerleri okunmuştur (Shimadzu, UV-1601, Tokyo, Japonya). Elde edilen sonuç, 1,1,3,3-tetraetoksipropan standart kalibrasyon eğrisi kullanılarak mg malondialdehit (MDA)/kg örnek olarak verilmiştir.

3.3.6. Filmlere eklenecek olan GSE oranının belirlenmesi

Filmlere eklenecek olan GSE oranının belirlenmesinde kullanılan kriterler; filmin kontrol CH filmlerle karşılaştırıldığında fiziksel özelliklerinde ne kadar değişim gösterdiği ve filme eklenen GSE oranları ile karşılaştırıldığında filmin aktif özellikleri ne kadar ihtiva ettiği şeklindedir (Çizelge 3.3). Bunun yanı sıra, filmlerin tavuk göğüs fileto örneklerinin raf ömrüne etkileri, ağırlık derecesi en fazla olacak şekilde değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.3. GSE oranının seçilmesi için belirlenen kriterler

Kriter	Önem/Ağırlık	Hedef
Bariyer özellikleri ^a	++	Su buharı geçirgenliğini minimum değerde tutmak
Mekanik özellikler ^a	++	Film örneklerinin dayanıklılık değerlerini maksimum değerde tutmak
Optik özellikler ^a	+	Filmlerin görsel özelliklerini kabul edilebilir düzeyde tutmak
Antioksidan aktivite ^b	+++	Aktif özelliklerini maksimize etmek
Antimikrobiyal aktivite ^b	+++	Aktif özelliklerini maksimize etmek
Raf ömrü ^c	++++	Mikrobiyal gelişimi ve oksidasyonu minimize etmek (mikrobiyal gelişimi ve oksidasyonu maksimum düzeyde baskılamak ve raf ömrünü uzatmak)

^a CH kontrol filmlerle karşılaştırılarak elde edilen değişimler

^b Filmin içerisine eklenen GSE miktarı ile karşılaştırılarak elde edilen değişimler

^c Film örneklerinin tavuk göğüs filetosu örneklerinin depolanması sırasında mikrobiyal gelişimi ve oksidasyonu CH filmlere ve kontrol örneklerine göre ne kadar inhibe ettiği göz önünde bulundurularak değerlendirme yapılmıştır.

Farklı önem derecesine sahip parametreler çoklu regresyon kullanılarak değerlendirilmiş ve en uygun sonuç Minitab 17 (Minitab Inc., Brandon, UK) programıyla optimizasyon kullanılarak belirlenmiştir.

3.4. GSE içeren CH bazlı Nano Kompozit Filmlerin Elde Edilmesi ve Karakterizasyonu (3. AŞAMA)

Tez çalışmasının ikinci aşamasında farklı oranlarda GSE içeren film örneklerinin karakterizasyon analizleri ve raf ömrü çalışmaları yapılarak daha sonraki aşamalarda CH filmlere eklenecek en uygun GSE oranının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu aşamasında, ikinci aşamada en uygun özellikleri gösteren GSE oranı seçildikten sonra denemelere devam edilmiştir.

3.4.1. Nanokompozit iki katmanlı filmlerin hazırlanması

3.4.1.1. Yüzey kaplama işlemi ile filmlerin elde edilmesi

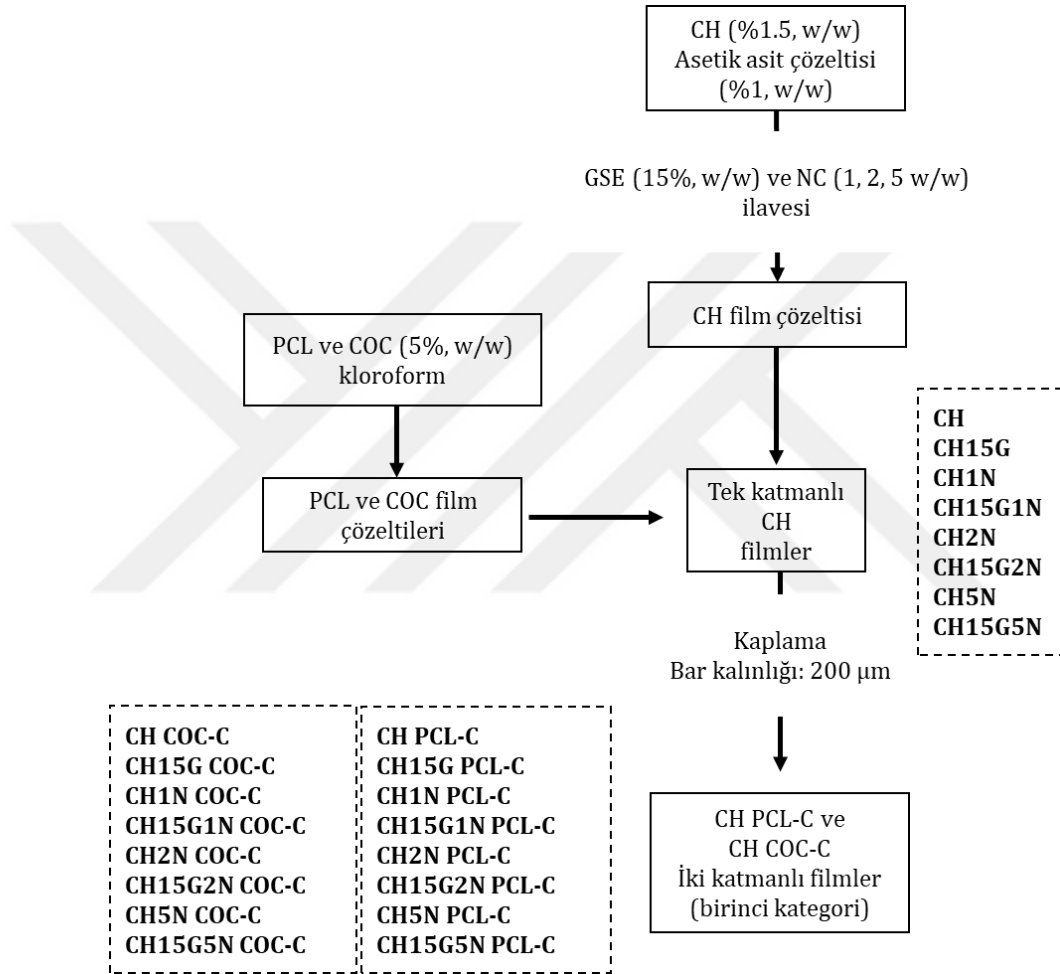
CH film çözeltisi, Bölüm 3.3.1’de anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Üzüm çekirdeği ekstraktı (GSE) (%15, ağırlıkça, kuru CH ağırlığı bazında) ve NC (%1, 2 ve 5 ağırlıkça, kuru CH ağırlığı bazında) CH film çözeltisine eklenerek 5 dk boyunca homojenizatörde (DAIHAN HG-15A, Kore) homojenize edilmiştir. NC, %8 (ağırlıkça) stok çözeltisinden % 0.1 (ağırlıkça) sulu çözelti elde etmek için oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı altında mekanik karıştırmaya maruz bırakılmış ve ardından 30 dk boyunca ultrasonik banyoda tutulmuştur. Bu işlemin ardından NC sulu çözeltisi CH filmlere belirlenen oranlarda eklenmiş ve homojenizatörde homojenize edilmiştir (≈ 10000 dds/10 dk) (Khan vd., 2012). CH film çözeltisi degaz edildikten sonra 50 g film çözeltisi teflon kaplı petriyelerin ($\varnothing=150$ mm) merkezine dökülüp homojen bir şekilde yayılmıştır. Dökülen film çözeltileri oda koşullarında kurutulmuştur (48 saat). Film örneklerine ait kodlama Çizelge 3.4’te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Film örneklerine ait kodlama

Kodlama	Açıklama
CH	Kitosan (CH) filmler
CH15G	Üzüm çekirdeği ekstraktı (GSE, %15, ağırlıkça) içeren CH filmler
CH1N	Nanoselüloz (NC, %1, ağırlıkça) içeren CH filmler
CH15G1N	GSE (%15, ağırlıkça) ve NC (%1, ağırlıkça) içeren CH filmler
CH2N	NC (%2, ağırlıkça) içeren CH filmler
CH15G2N	GSE (%15, ağırlıkça) ve NC (%2, ağırlıkça) içeren CH filmler
CH5N	NC (%5, ağırlıkça) içeren CH filmler
CH15G5N	GSE (%15, ağırlıkça) ve NC (%5, ağırlıkça) içeren CH filmler

PCL ve COC, kloroformda çözündürülerek PCL ve COC film çözeltileri (%5, ağırlıkça) hazırlanmıştır. Daha sonra film çözeltileri, tamamen kurumuş CH filmlerin yüzeyine dökülerek 200 μ m kalınlığındaki spiral kaplama (spiral bar coater, Elcometer 4360/30, Manchester, Birleşik Krallık) çubuğu kullanılarak

film yüzeyinde yayılmıştır. Bu şekilde, iki katmanlı filmler elde edilmiştir (Gartner vd., 2015). İki katmanlı filmlerin kalınlıkları CH yüzeyine dökülen film çözeltileri miktarı sabitlenerek ayarlanmıştır. Kaplama çubuğu sadece bir kere CH filmlerin yüzeyinden geçirilmiştir. Elde edilen filmler iki katmanlı filmlerdir. PCL ile kaplanarak elde edilen iki katmanlı filmler PCL-C ile kodlanmış ve COC ile kaplanarak elde edilen iki katmanlı filmler COC-C ile kodlanmıştır (Şekil 3.4).

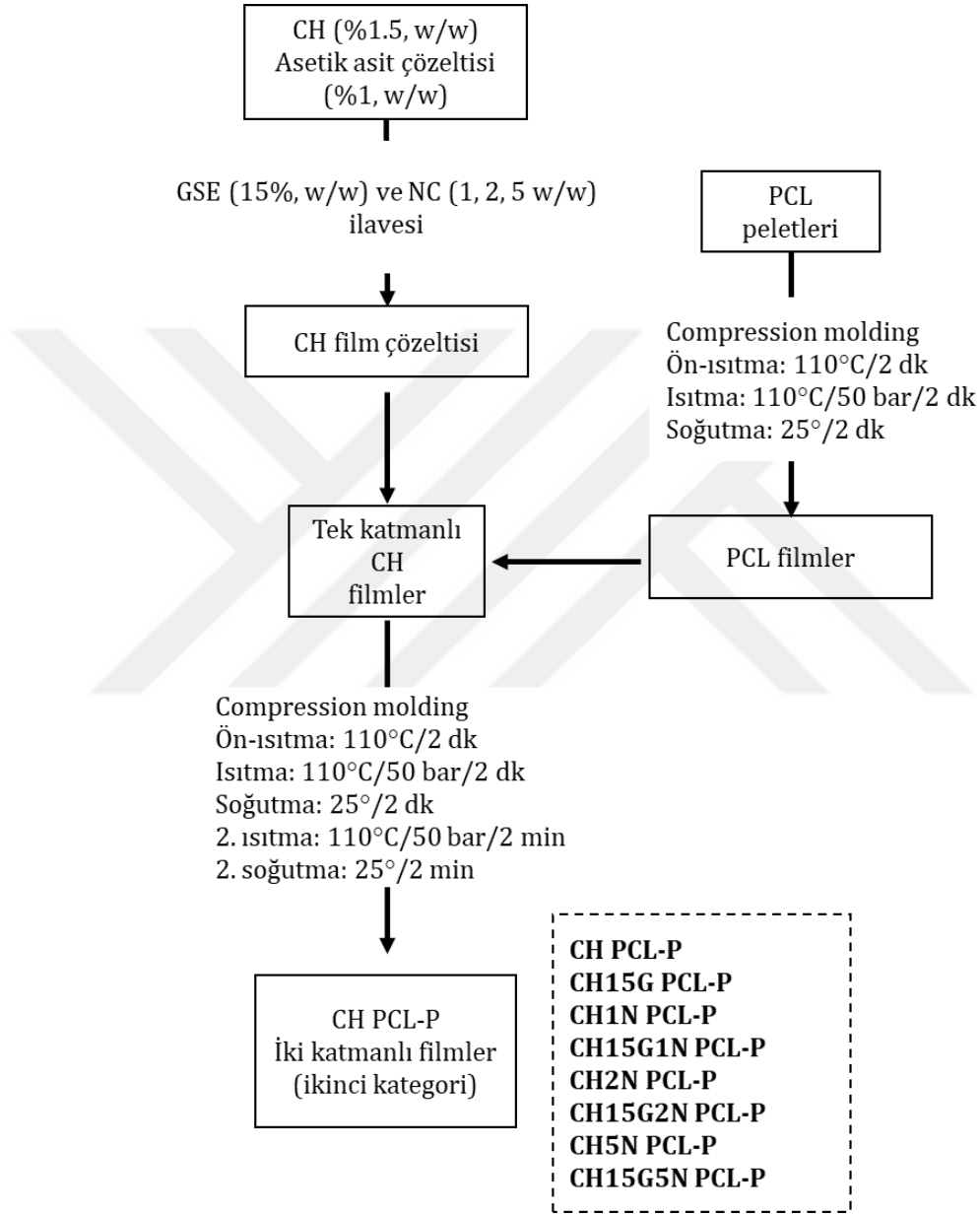


Şekil 3.4. yüzey kaplama ile iki katmanlı filmlerin elde edilmesi

Tüm film örnekleri, 25°C ve %50 bağıl nemde bir hafta boyunca koşullandırılmıştır. Koşullandırılan film örneklerinin kalınlıkları rastgele 6 bölüm seçilerek dijital mikrometre (Digimatic Micrometer QuantuMike IP65, Mitutoyo, Japonya) ile ölçülmüştür.

3.4.1.2. Pres yardımı ile iki katmanlı filmlerin elde edilmesi

CH filmler, Bölüm 3.4.1.1'de olduğu gibi hazırlanmış ve pres ile iki katmanlı filmlerin oluşturulması aşamasına getirilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. İki katmanlı filmlerin pres yardımıyla elde edilmesi

PCL film üretimi, belirlenen miktarda PCL teflon kaplı plakalar arasına yerleştirildikten sonra basınç uygulaması olmadan 110°C'de 2dk boyunca ön ısıtmaya, daha sonra 110°C'de 50 bar basınç altında 2dk boyunca ısıtma-pres işlemine tabi tutulmuştur. Son olarak, 25°C'de 2 dk soğutma işlemine tabi

tutularak plakalardan çıkarılmıştır. PCL filmler iki katmanlı filmlerin elde edilmesi için istenilen boyutlarda kesilmiştir. İki katmanlı kompozit filmler bir katman PCL ve bir katman farklı CH filmlerin plakalar arasına yerleştirilerek presleme işlemi ile elde edilmiştir. Plakalar arasına yerleştirilen filmler basınç uygulaması olmadan 110°C'de 2dk boyunca ön ısıtmaya, daha sonra 110°C'de 50 bar basınç altında 2dk boyunca ısıtma-pres işlemine tabi tutulmuş ve 25°C'de 2 dk soğutulmuştur. Isıtma-pres ve soğutma işlemi (ısıtma-pres 110°C/50 bar/2 dk ve soğutma 25°C/2 dk) iki kere tekrarlandıktan sonra iki katmanlı filmler elde edilmiştir (Şekil 3.4). PCL ve CH bazlı pres yardımıyla ile iki katmanlı filmler PCL-P ile kodlanmıştır (Şekil 3.5).

Aynı şekilde, pres kullanılarak COC ve CH iki katmanlı filmlerin elde edilmesinde başarı sağlanamamıştır. Bunun nedeni COC'nin tamamen erimiş forma geçmesi için gerekli olan sıcaklıkların CH filmler için uygun olmayacak kadar yüksek sıcaklıklar olmasıdır. Uygulanacak olan yüksek sıcaklıklar CH filmlerin yapısını bozmuş ve uygun olmayan filmlerin üretimine neden olmuştur.

Tüm film örnekleri, 25°C ve %50 bağıl nemde bir hafta boyunca koşullandırılmıştır. Koşullandırılan film örneklerinin kalınlıkları rastgele 6 bölüm seçilerek dijital mikrometre (Digimatic Micrometer QuantuMike IP65, Mitutoyo, Japonya) ile ölçülmüştür.

3.4.2. Film Karakterizasyon analizleri

Elde edilen tüm film örneklerinin, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yüzey özelliklerinin belirlenmesi (Bkz: 3.3.2.1), su buharı geçirgenlik özellikleri (Bkz: 3.3.2.2), mekanik özellikleri (Bkz: 3.3.2.3), optik özellikleri (Bkz: 3.3.2.4) ve aktif özelliklerinin (antimikrobiyal aktivite ve antioksidan aktivite) (Bkz: 3.3.3 ve 3.3.4) belirlenmesi gibi analizlerde ikinci aşamada kullanılan yöntemler kullanılmıştır. Bu aşamada üretilen film örneklerine uygulanan analizlerden farklı olanlar aşağıda verilmiştir.

3.4.2.1. Temas açısının belirlenmesi

Her bir filmin temas açısı, CH film yüzeyinde PCL ve COC film çözeltilerinin potansiyel adhezyonunu belirlemek için kullanılmıştır (Gartner vd., 2015). İki film çözeltisinin yanı sıra gliserol ve su ile de temas açısı analizleri gerçekleştirilmiştir. CH filmlerin hava ile temas eden yüzeyleri cihaza sabitlendikten sonra GSE içeren-içermeyen ve NC içeren-içermeyen yüzeylere ölçüm yapılacak çözeltiler damlatılarak ölçümler alınmıştır. Her bir ölçümde görüntülemeler damla ile yüzey arasında net bir etkileşim meydana geldiği zaman alınmıştır. Damla ve yüzey arasında etkileşim süresinin 20 saniyeyi geçmemesine dikkat edilmiştir. Damlanın şekli (0.015 mL), durağan damla ayarlama metoduyla Contact Angle Goniometer (Rame-Hart, NJ, ABD) kullanılarak çalışılmıştır. Görüntü analizi en az 10 paralel ile yapılmıştır.

3.4.2.2. Suda toplam çözünür madde miktarı ve Su tutma kapasitesinin belirlenmesi

Suda toplam çözünür madde (TSM) terimi, film örneklerinin oda sıcaklığında 24 saat boyunca destile suda tutulduktan sonra çözünen kuru madde miktarını açıklamaktadır. 2×2 cm film örnekleri kesilip tartımları (m_h) alındıktan sonra 30 ml destile su içerisinde oda sıcaklığında tutulmuş ve ardından çözünmeyen kuru madde miktarını (m_f) belirlemek üzere 105°C'de 24 saat boyunca tutulmuştur. Aynı film örneğinden kesilen film parçaları 105°C'de kurutulularak başlangıç kuru madde miktarı (m_0) elde edilmiş ve çözünen madde miktarının hesaplanmasında Pereda vd. (2014) tarafından belirlenen metot kullanılmıştır.

$$TSM (\%) = \frac{m_0 - m_f}{m_0} \times 100 \quad (3.2)$$

Su tutma kapasitesi, Rubentheren vd. (2016)'nın kullandığı metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Kısaca, 2×2 cm film örnekleri kesildikten sonra 105°C'de 1.5 saat boyunca ön kurutma işlemine tabi tutularak tartıma alınmış (W_i) ve ardından 30 mL destile suya daldırılmıştır. Film örnekleri, oda sıcaklığında 1 saat tutulduktan sonra filtre kağıdı yardımıyla yüzeyindeki fazla suyu uzaklaştırılıp

tartıma alınmıştır (W_s). Su tutma kapasitesinin hesaplanmasında aşağıdaki denklik kullanılmıştır:

$$Su\ tutma\ (\%) = \frac{W_s - W_i}{W_i} \quad (3.3)$$

3.4.3. Salınım Çalışmaları

Film örneklerine eklenen GSE için yapılan sıvı kromatografik (HPLC) analiz sonuçlarına göre en yüksek oranda bulunan aktif bileşen seçilerek salınım çalışmalarında kullanılmıştır.

3.4.3.1. Gıda benzerleri sıvılar kullanılarak salınım kinetiklerinin belirlenmesi

Film örneklerinden aktif bileşen salınım miktarının belirlenmesi için iki farklı gıda simülantı seçilmiştir. Simülant A (etanol, %10 (v/v)) sulu gıdalar için ve simülant B (asetik asit, %3 (v/v)) pH değeri 4.5'ten düşük olan (asitli gıdalar) sulu gıdalar için seçilmiştir (Commission Regulation (EU) 2016/1416). Film örneklerinden 5 mg film/mL ilgili simülant olacak şekilde örnek alınmıştır. Simülant ile muamele edilen film örnekleri çalkalamalı karıştırıcıda tutularak (25°C) analiz boyunca örnekleme yapılmış ve farklı zaman aralıklarında absorbansı ölçülmüştür. Bu şekilde her bir simülant için aktif bileşen konsantrasyonu zamana bağlı olarak ilgili kalibrasyon eğrileri kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Tüm salınım analizleri farklı film örnekleri kullanılarak 2 tekrar ve 3 paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.4.3.2. Aktif bileşen salınımının matematiksel modellenmesi

Film örneklerinden aktif bileşen salınım miktarının belirlenmesi için zamana bağlı olarak elde edilen aktif bileşen absorbans değerleri ile Korsmeyer–Peppas model (Korsmeyer vd., 1983) kullanılmıştır:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n \quad (3.4)$$

Formülde yer alan M_t/M_∞ t zamanda salınan aktif bileşen oranını, K hız sabitini ve n difüzyon sabitini vermektedir. K, difüzyon prosesi ve polimer matrise bağlı bir karakteristik olup n ise salınım prosesinin mekanizmasını açıklamaktadır. n değeri 0.5 olduğunda salınım Fick difüzyonu ile gerçekleşir; eğer $n > 0.5$ ise anomali kurala uymayan transport olarak gerçekleşir. Eğer $n < 0.5$ ise salınım kuasi-Fick difüzyonu şeklinde gerçekleşir (Korsmeyer vd., 1983).

3.4.4. En uygun ambalaj malzemesinin seçilmesi

Hangi ambalaj materyalinin gıda kullanılarak test edileceğinin seçiminde analizlerden elde edilen sonuçlar, Çizelge 3.5'te verilen özelliklerin ağırlık dereceleri kullanılarak çoklu regresyon kullanılarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.5. Test edilen film özellikleri ve ambalaj malzemesi seçimindeki etki dereceleri

Test edilen özellikler	Ağırlık	Etki
Su buharı geçirgenliği	++	Ambalaj malzemesinin suya afinite derecesi; minimize edilecek
Suda çözünürlük	+	Ambalaj malzemesinin sulu ortamdaki dayanıklılığı; minimize edilecek
Su tutma kapasitesi	+	Ambalaj malzemesinin suya afinite derecesi
Mekanik özellikler		
- Elastik modül	++	Ambalaj malzemesinin dayanıklılığı; Maksimize edilecek
- Kopma gerilimi		
- Elastikiyet		
Optik özellikler		
- Opaklık	+	Ambalaj malzemesinin görsel özellikleri; opaklık minimize edilecek ve transmittans maksimize edilecek
- Transmittans		
Salınım		
- Simülant A	+++	Ambalaj malzemesine eklenen aktif bileşenin gıdanın raf ömrü boyunca etkin olup olmayacağını belirlenmesi; salınım yüzdeleri arttırılacak
- Simülant B		
Antioksidan aktivite	+++	Gıdalarda oksidasyon etkilerini yavaşlatmak, aktif özellik; inhibisyon maksimize edilecek
Antimikrobiyal aktivite	+++	Gıdalarda mikrobiyal gelişimi inhibe etme ya da yavaşlatma, aktif özellik; inhibisyon maksimize edilecek

Tez çalışmasının son aşamasında, gıda uygulamaları için gıdaya uygun, CH bazlı aktif ambalaj malzemesinin seçilerek raf ömrü çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Üretilen nano kompozit ambalaj malzemeleri belirlenen özellikler açısından test edilerek değerlendirmeye alınmış, uygun olan film örnekleri gıda örneği kullanılarak tekrar test edilmiştir.

3.5. Seçilen Nano Kompozit Filmlerin Gıda Uygulamaları (4. AŞAMA)

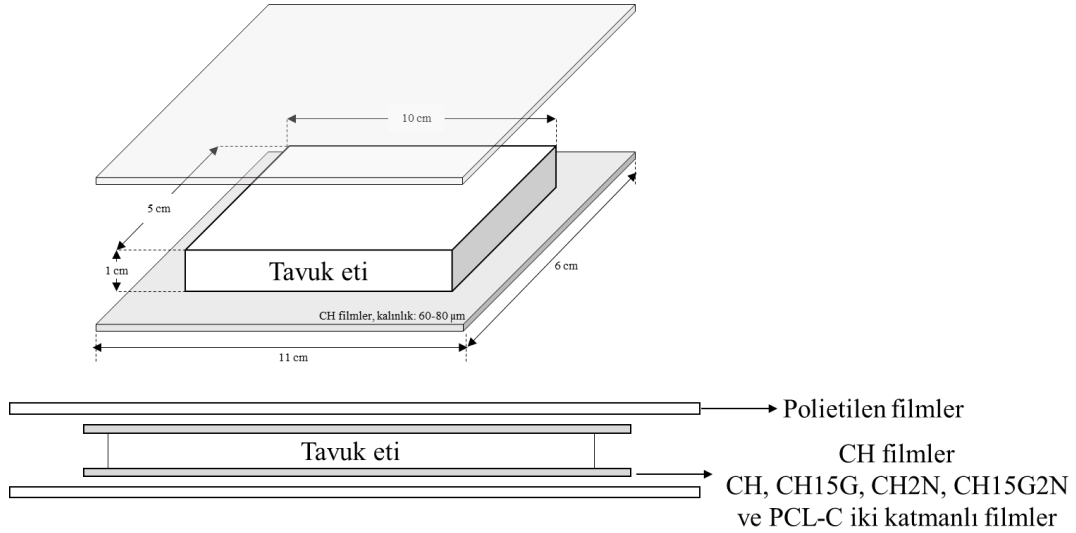
Tez çalışmasının üçüncü aşamasında NC ve GSE bazlı CH filmlerin elde edilmesi, PCL ve COC ile birlikte iki katmanlı filmlerin oluşturulması ve üretilen filmler arasından istenilen özelliklere en çok uyan film örneğinin seçilerek bir gıdaya uygulanması amaçlanmıştır. Üçüncü aşamada belirlenen özelliklere göre seçilen filmler CH15G2N PCL-C filmler olup bir sonraki aşamada gıda ambalaj materyali olarak kullanılmış ve ürünün raf ömrüne etkileri incelenmiştir.

3.5.1. Gıda denemesi için film örneklerinin hazırlanması

Seçilen CH filmler, Bölüm 3.4.1.1'de anlatıldığı gibi hazırlanmıştır (Elde edilen filmler CH, CH15G, CH2N, CH15G2N CH-P, CH15G-P, CH2N-P ve CH15G2N-P olarak kodlanmış tek ve iki katmanlı filmlerdir).

3.5.2. Tavuk göğüs fileto örneklerinin hazırlanması ve ambalajlanması

Tavuk göğüs fileto örnekleri, Bölüm 3.3.5.1'de anlatıldığı gibi hazırlanarak seçilen filmlerle ambalajlanmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Ambalajlama tasarımı

Ambalajlanan ve raf ömrü çalışması için depolanan tavuk göğüs fileto örneklerinde, mikrobiyolojik analizler (Bkz: 3.3.5.2), oksidasyon stabilitesinin belirlenmesi (Bkz: 3.3.5.5), renk (Bkz: 3.3.5.3) ve pH (Bkz: 3.3.5.4) değişiminin belirlenmesi gibi analizler gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada kullanılan raf ömrü analizleri tez çalışmasının ikinci aşamasında kullanılan yöntemlerle (mikrobiyolojik analizler, oksidasyon stabilitesinin belirlenmesi, renk ve pH değişiminin belirlenmesi) aynıdır.

3.6. İstatistiksel Analiz

Uygulamalar arasındaki fark varyans analizi (ANOVA) ve Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak %95 güven aralığında belirlenmiştir. Analiz verileri, ayrıca COC-C, PCL-C ve PCL-P iki katmanlı ambalaj filmleri arasında fark olup olmadığını belirlemek ve ambalaj materyali ile depolama süresinin etkilerini ve bu iki faktörün etkileşimlerini belirlemek amacıyla iki yönlü ANOVA ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel analiz, Statistical Package for Social Science software (SPSS Inc. version 24.0) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir analiz, en az 3 tekerrür ve 3 tekrar şeklinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6).

Çizelge 3.6. Farklı aşamalarda uygulanan istatistiksel analiz tasarımı

Aşama	Örnek sayısı	Analiz yöntemi
1		Optimizasyon (Merkezi kompozit, yüzey yanıt) Tek yönlü ANOVA Gruplar arası - Üzüm çekirdeği tozu konsantrasyonu - Ekstraksiyon süresi - Çözücü sistem (etanol:su oranı)
	4	Tek yönlü ANOVA Gruplar arası (Filmlerin özellikleri) - Örnekler arası (CH, CH5G, CH10G, CH15G)
2	5	Tek yönlü ANOVA Gruplar arası (Raf ömrü) - Örnekler arası (C, CH, CH5G, CH10G, CH15G)
	6	Tek yönlü ANOVA Gruplar arası - Depolama süresi (0, 3, 6, 9, 12. ve 15. gün)
		İki yönlü ANOVA Parametreler - Depolama süresi - Örnekler (Raf ömründe kullanılan örnekler) - Depolama süresi*Örnekler
	8	Tek yönlü ANOVA Gruplar arası karşılaştırma - Tek katmanlı filmler (kendi içerisinde) Örnekler: CH, CH15G, CH1N, CH15G1N, CH2N, CH15G2N, CH5N, CH15G5N
3		Tek yönlü ANOVA Gruplar arası karşılaştırma - İki katmanlı filmler (kendi içerisinde) Örnekler: CH COC-C, CH15G COC-C, CH1N COC-C, CH15G1N COC-C, CH2N COC-C, CH15G2N COC-C, CH5N COC-C, CH15G5N COC-C, CH PCL-C, CH15G PCL-C, CH1N PCL-C, CH15G1N PCL-C, CH2N PCL-C, CH15G2N PCL-C, CH5N PCL-C, CH15G5N PCL-C, CH PCL-P, CH15G PCL-P, CH1N PCL-P, CH15G1N PCL-P, CH2N PCL-P, CH15G2N PCL-P, CH5N PCL-P, CH15G5N PCL-P,
	9	Tek yönlü ANOVA Gruplar arası - Örnekler arası (C, CH, CH15G, CH2N, CH15G2N, CH PCL-C, CH15G PCL-C, CH2N PCL-C, CH15G2N PCL-C)
4	6	Tek yönlü ANOVA Gruplar arası - Depolama süresi (0, 3, 6, 9, 12. ve 15. gün)
		İki yönlü ANOVA Parametreler - Depolama süresi - Örnekler - Depolama süresi*Örnekler

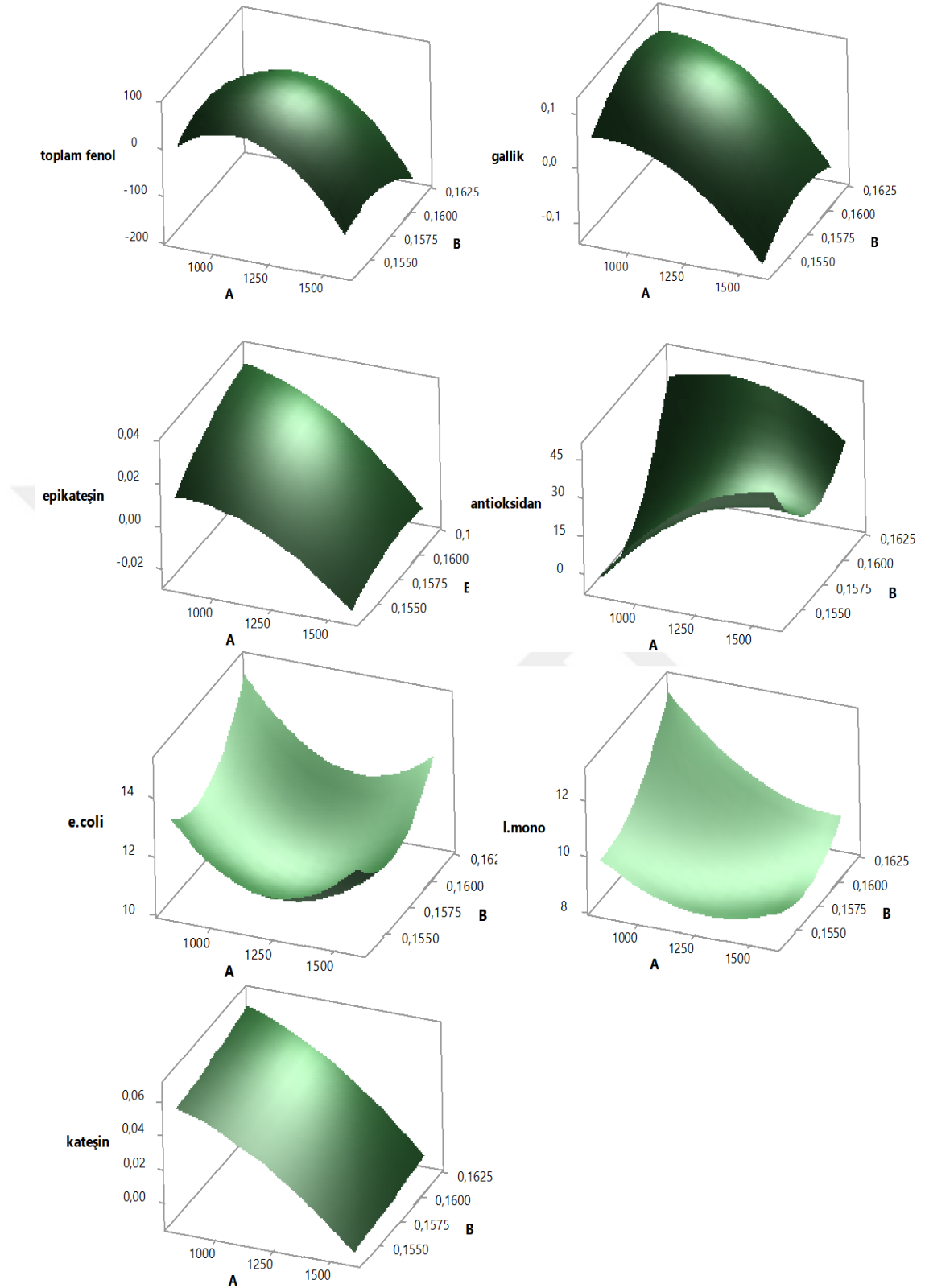
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Üzüm Çekirdeğinden Aktif Bileşenlerin Ekstrakte Edilmesi (1. AŞAMA)

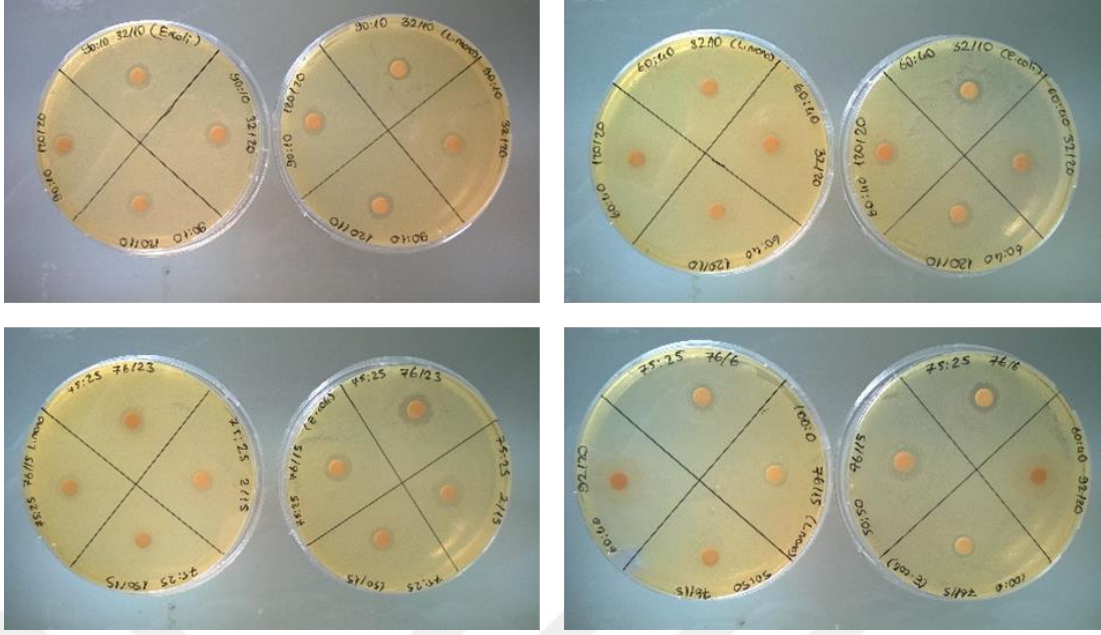
Ekstraksiyon denemelerine ait sonuçlar Çizelge A.1’de verildiği gibidir. Proses değişkenlerinin önemli etkilerini belirlemek için varyans analizi gerçekleştirilmiş ve deneysel veriler için en uygun model belirlenmiştir. Önerilen modelin regresyon denklem katsayıları ve tüm ana etkilerin istatistiksel önem dereceleri her bir cevap için elde edilerek önemli olan ve olmayan etkiler model içerisinde belirlenmiştir (Çizelge A.2).

4.1.1. Optimizasyon parametrelerinin fenolik madde ekstraksiyonuna etkileri

En yüksek toplam fenolik madde miktarları 50:50 etanol:su (v:v) oranına sahip örneklerde gözlenirken, en düşük miktar 100:0 etanol:su (v:v) ile ekstrakte edilen örneklerde gözlenmiştir. Benzer eğilim gallik asit, kateşin ve epikateşin miktarlarında ve antimikrobiyal aktivite değerlerinde de belirlenmiştir. En düşük antioksidan aktivite değerleri 50:50 etanol:su (v:v) ile ekstrakte edilen örneklerde belirlenirken, en yüksek aktivite değerlerine 60:40 etanol:su (v:v) ekstraktlarında ulaşılmıştır (Şekil 4.1). Üzüm çekirdeği ekstraktlarına ait *E. coli* ve *L. monocytogenes*’e karşı antimikrobiyal etkiler Şekil 4.2’de verildiği gibidir. Ekstraktlara ait inhibisyon zonları 8-14 mm aralığında değişmektedir. En yüksek zon değerlerine üzüm çekirdeği konsantrasyonu yüksek olan ve çözücü sistemde daha fazla su içeren örneklerde gözlenmiştir. Aynı şekilde üzüm çekirdeği ekstraktlarının inhibisyon etkisi *E. coli* ile karşılaştırıldığında *L. monocytogenes*’e karşı daha azdır.



Şekil 4.1. Sabit ekstraksiyon süresindeki program yanıtları



Şekil 4.2. Üzüm çekirdeği ekstraktlarına ait antimikrobiyal aktivite

Bu aşamada, üzüm çekirdeğinden fenolik madde ekstraksiyonunda dikkat edilen unsurlar, ekstraktların yüksek antioksidan aktiviteye ve antimikrobiyal etkiye sahip olmasını sağlamaktır. Bu aşamadan sonra elde edilen ekstraktlar, CH filmlere antioksidan aktivite kazandırabilecek etkide olmalı ve CH filmlerin antimikrobiyal aktivitelerine pozitif katkı yapabilmelidir.

4.1.2. Ekstraksiyon uygulamasının optimizasyonu

Üzüm çekirdeğinden fenolik madde ekstraksiyonun için optimum koşullar, maksimum toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite değerleri, fenolik bileşen miktarı antimikrobiyal aktivite değerleri kriterlerini elde edebilecek şekilde belirlenmiştir. Bu çalışmada, belirlenen aralık içinde elde edilen optimum ekstraksiyon parametreleri şu şekildedir: %57.87 etanol:su (v:v) çözücü sistemi; 0.22 g üzüm çekirdeği/ml çözücü oranı; 94.69 dk ekstraksiyon süresi. Optimizasyon fonksiyonu eklendiği zaman kabul edilebilirlik değeri (d, desirability) 0.95-0.27 aralığında değişen olan 5 adet çözüm bulunmuştur (Çizelge 4.1). Elde edilen değerler içerisinde d=0.95 olan çözüm seçilmiştir. Optimum koşullar için elde edilen toplam fenolik madde miktarı, gallik asit, kateşin ve epikateşin miktarları sırasıyla 2.52 mg/kg, 0.137 ppm, 0.061 ppm ve

0.042 ppm'dir. Antioksidan ve antimikrobiyal aktivite değerleri ise sırasıyla 76.92 µmol/mL, 12.63 mm ve 10.68 mm şeklindedir.

Çizelge 4.1. Optimizasyon sonuçları

Çözüm	d	Faktör					Yanıt				
		F1	F2	F3	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7
1	0.95	55	0.2	95	2.52	0.14	0.06	0.04	77	13	11
2	0.68	50	0.1	127	1.89	0.11	0.05	0.03	44	12	9
3	0.51	50	0.1	146	1.12	0.09	0.05	0.02	43	13	9
4	0.51	50	0.1	79	2.33	0.11	0.05	0.02	17	11	9
5	0.27	60	0.1	28	1.48	0.07	0.04	0.01	15	11	9

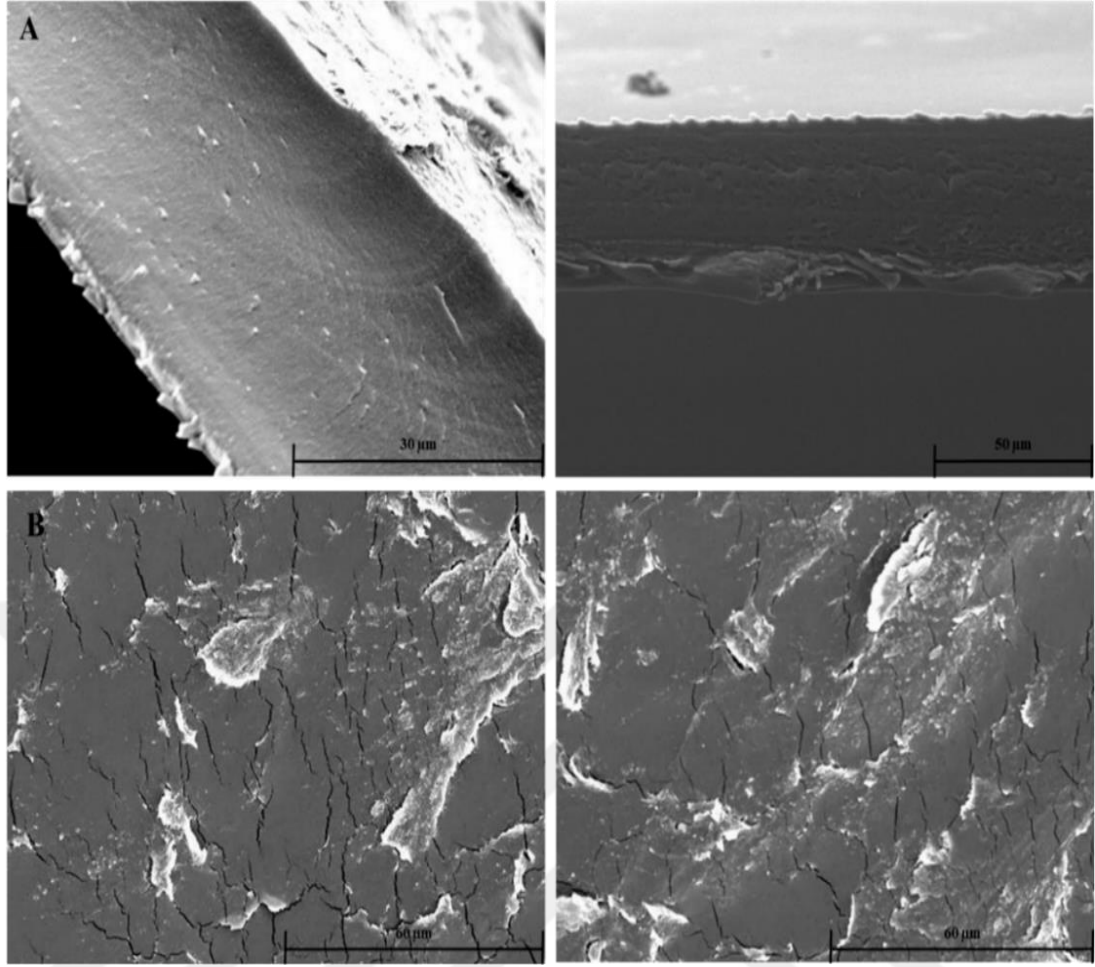
F1=Etanol (mL); F2=katı:sıvı (g/mL); F3= C:süre (dk); Y1=Toplam fenolik (mg/kg); Y2=Gallik asit (ppm); Y3=Kateşin (ppm); Y4=Epikateşin (ppm); Y5=Antioksidan aktivite (µmol/mL); Y6=İnhibisyon alanı; (*E. Coli*) (mm); Y7=İnhibisyon alanı (*L. monocytogenes*) (mm).

4.2. Farklı Oranlarda Üzüm Çekirdeği (GSE) İçeren Kitosan (CH) Filmlerin Özellikleri (2. AŞAMA)

4.2.1. Film karakterizasyonu

4.2.1.1. Taramalı elektron mikroskobu

CH ve CH15G film örneklerine ait kesit ve yüzey görüntüleri Şekil 4.3'te gösterilmiştir. CH ve CH15G filmlerinin kesit görüntüleri homojen bir yapının oluştuğunu ve GSE'nin film içerisinde iyi çözündüğünü göstermektedir. Film örneklerinin yüzey görüntüleri incelendiğinde kırılmış bir yapı ile karşılaşılmaktadır. Valencia-Sullca vd. (2017) tarafından nişasta-kitosan iki katmanlı filmler için de belirtildiği gibi, CH filmler kırılmalı bir yapıya sahip oldukları için SEM görüntüleme sırasında ortam koşullarından etkilenerek kırık yapı görüntüsü vermektedir. CH filmlerin asetik asit (%1, ağırlıkça) kullanılarak elde edilmesi, kısmi protonasyon ve CH toz formunun tekrar yapılanmasına izin vermektedir. Bu şekilde, sonuç CH filmler yapıya gliserolün de katılmasıyla birlikte daha elastik bir yapı kazanmış ve rengi daha sarı olmuştur.



Şekil 4.3. CH (sol kolon) ve CH15G (sağ kolon) filmlere ait kesit (A) ve yüzey (B) SEM mikrogramları

4.2.1.2. Su buharı geçirgenliği ve mekanik özellikler

Film örneklerinin kalınlık değerleri 51-57 μm aralığında değişmektedir (Çizelge 4.2). En yüksek kalınlık değeri CH15G filmlerinde gözlenmiştir ($p < 0.05$). Elde edilen sonuçlar, gallik asit (Sun vd., 2014), greyfurt çekirdeği (Tan vd., 2015) ve protokateşik asit (Liu vd., 2017) içeren CH filmlerin özelliklerinin incelendiği çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. CH filmlerin su buharı geçirgenlik değeri $9.6 \pm 0.6 \text{ g mm/kPa h m}^2$ olarak bulunmuş ve en yüksek su buharı geçirgenlik değerine (10.66 ± 1.31) CH15G filmlerde rastlanmıştır (Çizelge 4.2). GSE film örneklerinin su buharı geçirgenlik değerlerinde artışa neden olmuştur ($p > 0.05$). GSE'nin hidrofilik yapısı, su moleküllerinin H bağı kurabileceği daha fazla serbest hidrofilik pozisyonun oluşmasına izin vermektedir. Aynı şekilde, Liu vd. (2017),

fazla miktarda kullanılan protokatesik asitin CH filmlerin içyapısını bozarak su buharı geçirgenlik değerlerini arttırdığını belirtmiştir. Ancak, Talon vd. (2017) hazırladıkları CH-fenolik kompozit filmlerin su buharı geçirgenlik değerlerinin CH filmlere göre azaldığını göstermiştir.

Çizelge 4.2. Kalınlık (μm), su buharı geçirgenlik (WVP) değerleri ve mekanik özellikler

Örnek	Kalınlık (μm)	WVP (gmm/kPahm ²)	EM (MPa)	TS (MPa)	ϵ (%)
CH	51.33±2.52 ^b	9.60±0.60 ^a	1307.0±89.56 ^c	50.96±6.13 ^a	14.10±2.11 ^b
CH5G	53.01±2.97 ^b	9.87±0.85 ^a	1345.0±48.75 ^c	39.21±2.02 ^{ab}	10.25±2.00 ^c
CH10G	52.88±7.62 ^b	9.90±0.40 ^a	1790.1±90.01 ^b	30.6±6.20 ^b	15.51±1.52 ^b
CH15G	57.00±1.73 ^a	10.66±1.31 ^a	2133.5±231.44 ^a	21.30±3.10 ^b	18.63±3.10 ^a

^{a-c} Aynı kolonda farklı harfle gösterilenler arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

Elastik modül (EM), çekme dayanımı (TS) ve uzama (%) değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. CH filmlerin EM değerleri GSE konsantrasyonunun artması ile artış göstermiştir ($p < 0.05$). CH filmlerle karşılaştırıldığında, CH5G filmleri farklılık göstermezken, CH10G ve CH15G filmleri istatistiksel olarak daha yüksek EM değerlerine sahiptir ($p < 0.05$). CH filmlere GSE ilavesi ile birlikte filmlerin TS değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir azalma meydana gelmiştir. Benzer sonuçlar, α -tokoferol (Martins vd., 2012) ve gallik asit (Sun vd., 2014) içeren CH filmlerle yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir. TS değerlerindeki düşüş filmlerin içyapısında meydana gelen değişikliklerden kaynaklanmış olabilir. Filmlere eklenen GSE moleküller arası ve polimer zincirleri arasındaki fiziksel etkileşimleri zayıflatmış olabilir ve bu durum yüksek gerilim altında filmlerin deformasyonuna neden olmuş olabilir. Filmlerin kopma öncesinde sahip oldukları uzama kabiliyeti, elastikiyeti (E, %) vermektedir (Ferreira vd., 2014). CH filmlerle karşılaştırıldığında, GSE ilavesi film örneklerinin elastikiyet değerleri istatistiksel olarak önemli ölçüde etkilemiştir. %10 ve 15 oranında GSE ilavesi CH filmlerin E değerlerini istatistiksel olarak önemli ölçüde artırırken %5 GSE ilavesi E değerlerinde azalışa neden olmuştur ($p < 0.05$). CH filmlere hidrofilik

karakterde bir madde ilavesi CH filmlerin zincir hareketliliğini geliştirmiş ve birbirine bağlı ve sürekli bir yapının oluşmasını sağlayarak elastikiyet kabiliyetini arttırmıştır (Rivero vd., 2010). Benzer şekilde, Ferreira vd. (2014) üzüm posası ekstraktının CH filmlerin elastikiyetini arttırdığını göstermiştir.

4.2.1.3. Optik özellikler

Film örneklerine ait opaklık, transmittans ve renk değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. GSE içeren filmlerin transmittans değerleri, parlaklık ve opaklık değerlerine uygun bir şekilde CH filmlere göre daha düşüktür ($p<0.05$). CH filmlere GSE ilavesi, daha yüksek opaklık değerlerinin elde edilmesine neden olmuştur. Bu durum, fenolik bileşenlerin oluşturduğu etkileşimler sonucu film yapısı içerisinde ışığın daha az geçmesine neden olacak yapıların oluşması ve sonucunda film boyunca ışık yayınımına neden olması ile açıklanabilir. Benzer şekilde, Friesen vd. (2015) CH filmlere aktif bileşenlerin ilavesiyle transmittans değerlerinde azalma meydana geldiğini belirtmiştir. GSE içeren filmlerin L^* değerleri CH filmlere göre azalmıştır ($p<0.05$). CH5G ve CH10G filmler CH filmlerle karşılaştırıldığında daha yüksek a^* değerlerine sahiptir ($p<0.05$). Ancak, CH15G filmlerinin a^* değerleri CH filmlere göre istatistiksel olarak önemli derecede düşüktür ($p<0.05$). Ek olarak, b^* değerleri GSE oranının artması ile artış göstermiştir ($p<0.05$). Elde edilen sonuçlar, aktif bileşen içeren CH filmlerle ilgili yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Wang vd., 2013; Liu vd., 2016).

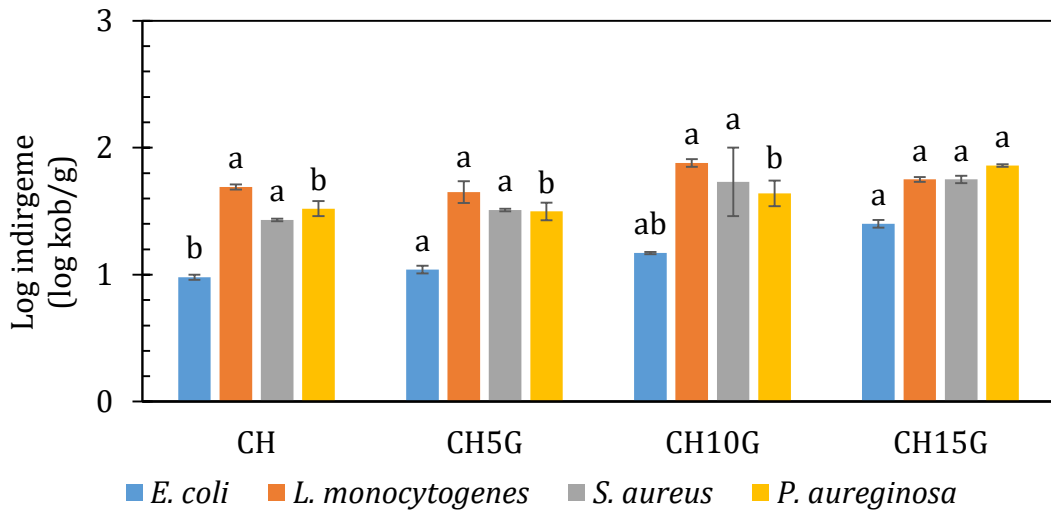
Çizelge 4.3. Film örneklerinin optik özellikleri

Örnek	T (%)	Opaklık (A x nm/mm)	Renk değerleri		
			L^*	a^*	b^*
CH	86.10±0.85 ^a	303.25±21.96 ^b	95.53±0.15 ^a	-0.55±0.06 ^b	4.76±0.11 ^b
CH5G	85.70±0.4 ^a	356.23±28.49 ^{ab}	95.00±0.1 ^a	-0.50±0.01 ^b	8.71±0.10 ^a
CH10G	84.12±0.01 ^a	343.03±7.62 ^{ab}	94.72±1.09 ^a	-0.22±0,02 ^a	8.61±1,72 ^a
CH15G	81.10±0.17 ^b	364.10±26.57 ^a	95.12±0.18 ^a	-1.61±0.08 ^c	9.96±0.33 ^a

^{a-c} Aynı kolonda farklı harfle gösterilenler arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

4.2.2. Film örneklerinin aktif özellikleri

CH5G, CH10G ve CH15G filmlerinin toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 0.29 ± 0.03 , 0.36 ± 0.07 ve 0.71 ± 0.06 mg GAE/kg şeklindedir. GSE ilavesi CH filmlere antioksidan aktivite kazandırmış ve artan GSE oranı ile antioksidan aktivite değerleri artış göstermiştir ($p<0.05$). CH5G, CH10G ve CH15G filmlerinin antioksidan aktivite değerleri sırasıyla 12.53 ± 1.11 , 14.70 ± 0.50 ve $20.45\pm 0.21\%$ DPPH süpürücü aktivite şeklindedir. Moradi vd. (2012), GSE içeren CH filmler için benzer sonuçlar rapor etmişlerdir. Film örneklerinin seçilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri Şekil 4.4'te gösterilmiştir. GSE içeren CH filmler daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir ($p<0.05$). GSE içeren CH filmlerin daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermesinin nedeni hem antioksidan hem de antimikrobiyal aktiviteye sahip fenolik bileşenler olabilir (Katalinic vd., 2010). Ek olarak, tüm film örnekleri Gram (-) bakterilerle (*E. coli*, *P. aeruginosa*) karşılaştırıldığında Gram (+) bakterilere (*S. aureus*, *L. monocytogenes*) karşı daha yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. Benzer şekilde, Rui vd. (2017) gallik asit içeren CH filmlerin gallik asit içermeyen CH filmlerle karşılaştırıldığında daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

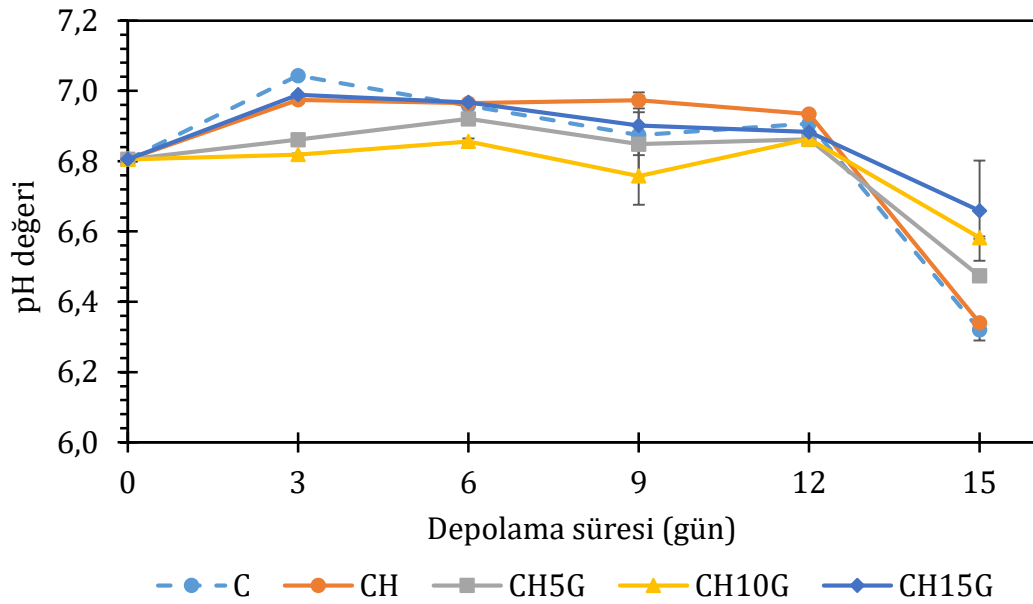


Şekil 4.4. Film örneklerinin seçilen bakterilere karşı logaritmik inhibisyon değerleri (^{a-b} Farklı harfle gösterilenler arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$)).

4.2.3. Raf ömrü çalışmaları

4.2.3.1. pH değeri

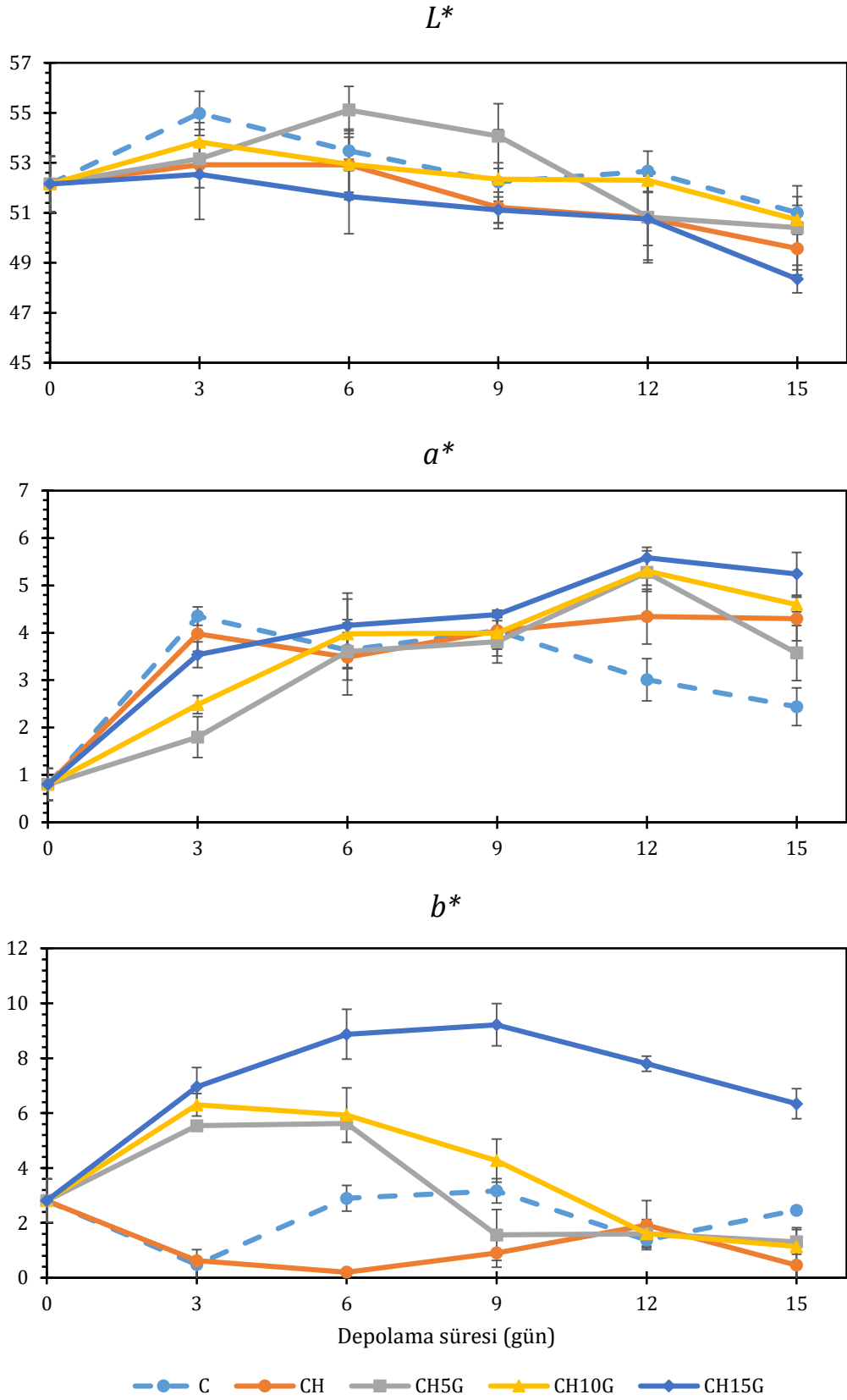
CH ve GSE içeren CH filmler kullanılarak ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerine ait pH değerleri Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Örneklere ait pH değerleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Ancak, depolama boyunca örneklerin pH değerleri azalmıştır ($p<0.05$). Depolamanın son gününde CH15G ile ambalajlanan örneklerin pH değeri en yüksek (6.66) değeri alırken en düşük pH değerine kontrol örneğinde rastlanmıştır ($p<0.05$). Aynı zamanda, Khan vd. (2016) antimikrobiyal ambalajlamanın et örneklerinin pH değerini sabit tuttuğunu göstermiştir.



Şekil 4.5. Depolama boyunca tavuk göğüs fileto örneklerinin pH değerlerindeki değişim

4.2.3.2. Renk değerleri

CH ve GSE içeren CH filmlerin tavuk göğüs fileto örneklerinin renk değerleri üzerine etkileri Şekil 4.6.'da ve analiz sonuçları Çizelge B1'de gösterilmiştir



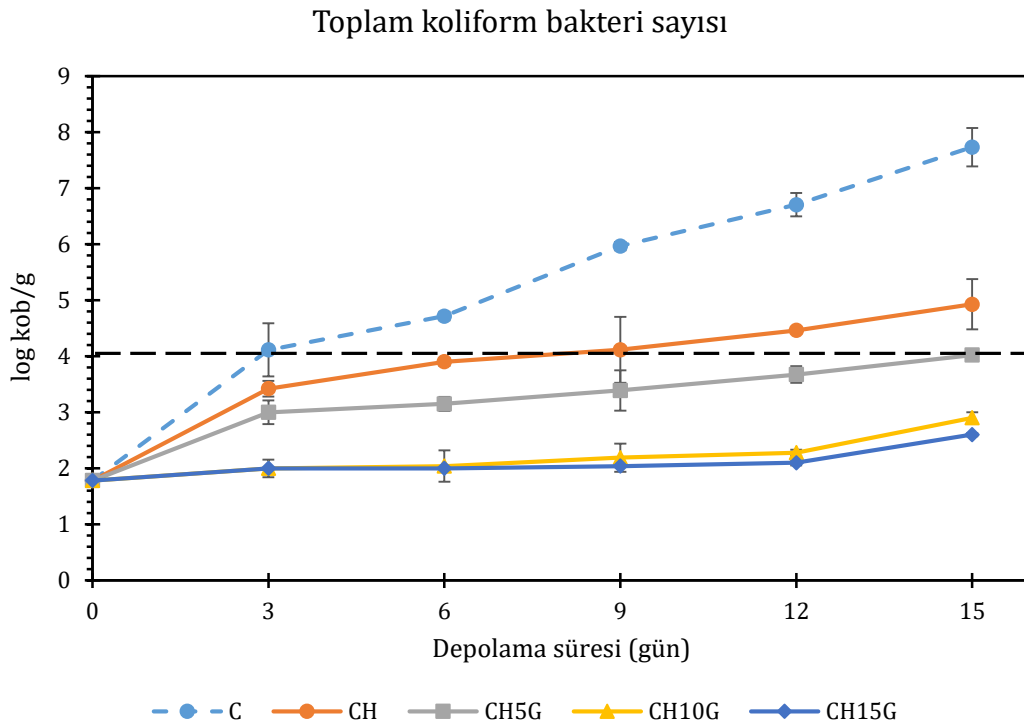
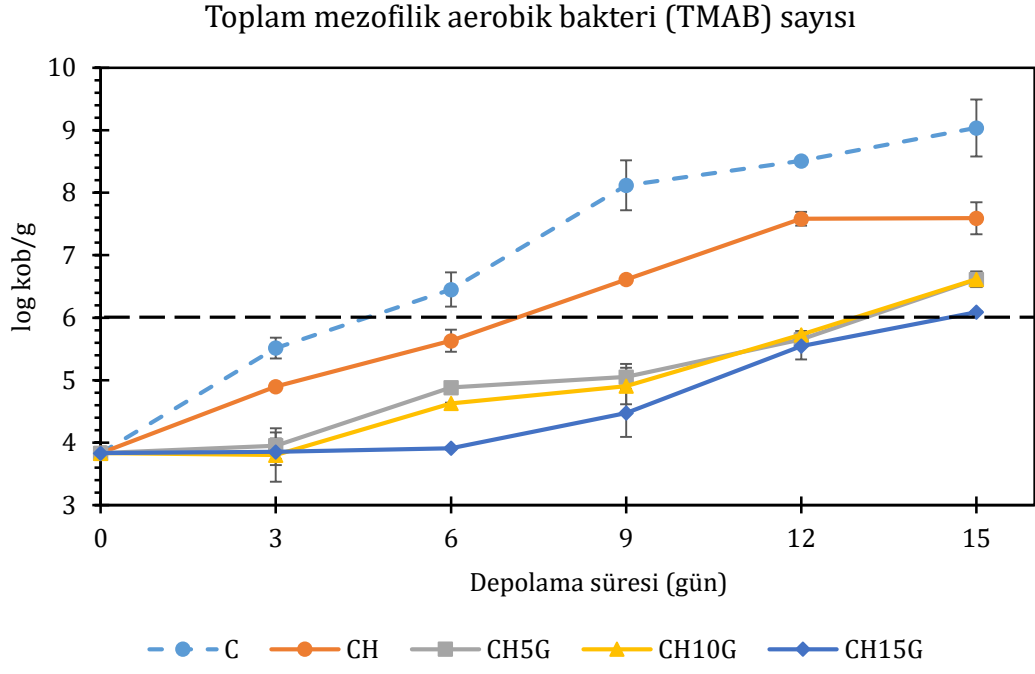
Şekil 4.6. Tavuk göğüs fileto örneklerinin renk değerlerindeki değişim

Tavuk göğüs fileto örneklerinin L^* değerleri depolama süresince istatistiksel olarak önemli derecede değişmemiştir ($p>0.05$). Ancak, depolamanın 6. gününden sonra tüm örneklerin L^* değerlerinde, tavuk göğüs fileto örneklerinin yüzey neminin CH filmlere transferi nedeniyle, giderek azalma meydana gelmiştir ($p<0.05$). Tavuk göğüs fileto örneklerinin a^* değerleri depolama süresinden istatistiksel olarak önemli derecede etkilenmiştir ($p<0.05$). 3 günlük depolamadan sonra kontrol örneklerinin a^* değerleri azalırken, CH ve GSE içeren CH filmlerle ambalajlanan örneklerin a^* değerleri artış göstermiştir ($p<0.05$). Depolamanın 9. gününden sonra CH, CH5G, CH10G ve CH15G ile ambalajlanan örneklerin a^* değerleri kontrol örneğinden istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek değerler almıştır ($p<0.05$). CH15G ile ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinin b^* değerleri depolama süresince diğer örneklerin b^* değerinden yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak, kontrol örneğinin ve CH ile ambalajlanan örneklerin b^* değerleri depolama boyunca istatistiksel olarak önemli derecede değişim göstermemiştir ($p>0.05$). CH5G ve CH10G ile ambalajlanan örneklerin b^* değerleri ise 6 günlük depolamadan sonra istatistiksel olarak önemli derecede azalış göstermiştir ($p<0.05$).

4.2.3.3. Mikrobiyolojik analiz

Mikrobiyolojik analiz sonuçları Şekil 4.7'de gösterilmiştir. TMAB ve toplam koliform bakteri için tavuk göğüs fileto örneklerinin başlangıç değerleri sırasıyla 3.83 log kob/g ve 1.78 log kob/g şeklindedir. Kontrol örneğine ve CH ile ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerine ait TMAB ve koliform sayısı depolama süresince diğer örneklere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Depolamanın son gününde CH15G ile ambalajlanan örnekler en düşük değerleri alırken kontrol örneği en yüksek mikrobiyal popülasyona ulaşmıştır ($p<0.05$). GSE içeren filmlerle ambalajlanan örneklerin TMAB sayısı arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ancak, kontrol ve CH filmlerle ambalajlanan örneklerin değerleri depolama boyunca istatistiksel olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol örneğinin TMAB sayısı limit olarak kabul edilen 6 log kob/g değerini (Jay vd.,

2005) 6. günden sonra aşarken CH15G ile ambalajlanan örnekler depolamanın sonunda 6.09 log kob/g değerine ulaşmıştır.



Şekil 4.7. Tavuk göğüs fileto örneklerinin TMAB ve toplam koliform sayıları

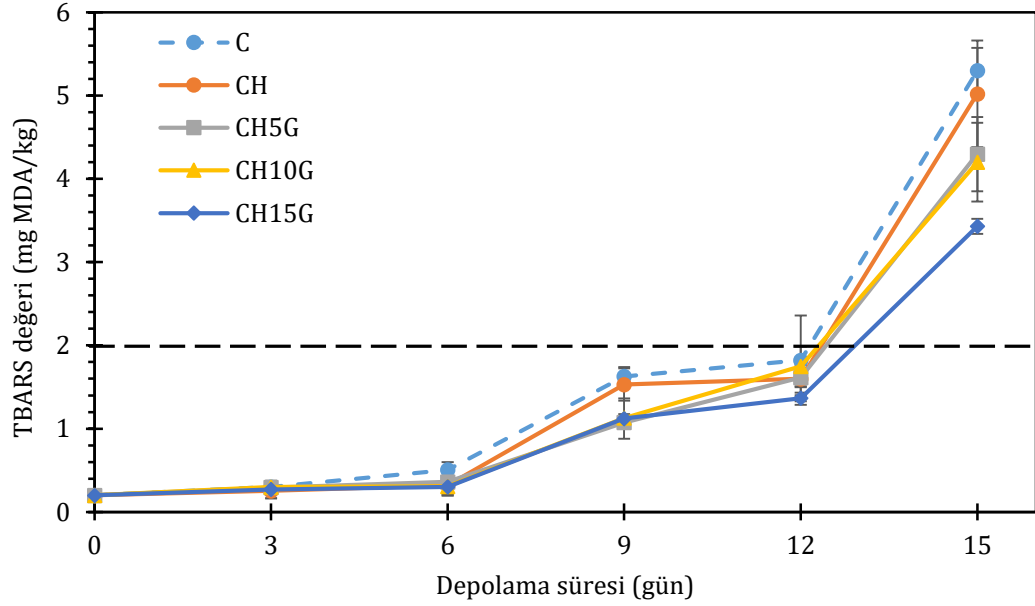
3 günlük depolamanın sonunda kontrol örneklerine ait koliform sayısı 4.11 log kob/g değerine ulaşmıştır. CH ile ambalajlanan örnekler limit olarak kabul edilen 4 log kob/g değerine (Jay vd., 2005) 6. günden sonra ulaşmıştır. CH10G ve CH15G ile ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinin koliform sayıları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ve bu iki örnek grubunun, depolamanın sonunda 3 log kob/g değerinden daha az koliform sayısına sahip olduğu belirlenmiştir.

CH filmlerin ve GSE gibi pek çok polifenolik grubun antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Dutta vd., 2009; Kong vd., 2010; Furiga vd., 2009). Bu çalışmada, %5 GSE oranından daha fazla GSE ilavesinin CH filmlerle birlikte kullanıldığı zaman tavuk göğüs fileto örneklerinde buzdolabı koşullarında depolama sırasında mikrobiyal gelişimi etkin bir şekilde engellediği/azalttığı görülmüştür.

4.2.3.4. Oksidatif stabilite

Şekil 4.8, GSE içeren filmlerin depolama boyunca tavuk göğüs fileto örneklerinin oksidasyon değerleri üzerine etkilerini göstermektedir. Tavuk göğüs fileto örneklerinin TBARS değerleri hem depolamadan hem de ambalajlama materyalinden etkilenmiştir ($p>0.05$). Başlangıç TBARS değeri 0.20 mg MDA/kg et örneği şeklindedir. Kontrol örnekleri depolama sonunda en yüksek TBARS değerine (5.30 mg MDA /kg) ulaşırken CH15G ile ambalajlanan örnekler en düşük TBARS değerine (3.43 mg/kg) sahip olmuştur ($p<0.05$). CH15G ile ambalajlanan örnekler için filmler 15 günlük depolama boyunca antioksidan aktivitesini koruyarak daha düşük TBARS değerlerine ulaşılmasını sağlamıştır ($p<0.05$). Bunun yanı sıra, CH10G, CH5G ve CH ile ambalajlanan örneklerin TBARS değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. GSE'nin oksidasyon stabilitesini artırma yeteneği sahip olduğu gallik asit, kateşin, epikateşin gibi fenolik madde içeriği ile ilişkilendirilmektedir (Furiga vd., 2009). %15 GSE ve CH filmler birlikte kullanıldığı zaman tavuk göğüs fileto örneklerindeki oksidasyonu azaltmada etkin sonuçlar vermiştir. Benzer sonuçlar, tarçın yağı (Hu vd., 2015; Ojagh vd., 2010), biberiye yağı (Georgantalis

vd., 2007) gibi aktif bileşen içeren CH filmlerle ambalajlanan farklı et örneklerinde de elde edilmiştir.



Şekil 4.8. GSE ilavesinin tavuk göğüs fileto örneklerinin TBARS değerleri üzerine etkileri

4.2.4. Filmlere eklenecek olan GSE oranının belirlenmesi

Filmlere eklenecek olan GSE miktarının belirlenmesinde kullanılan kriterler ve hedefe ulaşma dereceleri Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. GSE oranının seçilmesi için belirlenen kriterler

Kriter	Film örneği	Önem/Ağırlık	Değişim	Hedef
Su buharı bariyer özellikleri^a	CH5G	++	%2.81 artış	Su buharı geçirgenliğini minimum değerde tutmak
	CH10G		%3.13 artış	
	CH15G		%11.04 artış	
Mekanik özellikler^a	CH5G	++	EM değerinde %2.9 artış; TS değerinde %35 azalış; elastikiyet (%) değerlerinde %29 azalma	Film örneklerinin dayanıklılık değerlerini maksimum değerde tutmak
	CH10G		EM değerinde %36.95 artış*; TS değerinde %40 azalış*; elastikiyet (%) değerlerinde %10.79 artış	
	CH15G		EM değerinde %63.24 artış*; TS değerinde %58 azalış*; elastikiyet (%) değerlerinde %28.57 artış*	
Optik özellikler^a	CH5G	+	Transmittans değerlerinde %0.5 azalış ve opaklık değerlerinde %17.47 artış	Filmlerin görsel özelliklerini kabul edilebilir düzeyde tutmak
	CH10G		Transmittans değerlerinde %2.3 azalış ve opaklık değerlerinde %13.12 artış	
	CH15G		Transmittans değerlerinde %5 azalış* ve opaklık değerlerinde %20 artış*	
Antioksidan aktivite^b	CH5G	+++	%41.72 daha az aktivite	Aktif özelliklerini maksimize etmek
	CH10G		%32.39 daha az aktivite	
	CH15G		%26.44 daha az aktivite	
Antimikrobiyal aktivite^b	CH5G	+++	Değişim yok	Aktif özelliklerini maksimize etmek
	CH10G		Değişim yok	
	CH15G		Seçilen mikroorganizmalar için logaritmik azalma değerlerinde artış	
Raf ömrü^c	CH5G	++++	Değişim yok	Raf ömrünü uzatmak
	CH10G		Mikrobiyal gelişimi baskılamış, Oksidasyonda değişim yok	
	CH15G		Oksidasyon ve mikrobiyal gelişimi etkin bir şekilde azaltmış**	

^a CH kontrol filmlerle karşılaştırılarak elde edilen değişimler

^b Filmin içerisine eklenen GSE miktarı ile karşılaştırılarak elde edilen değişimler

^cFilm örneklerinin tavuk göğüs filetosu örneklerinin depolanması sırasında mikrobiyal gelişimi ve oksidasyonu CH filmlere ve kontrol örneklerine göre ne kadar inhibe ettiği göz önünde bulundurularak değerlendirme yapılmıştır.

*İstatistiksel olarak CH kontrol filmlerle arasındaki fark önemlidir.

**İstatistiksel olarak CH ve kontrol örnekleri ile arasındaki fark önemlidir.

Her bir kriter için farklı bir önem derecesi verilerek değerlendirme gerçekleştirilmiştir. GSE içeren film örnekleri CH kontrol filmi ile karşılaştırıldığında aktif özelliklerindeki değişim istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). Filmlerin su buharı geçirgenlik değerlerindeki değişim kontrol CH filmlerle karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). GSE miktarındaki artış filmlerin su buharı geçirgenlik değerlerini arttırmıştır. Bunun yanı sıra GSE içeren filmlerin elastik modül değerlerinde artış meydana gelmiştir. En yüksek değerler %15 oranında GSE içeren filmlerde gözlenmiştir. %5 GSE içeren filmlerin elastikiyet değeri azalırken %10 ve 15 GSE içeren filmlerin elastikiyet değerleri artış göstermiştir. Ancak GSE içeren filmlerin çekme kuvveti (TS) değerlerinde azalış olmuştur. Filmlerin 450 nm deki transmittans değerleri GSE miktarı arttıkça azalış gösterirken opaklık değerleri artış göstermiştir. GSE içeren filmlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivite değerlerinde GSE miktarına bağlı olarak artış gözlenmiştir. En yüksek aktivite değerlerini %15 oranında GSE içeren filmler vermektedir. Aktif özelliklerde elde edilen artışa bağlı olarak tavuk göğüs fileto örneklerinin mikrobiyal popülasyonunda ve oksidasyon değerlerinde azalma meydana gelmiştir. En iyi sonuçlar ise CH15G filmleri ile ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinde elde edilmiştir. Farklı önem derecesine sahip parametrelerin çoklu regresyon kullanılarak değerlendirilmiş çıktılarına ait sonuçlar Çizelge B.2, Çizelge B.3 ve Çizelge B.4'te gösterilmiştir.

Bu aşamanın amacı, filmlere antioksidan ve antimikrobiyal aktivite kazandırırken diğer özelliklerinde çok fazla değişikliğe neden olmayacak GSE miktarını belirlemektir. Filmlere eklenen %5 oranında GSE, filmlerin fiziksel özelliklerinde istatistiksel olarak değişime neden olmazken filmlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri zayıf kalmıştır. Aynı şekilde %10 oranında eklenen GSE filmlerin bazı fiziksel özelliklerinde istatistiksel olarak değişime neden olmuş ve istenilen oranda antimikrobiyal/antioksidan etki gösterememiştir. %15 GSE içeren filmler kontrol CH filmleri ile karşılaştırıldığında bariyer geçirgenliğinde artışa ($p>0.05$) ve optik özelliklerinde azalışa ($p<0.05$) neden olurken mekanik özelliklerinde ($p<0.05$) ve aktif özelliklerinde (antimikrobiyal ve antioksidatif) olumlu etkilere ($p<0.05$) neden olmuştur. Bunun yanı sıra tavuk

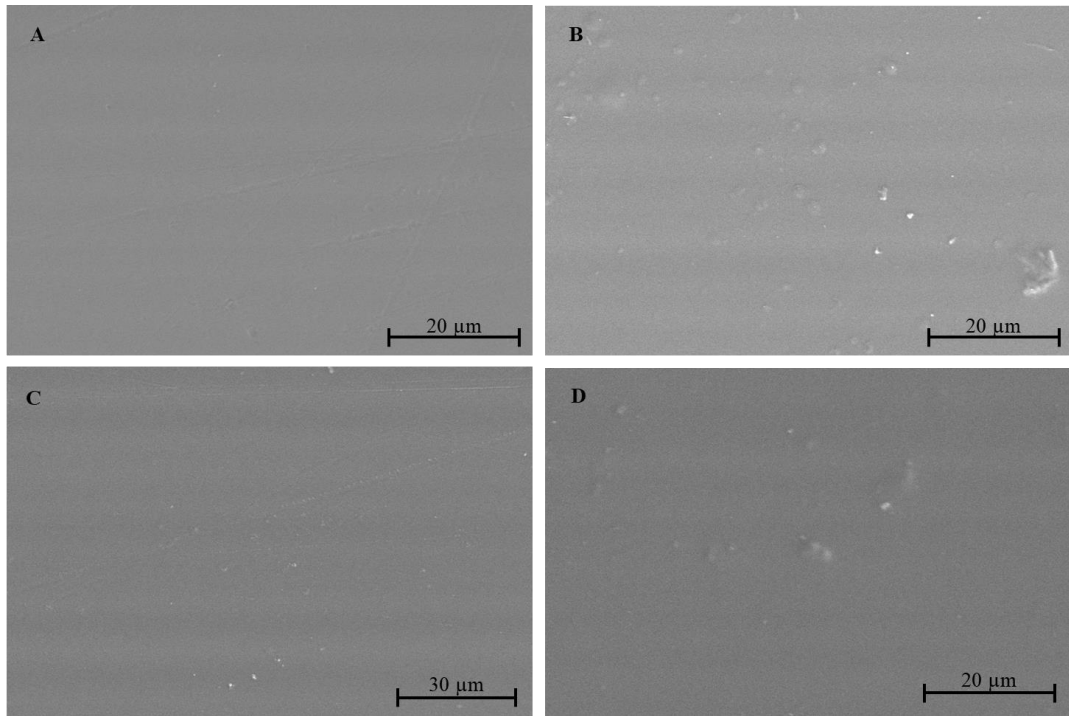
göğüs fileto örneklerinin raf ömrünü olumlu yönde etkilemiştir. Sonuç olarak, filmlere eklenecek GSE miktarı %15 olarak seçilmiştir (CH15G).

4.3. GSE İçeren CH Bazlı Nano Kompozit Filmlerin Elde Edilmesi ve Karakterizasyonu (3. AŞAMA)

4.3.1. Film karakterizasyonu

4.3.1.1. Yüzey ve kesit morfolojisi

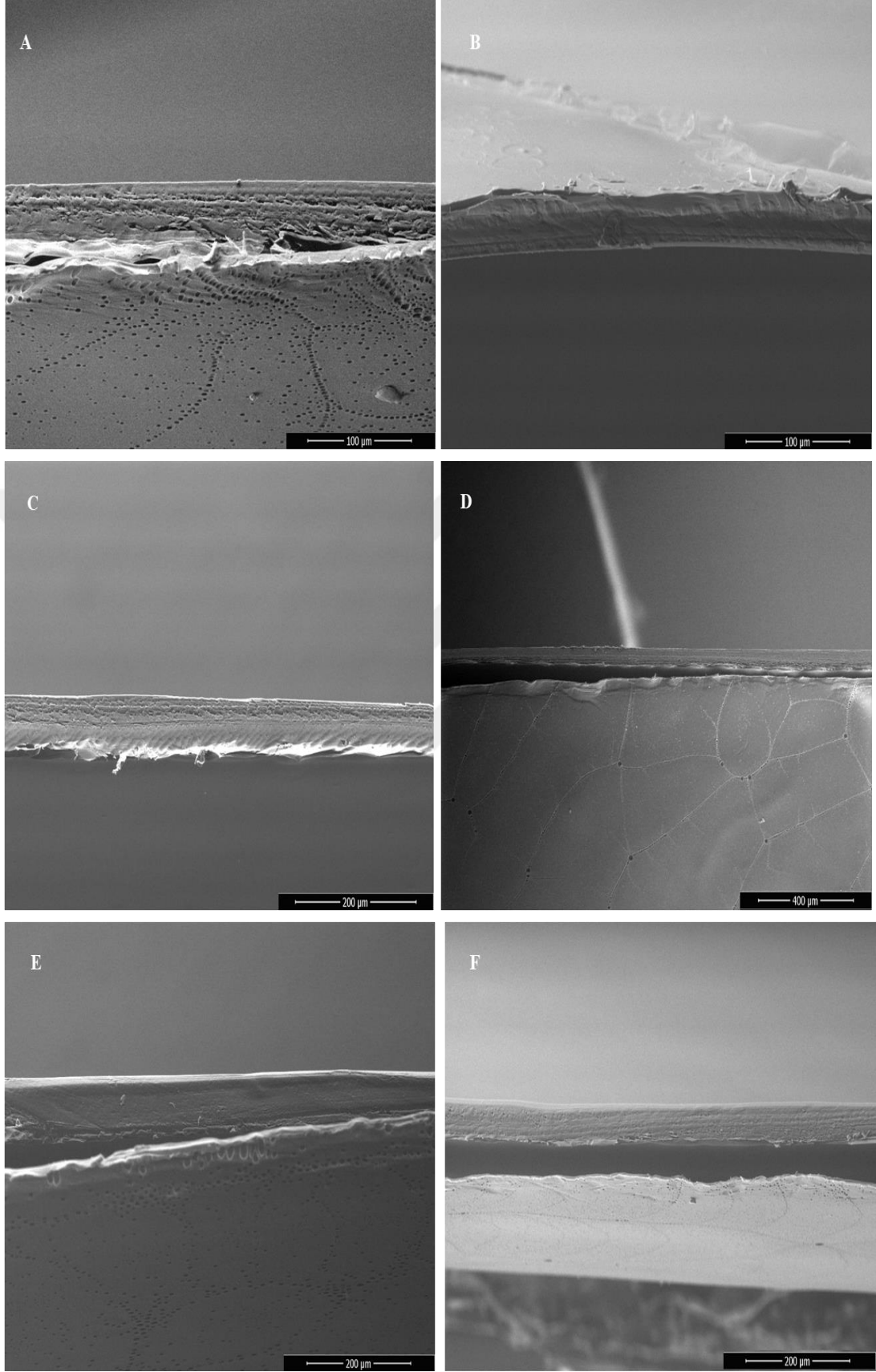
Taramalı elektron mikroskobu (SEM), film örneklerinin mikroskobik boyutlarda hem içyapısı hem de katmanlar arasındaki adhezyon hakkında bilgi vermektedir. SEM analizi, CH filmlerle PCL ve COC film katmanları arasındaki etkileşim ile CH filmlere eklenen GSE ve NC bileşenlerinin homojen bir şekilde dağılıp dağılmadığını, CH ile uyum sağlayıp sağlamadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Film örneklerinin iki katmanlı filmler oluşturulmadan önce yüzey SEM (CH, CH15G, CH5N ve CH15G5N) görüntüleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. CH (A), CH15G (B), CH5N (C) ve CH15G5N (D) filmlere ait yüzey mikrogramları (500-5000X büyütme).

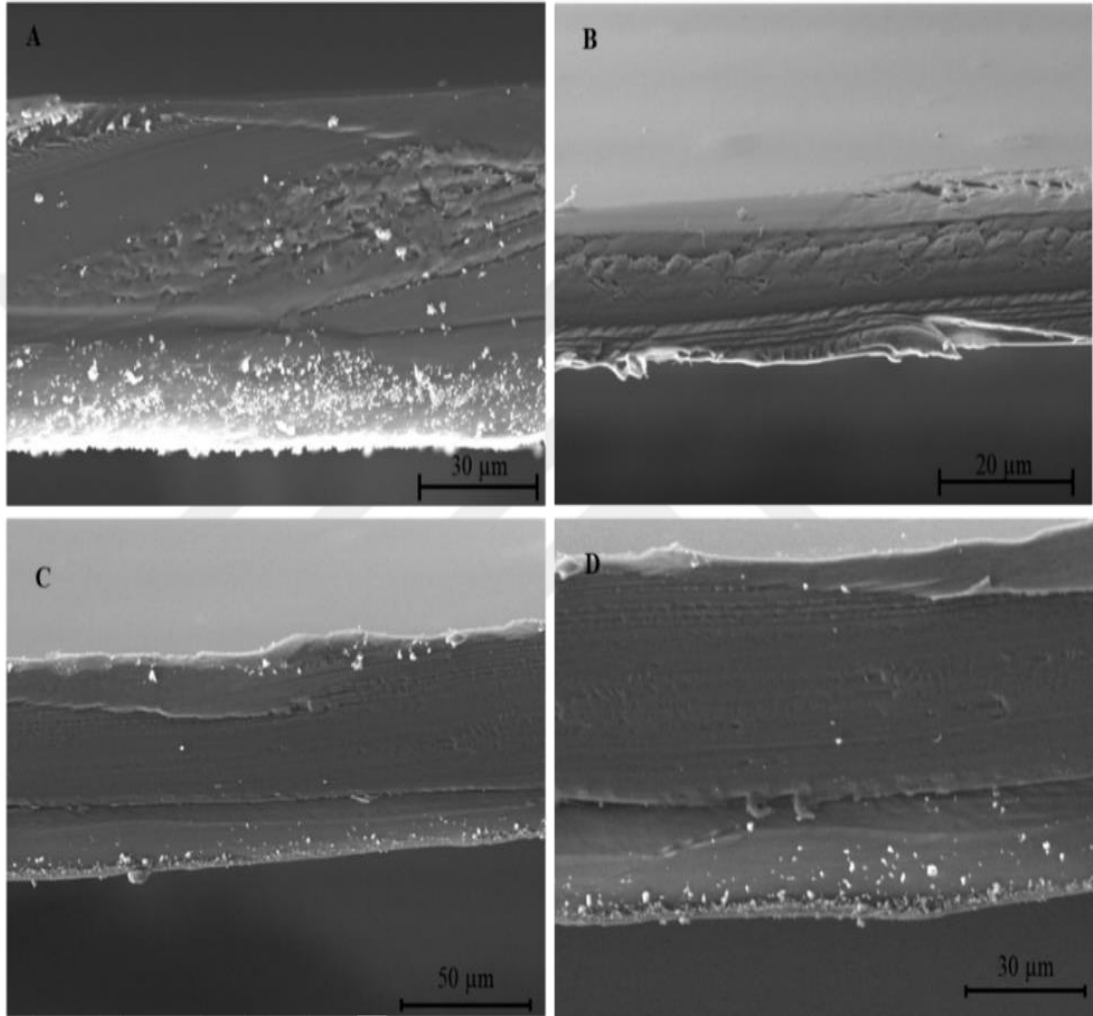
CH ve CH5N filmlere ait yüzey görüntüleri, bu filmlerin oldukça pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum, NC ve CH'in birbirleriyle uyumlu olduğunu, NC'nin CH film içerisinde homojen bir şekilde dağıldığını göstermektedir. Ancak GSE içeren filmlerin pürüzlü yüzeye sahip olduğu görülmektedir. Benzer şekilde, Khan vd. (2012) CH filmlere %10 NC oranına kadar eklenen ve uygun bir şekilde homojenizasyon sağlanan CH filmlerin pürüzsüz yüzey özelliklerine sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

COC-C iki katmanlı (CH COC-C, CH1N COC-C, CH2N COC-C, CH15G COC-C, CH15G1N COC-C ve CH15G2N COC-C) filmlere ait kesit SEM görüntüleri Şekil 4.10'da gösterildiği gibidir. Her bir katman kendine özgü kalınlıktadır ve görüntülerden COC katmanı (daha ince) ile CH katmanı (daha kalın) kolaylıkla anlaşılabilir. CH, CH1N ve CH2N COC-C film örnekleri için katmanlar arası adhezyonun oldukça iyi olduğu ve filmler arası uyumluluğun da iyi olduğu görülmektedir. Ancak, GSE içeren filmler için COC katmanının CH film yüzeyinden ayrılarak faz ayırımına neden olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.10. COC-C iki katmanlı filmlere ait kesit SEM görüntüleri (500-1000x büyütme) (A:CH COC-C, B:CH1N COC-C, C:CH2N COC-C, D:CH15G COC-C, E:CH1N15G COC-C, F:CH2N15G COC-C)

PCL-C iki katmanlı filmlere ait SEM kesit görüntüleri Şekil 4.11’de gösterilmiştir. COC-C iki katmanlı filmlerde olduğu gibi PCL-C filmlerde de iki katman kolaylıkla ayırt edilebilmektedir. Mikrogram görüntülerine göre CH ve PCL katmanları arasında oldukça iyi bir etkileşim vardır. COC-C iki katmanlı GSE içeren filmlerde gözlenen faz ayrımı PCL-C filmlerde gözlenmemiştir.

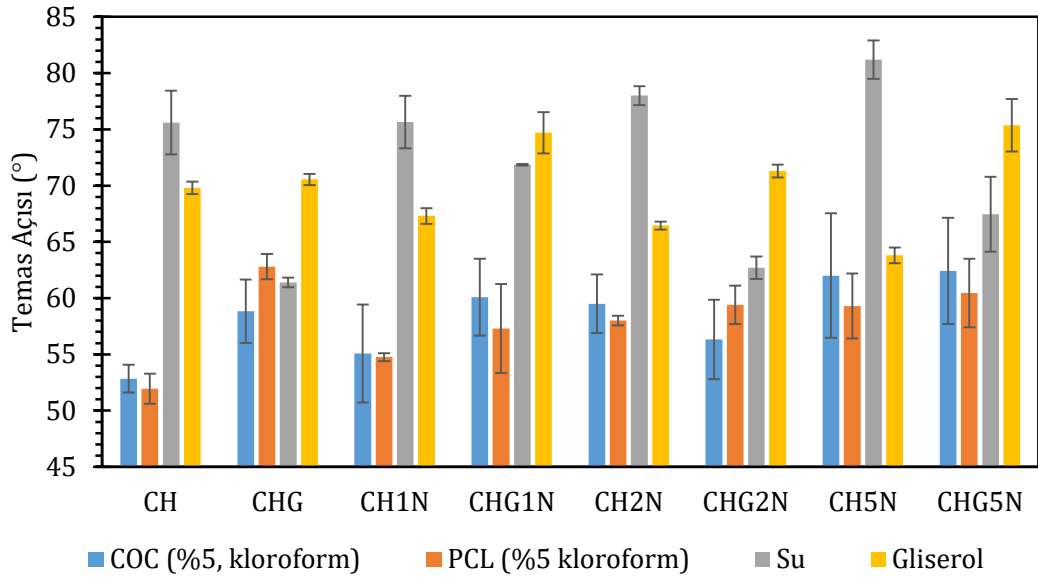


Şekil 4.11. PCL-C iki katmanlı filmlere ait kesit SEM görüntüleri (500-1000x büyütme) (A:CH PCL-C, B:CH5N PCL-C, C:CH15G PCL-C, D:CH15G5N PCL-C)

4.3.1.2. Temas Açısı

Temas açısı, katı yüzeyi ve bu yüzeye damlatılan sıvı damlanın, katı-sıvı etkileşim noktasında elde edilen tanjant çizgisi ile belirlenen açı değeridir. Bu değer, fazlar arası etkileşimin bir ölçüsü olup sıvıların herhangi bir yüzeye yayılabilirliğini ya

da yüzeylerin test edilen sıvı ile ıslanırılığını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (Vogler, 1998). Bu yüzden, temas açısı değerleri PCL ve COC'nin CH filmlerle uyumluluğunu test etmek için kullanılmıştır. COC ve PCL film çözeltileri ile gliserol ve suyun CH filmlerin yüzeyindeki temas açısı değerleri Şekil 4.12'de verildiği gibidir. Şekil 4.12'de görülen tüm değerler 90°'nin altında olup bu çözeltilerin CH film yüzeyinde etkin bir şekilde yayılabilirliğini ya da ıslanabilirliğini göstermektedir. Temas açısı değerlerinin 90°'nin altında olması, CH filmlerin COC ve PCL film çözeltileri ile kaplanabileceği ve bu polimerler kullanılarak çok katmanlı filmler oluşturulabileceğinin bir göstergesidir.



Şekil 4.12. NC ve/veya GSE içeren veya içermeyen CH film örnekleri yüzeyinde COC ve PCL (%5, kloroform) film çözeltileri ile su ve gliserol için temas açısı değerleri

COC ve PCL film çözeltileri için farklı içerikteki CH film yüzeyleri (NC, GSE içeriği) arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). En düşük temas açısı değerleri CH film yüzeylerinde gözlenmiştir ($p < 0.05$). GSE ve NC içeren CH filmlerin temas açısı değerleri ise daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Pürüzlü yüzeyler, hem katı yüzey dokusunda hem de hava kısmında homojen olmayan bölümler oluşturur. Pürüzlü yüzeye sahip olan yüzeylerin temas açıları artış gösterir ve bu durum, yüzey üzerinde bulunan mikro boyuttaki sivrilmiş uçlar yüzünden sıvının yüzeyi kaplama veya yüzeylerin ıslanırılık derecesini azaltır

(Farris vd., 2011). Sonuç olarak, sıvı ve yüzey arasındaki yüzey gerilimi oldukça düşer. Bu durum, GSE ve NC içeren CH filmlerin yüzeylerinde oluşan yüksek temas açısı değerlerini açıklamaktadır. En düşük temas açısı değerleri COC ve PCL film çözeltilerine ait bulunmuştur ($p<0.05$). Katı/sıvı ara yüzeyinde, CH filmlerin apolar asetil amid kısımlarının olması veya film çözeltilerinin CH film içyapısına absorbe olması temas açısı değerlerinin düşmesine neden olmuş olabilir.

Su ve gliserol için temas açısı değerleri farklı davranış göstermiştir. GSE içeren CH filmlerin yüzeyinde gliserol için daha yüksek temas açısı değerleri bulunurken su için GSE içeren CH filmlerin yüzeylerinde temas açısı değerleri daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). NC içeren CH filmlerin yüzeyinde gliserol için temas açısı değerleri daha düşük bulunurken su için NC oranı arttıkça temas açısı değerlerinde artış görülmüştür ($p<0.05$). Benzer şekilde, Gartner vd. (2015) temas açısı ölçümlerini CH ve PCL karışımı film yüzeylerinde PCL film çözeltisi ile kaplanabilirliği ölçmek için kullanmış ve metil difenil di-izosiyanat içeren CH ve PCL karışımı filmlerin temas açısı değerlerini daha düşük bularak iki film arasındaki uyumluluğu göstermişlerdir.

4.3.1.3. Su buharı geçirgenlik (WVP), suda çözünürlük ve su tutma kapasitesi değerleri

Tek katmanlı film örneklerine ait kalınlık, su buharı geçirgenliği (WVP), suda çözünürlük ve su tutma kapasitesi değerleri Çizelge 4.5'te gösterildiği gibidir. İki katmanlı film örneklerine ait kalınlık ve su buharı geçirgenlik değerleri Çizelge 4.6 ve çözünürlük ve su tutma kapasitesi değerleri Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Tek katmanlı film örneklerine ait kalınlık, su buharı geçirgenliği (WVP), çözünlülük ve su tutma kapasitesi değerleri

Örnek	Kalınlık	WVP (g mm/ kPahm ²)	Çözünlülük (%)	Su tutma kapasitesi (%)
CH	51.33±2.52 ^b	9.87±0.85 ^{ab}	19.81±1.75 ^b	448.22±12.32 ^a
CH15G	53.67±5.13 ^{ab}	10.75±0.43 ^a	26.29±2.24 ^a	185.88±7.77 ^c
CH1N	53.50±2.12 ^b	8.21±1.36 ^{bc}	17.39±1.09 ^{bc}	447.23±26.19 ^a
CH15G1N	55.50±2.12 ^b	8.91±0.51 ^b	21.81±0.36 ^b	193.54±4.12 ^c
CH2N	55.50±2.12 ^{ab}	6.29±1.05 ^c	17.81±0.36 ^{bc}	423.54±4.12 ^{ab}
CH15G2N	60.67±2.52 ^a	7.91±0.51 ^{bc}	18.85±0.92 ^{bc}	180.27±0.53 ^c
CH5N	56.43±0.11 ^{ab}	5.90±0.46 ^c	15.36±1.34 ^c	393.38±1.85 ^b
CH15G5N	61.03±0.20 ^a	6.90±2.41 ^c	17.68±1.23 ^{bc}	185.11±8.05 ^c

^{a-c} Sütunlarda gözlenen farklı harfler arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05)

Film örneklerinin kalınlıklarının GSE ve NC ilavesi ile birlikte arttığı gözlenmiştir (p<0.05). Talon vd. (2017) film kalınlıklarının polimer yapının içerisine eklenen bileşenler ile polimer zinciri arasındaki etkileşimden etkilendiğini belirtmiştir. Bu yüzden, NC ve GSE içeren filmlerin daha kalın olması, CH filmlerin içyapısında meydana gelen homojenlik farklılıklarından kaynaklanmış olabilir.

Çizelge 4.6. İki katmanlı film örneklerine ait kalınlık, su buharı geçirgenliği (WVP) değerleri

Örnek	Kalınlık			WVP		
	COC-C	PCL-C	PCL-P	COC-C	PCL-C	PCL-P
CH	82.00±1.41 ^{Bb}	75.67±0.52 ^{Cb}	124.67±4.56 ^{Ac}	0.49±0.02 ^{Ab}	0.48±0.07 ^{Aa}	0.52±0.01 ^{Ab}
CH15G	86.50±2.12 ^{Bb}	81.33±1.12 ^{Ca}	124.00±2.54 ^{Ac}	0.67±0.37 ^{Aa}	0.57±0.08 ^{Aa}	0.65±0.16 ^{Aa}
CH1N	85.00±2.83 ^{Bb}	75.67±1.36 ^{Cb}	126.33±6.56 ^{Ac}	0.29±0.04 ^{Bb}	0.51±0.09 ^{Aa}	0.37±0.06 ^{Bc}
CH15G1N	88.50±0.71 ^{Ba}	74.67±4.2 ^{Cb}	132.00±3.20 ^{Abc}	0.39±0.45 ^{Bb}	0.54±0.07 ^{Aa}	0.47±0.16 ^{Bc}
CH2N	84.50±3.54 ^{Bb}	83.67±1.37 ^{Ba}	142.00±1.25 ^{Ab}	0.26±0.04 ^{Bb}	0.40±0.05 ^{Aa}	0.44±0.05 ^{Ab}
CH15G2N	85.50±2.12 ^{Bb}	84.33±0.43 ^{Ba}	175.67±2.78 ^{Aa}	0.36±0.21 ^{Bb}	0.52±0.06 ^{Aa}	0.59±0.02 ^{Ab}
CH5N	85.50±3.42 ^{Bb}	82.00±0.23 ^{Ba}	141.33±1.33 ^{Ab}	0.27±0.02 ^{Bb}	0.37±0.12 ^{Ba}	0.44±0.01 ^{Ac}
CH15G5N	91.00±1.82 ^{Ba}	82.67±2.67 ^{Ca}	144.33±0.89 ^{Ab}	0.36±0.02 ^{Ab}	0.43±0.03 ^{Aa}	0.45±0.10 ^{Ac}

^{a-c} Sütunlarda gözlenen farklı harfler için örnekler arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05)

^{A-C} Satırlarda gözlenen farklı harfler için uygulamalar arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05)

Çizelge 4.7. İki katmanlı film örneklerine ait çözünürlük ve su tutma kapasitesi değerleri

Örnek	Çözünürlük (%)			Su tutma kapasitesi (%)		
	COC-C	PCL-C	PCL-P	COC-C	PCL-C	PCL-P
CH	11.00±0.96 ^{Bc}	14.22±2.55 ^{Bb}	18.05±1.63 ^{Ab}	188.31±9.20 ^{Bab}	262.41±22.40 ^{Aa}	137.21±16.55 ^{Ba}
CH15G	17.00±0.68 ^{Aa}	15.38±2.76 ^{Ab}	24.52±2.22 ^{Aa}	159.57±7.73 ^{Ab}	135.93±2.06 ^{Bc}	71.63±6.59 ^{Cb}
CH1N	10.05±0.29 ^{Bc}	10.93±1.85 ^{Bc}	16.08±0.35 ^{Abc}	205.95±13.52 ^{Aab}	192.72±13.37 ^{Ab}	126.36±3.16 ^{Ba}
CH15G1N	16.83±1.17 ^{Bab}	14.20±2.51 ^{Cb}	21.72±1.93 ^{Aa}	129.01±9.65 ^{Bb}	181.20±8.34 ^{Abc}	54.69±1.11 ^{Cc}
CH2N	15.63±0.15 ^{Ab}	10.94±0.29 ^{Bc}	14.14±1.43 ^{Ac}	243.57±19.05 ^{Aa}	211.98±39.21 ^{Aa}	80.61±5.09 ^{Bb}
CH15G2N	16.30±1.49 ^{Aab}	19.25±0.82 ^{Aa}	15.05±1.75 ^{Ac}	138.33±6.89 ^{Ab}	128.78±20.14 ^{Ad}	78.59±1.62 ^{Bb}
CH5N	17.42±1.42 ^{Aa}	9.15±0.56 ^{Bc}	14.65±1.65 ^{Ac}	247.41±7.52 ^{Aa}	228.02±20.24 ^{Aa}	86.05±5.39 ^{Bb}
CH15G5N	18.38±1.38 ^{Aa}	16.57±1.50 ^{Ab}	16.68±1.52 ^{Abc}	144.49±4.89 ^{Ab}	148.76±6.86 ^{Ac}	46.36±4.38 ^{Bc}

^{a-c} Sütunlarda gözlenen farklı harfler için örnekler arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05)

^{A-C} Satırlarda gözlenen farklı harfler için uygulamalar arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05)

İki katmanlı film örneklerinin su buharı geçirgenlik (WVP) değerleri, tek katmanlı filmlere göre oldukça düşüktür. CH film yapının yüksek su bağlama kapasitesi daha fazla su molekülünün yapı boyunca transfer olmasını sağlayarak yüksek geçirgenlik değerleri elde edilmesine neden olmaktadır (Kurek vd., 2012). Tek katmanlı film örneklerinde en yüksek WVP değeri CH15G filmlerinde gözlenirken iki katmanlı filmler için en yüksek değer CH15G COC-C film örneklerine aittir ($p<0.05$). PCL-P ve PCL-C filmleri ile karşılaştırıldığında PCL-C iki katmanlı film örneklerinin WVP değerleri daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Elde edilen sonuçlar, Rivero vd. (2009), ve Khwaldia vd. (2014)'nın iki katmanlı filmler için gelişmiş bariyer özellikler gözlemlendiği çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

Film örneklerinde GSE ilavesinin WVP değerlerinde artışa neden olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Bu durum, GSE'nin plastifiye edici etki oluşturması ve moleküller arası etkileşimi azaltarak moleküler hareketliliği arttırmıştırdan kaynaklanabilir. NC ilave edilen film örneklerinde, NC konsantrasyonu arttıkça WVP değerlerinde azalış meydana gelmiştir ($p<0.05$). NC içeren filmlerin WVP değerlerinde gözlenen gelişme, NC partiküllerinin su moleküllerine karşı geçirgenliği çok az olan kristal yapısı ve yüksek en-boy oranı ile CH film yapısında homojen bir şekilde dağıldığını göstermektedir. Bu şekilde, NC partikülleri CH film yapısı içerisinde su moleküllerinin geçeceği yolu daha kıvrımlı hale getirerek, su moleküllerinin difüzyon hızını yavaşlatmaktadır. Benzer sonuçlar, nano-lif (Azeredo vd., 2010) ve mikro/makro zenginleştirme ajanı (Casariego vd., 2009) içeren CH filmler için araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.

İki katmanlı film örneklerinin suda çözünürlük değerleri 10.05 ± 0.29 - 24.52 ± 2.22 aralığında değişmektedir (Çizelge 4.7). Suda çözünürlük, film örnekleri için filmlerin suya karşı dayanıklılıklarının bir ölçüsüdür. GSE içeren filmlerin çözünürlük değerlerini arttırması, bu filmlerin suya karşı direncini azaltarak yapı kaybına neden olmuştur ($p<0.05$). Bunun yanı sıra iki katmanlı filmler ve NC içeren filmler daha düşük çözünürlük değerlerine sahip olup filmlerin suya karşı dirençlerinde artış sağlamıştır. Benzer sonuçlar, CH filmlere nanoselüloz ve zeytinyağı ilavesi yapılarak çözünürlüğün azaltıldığı çalışma ile benzerlik göstermektedir (Pereda vd., 2014). Dehnad vd. (2014) gliserol ve

nanoselüloz miktarı arttıkça CH filmlerin çözünürlük değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Aynı zamanda, Rhim vd. (2015), montmorillonit ve organik modifiye montmorillonitin dolgu maddesi olarak kullanıldığı çalışmada CH filmlerin çözünürlüklerinde düşüş gerçekleştiğini rapor etmişlerdir. PCL-C ve COC-C iki katmanlı filmler PCL-P filmlerle karşılaştırıldığında çözünürlük değerlerinde daha fazla gelişim sağlamış ($p<0.05$) ve PCL-P filmlerin suya karşı dayanımının daha düşük olduğu belirlenmiştir.

GSE içeren filmlerin yüksek çözünürlük değerleri düşük su tutma kapasitesi değerlerine neden olmuştur ($p<0.05$). Bu durum, bu filmlerin su tutma kapasitesi analizi boyunca suda çözünmeye başlamışıyla yapı kaybetmesinden kaynaklanış olabilir. CH filmlere NC ilavesi, su tutma kapasitesi değerlerinde düşüşe neden olmuştur ($p<0.05$). NC kristalin yapıya sahip olup CH ile karşılaştırıldığında suya daha az afinite göstermektedir. Bunun yanı sıra, NC'nin sahip olduğu yüksek boy-en oranı ve CH film yapısı ile oluşturduğu sağlam yapı su tutma kapasitesi değerlerinde düşüşe neden olmuştur. NC ilavesi ile elde edilen düşük çözünürlük ve su tutma kapasitesi değerleri WVP değerleri ile uyum içerisindedir. Khan vd. (2012), %10 oranına kadar ilave edilen NC miktarının CH filmlerin su tutma kapasitesi değerlerinde azalışa neden olduğunu belirtmiştir. İki katmanlı filmler, daha düşük su tutma kapasitesi değerleri göstererek ($p<0.05$), filmlerin sulu ortamda şişerek yapı kaybını önlemiştir. PCL-P iki katmanlı filmleri PCL-C ve COC-C iki katmanlı filmleri ile karşılaştırıldığında daha düşük su tutma kapasitesi değerleri göstermiştir ($p<0.05$).

4.3.1.4. Mekanik özellikler

Tek katmanlı ve iki katmanlı film örneklerine ait elastik modül (EM), çekme dayanımı (TS) ve elastikiyet (%) değerleri Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9'da gösterildiği gibidir.

Çizelge 4.8. Tek katmanlı film örneklerinin mekanik özellikleri

Örnek	EM (GPa)	TS (MPa)	E (%)
CH	1.50±0.06 ^b	13.96±0.84 ^b	18.27±3.09 ^{ab}
CH15G	1.53±0.03 ^b	11.30±3.10 ^b	18.63±1.05 ^{ab}
CH1N	1.63±0.20 ^a	16.25±1.15 ^a	17.52±2.97 ^{ab}
CH15G1N	1.64±0.14 ^a	14.77±3.04 ^{ab}	20.32±3.93 ^a
CH2N	1.65±0.09 ^a	18.06±3.30 ^a	19.40±3.74 ^{ab}
CH15G2N	1.56±0.23 ^b	13.53±2.09 ^b	18.10±0.99 ^{ab}
CH5N	1.29±0.16 ^c	14.24±0.14 ^{ab}	15.62±1.90 ^{ab}
CH15G5N	1.18±0.21 ^c	14.26±1.63 ^{ab}	14.72±0.85 ^b

^{a-c} Sütunlarda gözlenen farklı harfler arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05)

Çizelge 4.9. İki katmanlı film örneklerinin mekanik özellikleri

Örnek	EM (GPa)			TS (MPa)			E (%)		
	COC-C	PCL-C	PCL-P	COC-C	PCL-C	PCL-P	COC-C	PCL-C	PCL-P
CH	1.12±0.07 ^{Bb}	1.14±0.02 ^{Bbc}	1.37±0.09 ^{Ac}	11.03±1.53 ^{Bc}	11.22±0.74 ^{Bb}	14.50±2.57 ^{Ab}	24.93±0.79 ^{Aa}	18.49±0.57 ^{Bb}	14.74±1.20 ^{Bc}
CH15G	1.04±0.03 ^{Bb}	1.18±0.01 ^{Bbc}	1.78±0.18 ^{Aa}	16.67±0.93 ^{Bab}	12.39±1.88 ^{Cb}	22.82±1.91 ^{Aa}	21.55±3.86 ^{Aa}	23.01±0.30 ^{Aa}	24.55±2.28 ^{Aa}
CH1N	1.56±0.04 ^{Aab}	1.29±0.17 ^{Bb}	1.43±0.09 ^{Bb}	14.67±4.88 ^{Ab}	15.21±1.09 ^{Aa}	14.93±5.40 ^{Ab}	14.99±1.41 ^{Bb}	17.88±0.22 ^{Ab}	13.82±4.49 ^{Bc}
CH15G1N	1.38±0.19 ^{Ab}	1.05±0.03 ^{Ac}	1.50±0.42 ^{Ab}	11.98±1.08 ^{Bc}	11.41±0.33 ^{Bb}	14.57±6.25 ^{Ab}	20.01±2.83 ^{Aa}	21.55±1.18 ^{Aab}	23.81±3.29 ^{Aa}
CH2N	1.71±0.20 ^{Aa}	1.81±0.01 ^{Aa}	1.48±0.25 ^{Ab}	13.52±1.73 ^{Bb}	16.69±1.51 ^{Aa}	14.94±4.38 ^{Bb}	14.95±3.53 ^{Bb}	17.63±1.07 ^{Ab}	13.20±2.63 ^{Bc}
CH15G2N	1.15±0.05 ^{Ab}	1.66±0.11 ^{Aa}	1.72±0.31 ^{Aa}	19.55±1.00 ^{Aa}	16.28±2.33 ^{Ba}	16.10±2.83 ^{Bab}	20.63±0.01 ^{Aa}	21.24±0.27 ^{Aab}	17.72±0.99 ^{Ab}
CH5N	1.12±0.12 ^{Cb}	1.30±0.01 ^{Bb}	1.66±0.06 ^{Aa}	11.01±1.01 ^{Bc}	11.04±1.62 ^{Bb}	24.97±2.06 ^{Aa}	22.15±2.65 ^{Aa}	15.73±3.61 ^{Bc}	13.13±2.05 ^{Bc}
CH15G5N	1.07±0.11 ^{Ab}	1.20±0.07 ^{Ab}	1.23±0.14 ^{Ac}	13.70±0.37 ^{Ab}	10.30±0.34 ^{Bb}	14.63±3.59 ^{Ab}	20.35±2.65 ^{Aa}	14.72±0.65 ^{Bc}	20.46±3.17 ^{Aa}

^{a-c} Sütunlarda gözlenen farklı harfler için örnekler arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05).

^{A-C} Satırlarda gözlenen farklı harfler için uygulamalar arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05)

CH filmlere NC ilavesi, NC'nin sahip olduğu yüksek en-boy oranı ile CH matriksinde sağladığı homojen-sağlam yapı EM değerlerinde artış sağlamıştır ($p<0.05$). Ancak, %5 oranında NC ilavesi, %2 NC ilavesi ile karşılaştırıldığında EM değerlerinde azalışa neden olmuştur ($p<0.05$). Bu durum, %5 oranı ile birlikte etkin miktarın aşıldığını ve NC partiküllerinin CH film çözeltisi içerisinde çökelmeye başladığının göstergesidir. GSE ilavesi de CH filmlerin EM değerlerinde artışa neden olmuştur ($p<0.05$). Benzer sonuçlar, CH filmler için dolgu maddesi olarak nanoselülozu kullanan çalışmalarda da gösterilmiştir (Tang vd., 2008; Suryenegara vd., 2009; Azeredo vd., 2010; Wan vd., 2013).

PCL-C ve COC-C iki katmanlı filmler, tek katmanlı filmlerle karşılaştırıldığında daha düşük EM değerlerine sahiptir ($p<0.05$). Bu durum, COC ve PCL film çözeltilerinin CH filmlerin yüzeyinde deformasyona neden olarak daha rijit filmlerin oluşmasından ya da iki katman arasındaki etkileşimin film oluşturma sürecinde azalmasından kaynaklanmış olabilir. PCL-P iki katmanlı filmleri ise daha yüksek EM değerleri göstermiştir.

CH filmlere NC ilavesi, TS değerlerinde de artışa neden olmuştur ($p<0.05$). Mesquita vd. (2012), bu durumun nanokristal-polimer ara yüzeyindeki gerilimin etkin bir şekilde aktarmasından kaynaklandığını açıklamıştır. GSE ilavesi, TS değerlerinde artışa neden olurken, iki katmanlı filmler daha düşük TS değerleri göstermiştir ($p<0.05$). PCL-P iki katmanlı filmleri, EM değerlerine benzer şekilde, COC-C ve PCL-C iki katmanlı filmlerine göre daha yüksek TS değerleri göstermiştir ($p<0.05$). Li ve Zhang (2009), nanoselüloz ile zenginleştirilen CH filmlerde TS değerlerinin arttığını rapor etmiştir.

CH filmlere NC ilavesi, elastikiyeti (E, %) düşürürken, GSE ilavesi E değerlerinde artışa neden olmuştur ($p<0.05$). GSE'nin CH film çözeltisi içerisinde etkin bir şekilde karıştırıldığında sahip olduğu hidrofilik karakter sayesinde plastifiyan görevi görerek CH filmlerin elastikiyetini arttırdığı düşünülmektedir. NC ve CH filmler arasındaki güçlü etkileşim, polimerin hareketini azaltmış ve böylece elastikiyetini azaltmış olabilir (Khan vd., 2012).

4.3.1.5. Optik özellikler

Tek katmanlı film örneklerine ait optik özellikler (transmittans, opaklık ve renk değerleri) Çizelge 4.10'da gösterildiği gibidir. İki katmanlı film örneklerine ait transmittans ve opaklık değerleri Çizelge 4.11'de, iki katmanlı film örneklerine ait renk değerleri Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Tek katmanlı film örneklerinin optik özellikleri

Örnek	T (%)	Opaklık (AUnm/mm)	L^*	a^*	b^*
CH	86.10±0.85 ^a	303.25±21.96 ^b	95.53±0.15 ^{ab}	-0.55±0.06 ^a	4.76±0.11 ^e
CH15G	81.10±0.17 ^{bc}	341.42±12.95 ^a	95.12±0.18 ^b	-1.61±0.08 ^d	9.96±0.33 ^b
CH1N	87.10±0.36 ^a	288.05±11.38 ^b	95.85±0.36 ^a	-0.53±0.06 ^a	4.78±0.10 ^e
CH15G1N	81.97±0.59 ^b	342.84±11.81 ^a	95.67±0.46 ^{ab}	-1.34±0.13 ^c	8.64±0.65 ^c
CH2N	86.20±0.30 ^a	283.72±13.43 ^b	95.80±0.41 ^a	-0.74±0.01 ^b	5.84±0.28 ^d
CH15G2N	78.83±0.49 ^{cd}	348.40±14.33 ^a	95.09±0.18 ^b	-1.93±0.14 ^e	11.56±0.71 ^a
CH5N	85.10±2.06 ^a	291.73±22.85 ^b	95.29±0.29 ^{ab}	-0.63±0.03 ^{ab}	5.27±0.14 ^{de}
CH15G5N	77.57±2.04 ^d	370.40±14.85 ^a	95.04±0.30 ^b	-1.49±0.04 ^{cd}	9.30±0.12 ^{bc}

^{a-e} Sütunlarda gözlenen farklı harfler arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05)

Çizelge 4.11. İki katmanlı film örneklerine ait optik özellikler

Örnek	T (%)			Opaklık (AUnm/mm)x10 ³		
	COC-C	PCL-C	PCL-P	COC-C	PCL-C	PCL-P
CH	69.40±0.14 ^{Aab}	41.83±2.67 ^{Bc}	0.87±0.05 ^{Cb}	0.38±0.04 ^{Cb}	2.01±0.26 ^{Ba}	3.58±0.09 ^{Ab}
CH15G	61.40±2.12 ^{Bb}	49.47±2.09 ^{Ab}	0.84±0.05 ^{Cb}	0.41±0.02 ^{Cb}	1.05±0.13 ^{Bb}	3.48±0.19 ^{Ab}
CH1N	77.55±0.21 ^{Aa}	60.23±2.19 ^{Ba}	0.80±0.08 ^{Cb}	0.35±0.02 ^{Cc}	0.79±0.10 ^{Bcd}	4.52±0.15 ^{Aa}
CH15G1N	67.65±1.06 ^{Aab}	43.23±6.61 ^{Bc}	1.07±0.05 ^{Ca}	0.34±0.02 ^{Bc}	0.12±0.05 ^{Cd}	4.38±0.29 ^{Aa}
CH2N	77.00±0.42 ^{Aa}	60.00±3.55 ^{Aa}	0.80±0.12 ^{Bb}	0.30±0.03 ^{Cc}	0.97±0.19 ^{Bc}	4.50±0.34 ^{Aa}
CH15G2N	64.10±5.27 ^{Ab}	50.00±3.49 ^{Ab}	0.79±0.08 ^{Bb}	0.40±0.04 ^{Cb}	0.99±0.12 ^{Bc}	4.70±0.38 ^{Aa}
CH5N	78.90±1.89 ^{Aa}	56.67±7.93 ^{Bab}	1.23±0.12 ^{Ca}	0.64±0.03 ^{Ca}	1.10±0.07 ^{Bb}	4.67±0.34 ^{Aa}
CH15G5N	57.65±2.54 ^{Ac}	51.27±3.70 ^{Ab}	0.80±0.22 ^{Bb}	0.67±0.05 ^{Ba}	1.01±0.14 ^{Bb}	3.90±0.49 ^{Ab}

^{a-c} Sütunlarda gözlenen farklı harfler için örnekler arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05).

^{A-C} Satırlarda gözlenen farklı harfler için uygulamalar arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05)

Çizelge 4.12. İki katmanlı film örneklerine ait renk değerleri

Örnek	<i>L*</i>			<i>a*</i>			<i>b*</i>		
	COC-C	PCL-C	PCL-P	COC-C	PCL-C	PCL-P	COC-C	PCL-C	PCL-P
CH	94.89±0.25 ^{Bab}	95.68±0.31 ^{Aa}	93.58±0.18 ^{Ca}	-0.53±0.07 ^{Aa}	-0.92±0.09 ^{Ba}	-1.23±0.04 ^{Cbc}	6.19±0.83 ^{Bb}	6.36±0.21 ^{Bb}	10.35±0.81 ^{Ac}
CH15G	93.64±0.65 ^{Bab}	94.73±0.27 ^{Ab}	88.30±0.64 ^{Cb}	-1.14±0.51 ^{Bc}	-1.34±0.15 ^{Bb}	3.00±0.89 ^{Aab}	11.37±1.33 ^{Ca}	14.22±0.54 ^{Ba}	28.67±0.91 ^{Aa}
CH1N	95.22±0.50 ^{Aa}	95.73±0.15 ^{Aa}	92.65±0.38 ^{Ba}	-0.44±0.07 ^{Aa}	-0.94±0.08 ^{Ba}	-0.42±0.04 ^{Ac}	5.50±0.69 ^{Bb}	6.63±0.29 ^{Bb}	18.53±1.15 ^{Ab}
CH15G1N	94.43±0.33 ^{Aab}	94.98±0.15 ^{Ab}	88.55±1.34 ^{Bb}	-0.82±0.09 ^{Bb}	-1.29±0.09 ^{Bb}	2.27±0.91 ^{Ab}	8.80±0.62 ^{Bab}	9.55±0.26 ^{Ba}	26.86±2.53 ^{Aa}
CH2N	95.42±0.38 ^{Aa}	94.69±0.15 ^{Ab}	87.02±0.44 ^{Bb}	-0.58±0.05 ^{Ba}	-1.36±0.14 ^{Ca}	3.73±0.25 ^{Aab}	5.60±0.21 ^{Cb}	10.18±1.04 ^{Bb}	28.60±0.56 ^{Aa}
CH15G2N	93.75±0.66 ^{Ab}	94.69±0.15 ^{Ab}	87.02±0.44 ^{Bb}	-0.82±0.08 ^{Bb}	-1.36±0.14 ^{Cb}	3.73±0.25 ^{Aab}	9.85±1.51 ^{Cab}	10.18±1.04 ^{Ba}	28.90±0.46 ^{Aa}
CH5N	94.88±2.88 ^{Aab}	95.69±0.14 ^{Aa}	92.11±0.26 ^{Ba}	-0.82±0.03 ^{Bb}	-0.91±0.09 ^{Ba}	0.19±0.12 ^{Ac}	8.29±1.29 ^{Cab}	6.51±0.62 ^{Bb}	20.19±0.60 ^{Ab}
CH15G5N	94.10±2.41 ^{Aab}	94.81±0.09 ^{Ab}	85.72±0.54 ^{Bc}	-1.09±0.02 ^{Bc}	-1.33±0.05 ^{Bb}	6.63±0.55 ^{Aa}	10.33±1.03 ^{Ba}	9.77±0.20 ^{Ba}	30.04±1.50 ^{Aa}

^{a-c} Sütunlarda gözlenen farklı harfler için örnekler arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05).

^{A-C} Satırlarda gözlenen farklı harfler için uygulamalar arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05)

İki katmanlı film örneklerinin transmittans değerleri tek katmanlı film örneklerine göre oldukça düşüktür ($p<0.05$). NC içeren filmlerin transmittans değerleri NC oranı arttıkça artış gösterirken GSE ilavesi, transmittans değerlerinde azalışa neden olmuştur ($p<0.05$). Benzer şekilde, aktif bileşen olarak ferulik asit içeren sodyum kazeinat filmlerin (Fabra vd., 2011) ve rutin/epikatesin içeren soya proteini izolatu filmlerin (Friesen vd., 2015) transmittans değerlerinin azaldığı gösterilmiştir.

CH filmlere GSE ilavesi aynı zamanda opaklık değerlerinde artışa neden olmuştur ve iki katmanlı film örnekleri tek katmanlı film örnekleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek opaklık değerleri göstermiştir ($p<0.05$). Bu sonuçlar, yüzeyler arasında, (yüzey seviyesinde) bazı düzensizliklerin meydana geldiğini ve film kalınlığı boyunca kaplama kalınlığında bazı düzensizliklerin olduğunu göstermektedir. PCL-P iki katmanlı filmlerin en düşük transmittans değerlerine ve en yüksek opaklık değerlerine sahip olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). PCL-P iki katmanlı filmlerde basınç ve yüksek sıcaklık uygulaması yüzey pürüzlüğünü etkilemekte zincir düzensizliğine ve daha düzensiz yapıda yüzeylerin oluşmasına neden olmuş olabilir (Valencia-Sullca vd., 2017). PCL-C iki katmanlı filmleri PCL-P iki katmanlı filmleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek L^* değerlerine sahiptir ($p<0.05$).

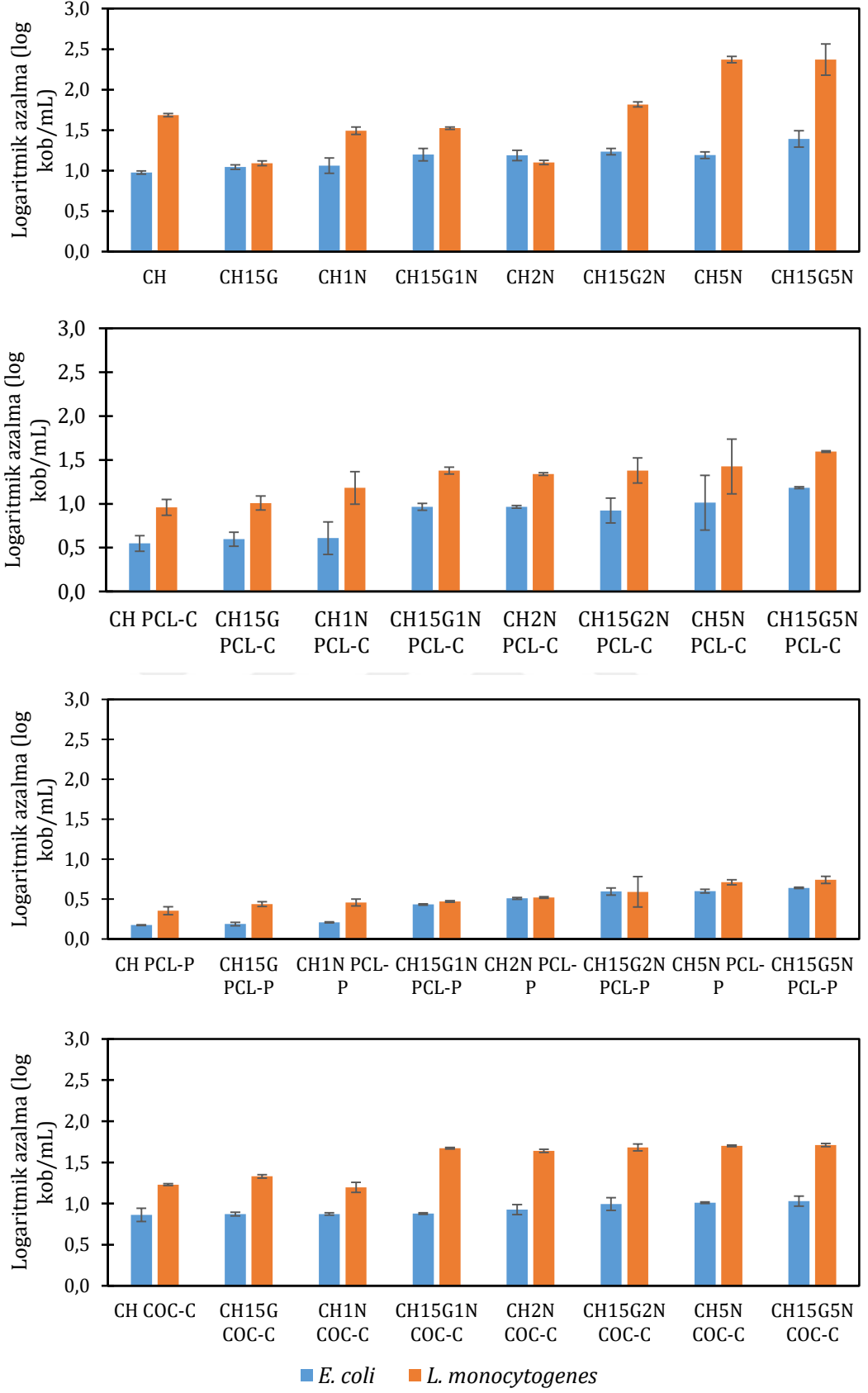
Film örneklerinin opaklık ve transmittans değerlerini gösteren özellikler daha çok, filmlerin morfolojik özellikleri ile ilişkili olup kimyasal yapıları ile ilişkilendirilmemektedir (Hernandez, 1997). Bu çalışmada, GSE ve NC sulu çözeltiler halinde CH film çözeltisine ilave edilmiş ve mekanik karıştırma uygulanarak homojenizasyon yapılmıştır. Film yapısı içerisindeki GSE dispersiyonları ışığın film boyunca daha fazla dağılmasına neden olarak opaklık değerlerini arttırmıştır. Aynı şekilde, CH film ile GSE arasındaki fenolik etkileşimler artarak, filmlerin ışığa geçirgenliğini azaltmış olabilir.

CH filmlere GSE ilavesi filmlerin daha sarı ve mat görünmesine neden olmuştur. GSE ilavesi L^* değerlerinde azalışa neden olurken NC ilavesi filmlerin daha parlak (L^* değerlerinde artış) algılanmasını sağlamıştır ($p<0.05$). Fenolik bileşenlerin

ilave edildikleri biyo bazlı filmlere kendi rengini verdiği yapılan bazı çalışmalarda belirtilmektedir. Park ve Zhao (2006), soya filmlerine yaban mersini posası ilavesinin filmlerin kırmızı renklerinde artışa neden olduğunu ve Wang vd. (2012) de ahududu ekstraktı ilavesinin antosiyaninlerce zengin filmlerde kırmızılık değerlerinin arttığını göstermiştir. GSE ve/veya NC ilavesi PCL-C filmlerin a^* değerlerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmazken ($p>0.05$), PCL-P iki katmanlı filmlerin a^* değerleri GSE ilavesi ve artan NC oranlarıyla artış göstermektedir ($p<0.05$).

4.3.2. Film örneklerine ait antimikrobiyal aktivite değerleri

Film örneklerinin *E. coli* ve *L. Monocytogenes*'e karşı gösterdiği antimikrobiyal etki log kob/mL olarak Şekil 4.13'te ve Çizelge C.1'de gösterilmiştir. Tüm film örnekleri, sıvı besiyeri ortamında, Gram (+) (*L. monocytogenes*) ve Gram (-) (*E. coli*) bakterilere karşı etki göstermiştir. Bazı çalışmalarda, %1-1.3 (ağırlıkça) oranından daha fazla oranlarda hazırlanan CH filmlerin bazı Gram (+) (*Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes*) ve Gram (-) (*E. coli*, *Salmonella enteritidis*) bakterilerin mikrobiyal gelişimine karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Dehnad vd., 2014; Park vd., 2010). Bu çalışmada, %1.5 (ağırlıkça) konsantrasyon kullanılarak hazırlanan CH filmler için yaklaşık 2 log kob/mL inhibisyon değeri belirlenmiştir. Bu değerler, Rhim vd. (2006)'nın çalışmasında gözlenen değerlerden daha azdır. Bunun sebebi, kullanılan CH çeşitlerinin moleküler ağırlıklarının farklı olması olabilir. CH filmlerin gösterdiği antimikrobiyal etki test edilen mikroorganizmaya göre değişmektedir. NC ve GSE içeren filmlerin test edilen iki mikroorganizmaya karşı da daha etkili olduğu gözlenmiştir. Bu filmlerde gözlenen yüksek antimikrobiyal etki, CH ve GSE'nin NC varlığında sinerjistik etki verdiğini göstermektedir. GSE için antimikrobiyal aktivite mekanizması, sahip olduğu fenolik bileşenlerin hücre membranına zarar vermesi, enzimleri inhibe ederek enerji metabolizmasına zarar vermesi şeklindedir (Cushnie, 2011). Tüm film örnekleri, *E. coli* ile karşılaştırıldığında *L. monocytogenes*'e karşı daha fazla etki göstermiştir ($p<0.05$). Benzer sonuçlar, Dehnad vd. (2014) tarafından NC içeren CH filmler için *E. coli*'ye karşı elde edilmiştir.

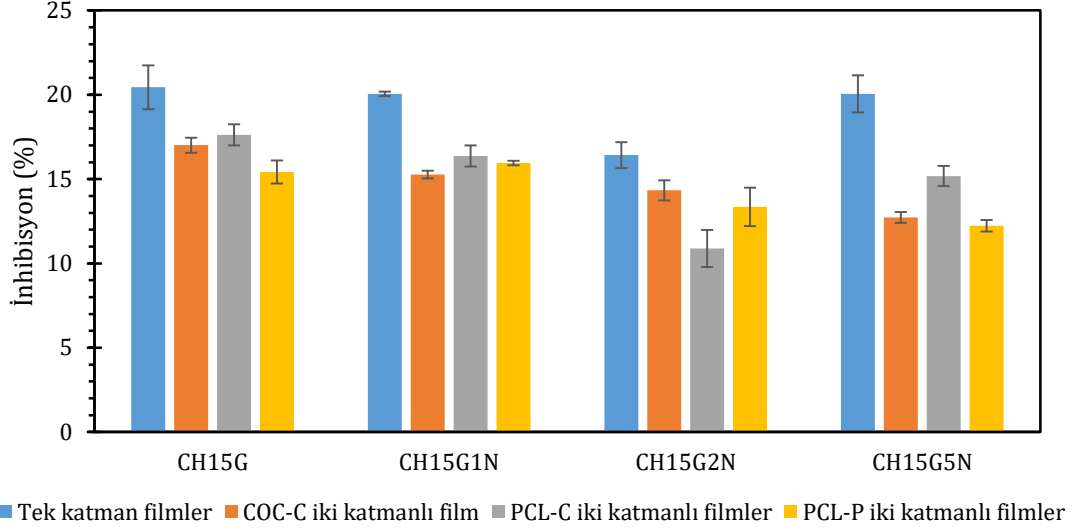


Şekil 4.13. Film örneklerinin *E. coli* ve *L. monocytogenes*'e karşı gösterdiği inhibisyon (sıvı ortam) değerleri

Tek katmanlı filmler, iki katmanlı filmlerle karşılaştırıldığında her iki mikroorganizmaya karşı da daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir ($p<0.05$). En düşük antimikrobiyal aktivite değerleri PCL-P iki katmanlı filmlerde gözlenirken ($p<0.05$), PCL-C ve COC-C filmlerin aktivite değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). PCL-P iki katmanlı filmlerde gözlenen düşük aktivite değerleri GSE'nin sıvı ortama yetersiz salınım göstermesinden ya da CH katmanının sıvı besiyeri ortamında yeterince şişme göstermemesinden kaynaklanabilir. Benzer bir sonuç, Muller vd. (2017) tarafından polilaktik asit ve nişasta içeren antimikrobiyal filmlerde de gözlenmiştir.

4.3.3. Film örneklerine ait antioksidan aktivite değerleri

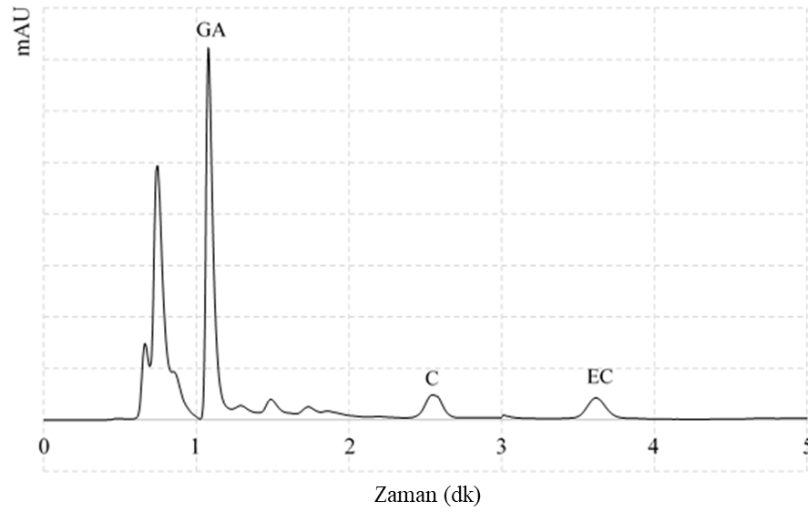
Antioksidan ambalajlama sistemleri, kullanılacak olan fenolik bileşenlerin reaktivitesine bağlı olarak gıdaların raf ömrünü uzatmak için kullanılan en iyi alternatiflerden birisidir. GSE içeren CH filmlere ait antioksidan aktivite değerleri Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Film örneklerinin içerisine eklenen GSE miktarı ile aynı konsantrasyona sahip GSE sulu çözeltisinin DPPH radikalini indirgeme oranı $\%27.80\pm 0.47$ şeklinde bulunmuştur. NC içeren ve iki katmanlı filmlerin CH15G filmlerle karşılaştırıldığında daha az antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). CH filmlere GSE ilave edilmesi, GSE'nin yüksek fenolik bileşen içeriği sayesinde film örneklerinin hepsine antioksidan özellik kazandırmıştır. Filmlere eklenen aktif bileşen miktarının optimize edilmesi gerekmektedir. Yüksek konsantrasyonda eklenen aktif bileşenler film çözeltileri içerisinde çökelme ya da film çözeltisi ile uyumsuzluk gibi sorunlara neden olabilir ve bu durum film örneklerine daha az aktif özellik kazandırılmasına yol açar. Elde edilen sonuçlar, yeşil çay ekstraktı (Siripatrawan ve Harte, 2010), α - tokoferol (Martins vd., 2012), üzüm çekirdeği ekstraktı (Moradi vd., 2012) ve üzüm posası (Ferreira vd., 2014) gibi antioksidan özellik gösteren bileşenlerce zenginleştirilmiş CH filmlerle yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.14. GSE içeren film örneklerine ait antioksidan aktivite değerleri

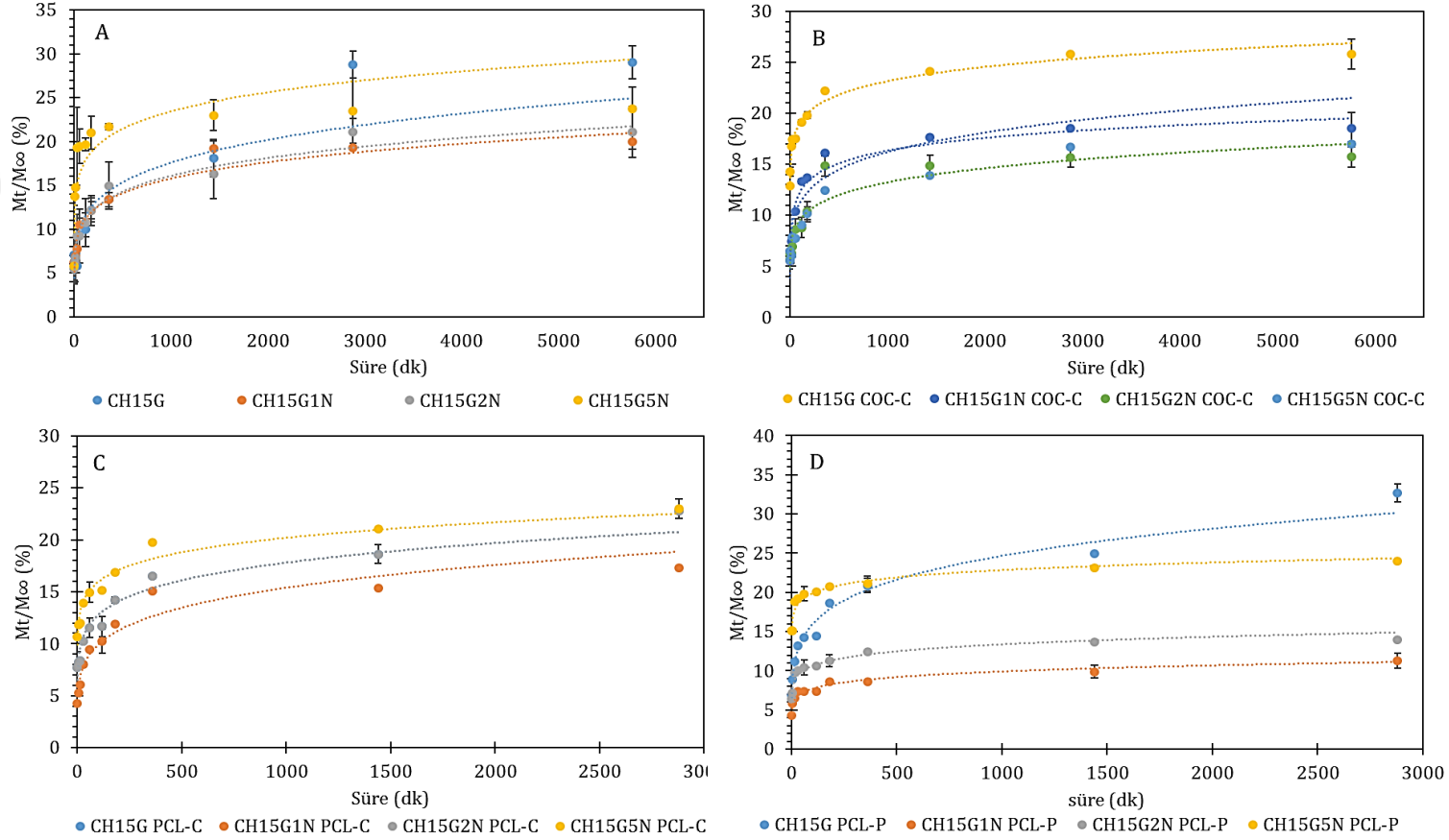
4.3.4. Salınım çalışmaları

CH filmlere eklenen konsantrasyon ile aynı konsantrasyona sahip GSE sulu çözeltisi için sıvı kromatografik yöntemle elde edilen kromatogram Şekil 4.15'te gösterildiği gibidir. Çalışmalarda kullanılan GSE'de en fazla miktarda bulunan (baskın) fenolik bileşen gallik asit olarak bulunmuştur. Salınım çalışmalarında, ilgili çözücü ortam için gallik asit standart eğrileri hazırlanarak salınım hesaplamaları yapılmıştır.

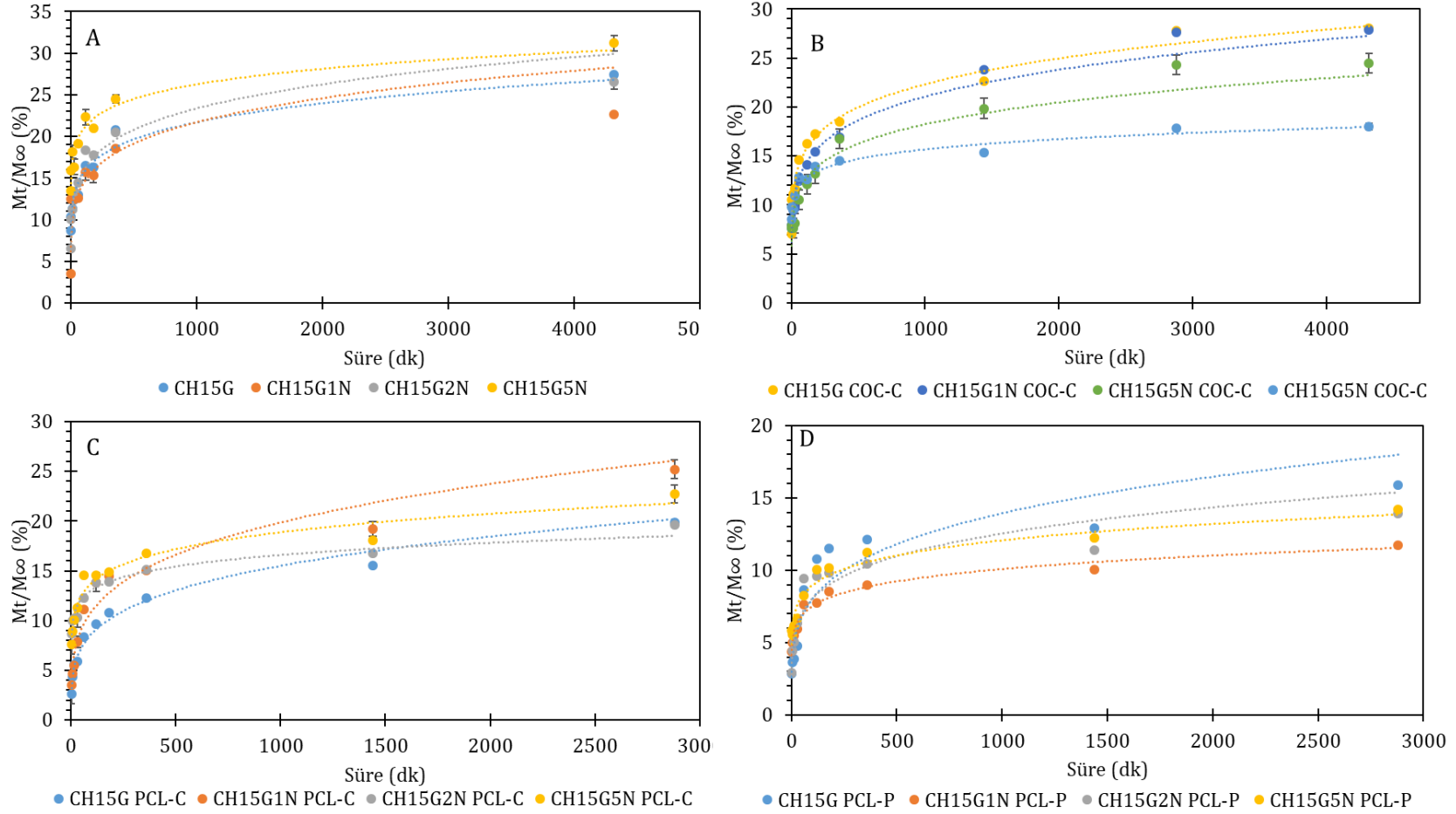


Şekil 4.15. GSE bileşenlerine ait HPLC kromatogramı (gallik asit (GA), kateşin (C) ve epikateşin (EC)).

Şekil 4.16 ve Şekil 4.17, zamana karşı salınan aktif bileşen miktarını vermektedir. Film örneklerinin denge zamanları NC konsantrasyonuna ve ikinci katmanın uygulanmasına bağlı olarak değişim göstermiştir. COC-C iki katmanlı filmler için gallik asit salınımı CH15G ve CH15G COC-C filmlerde NC içeren filmlere göre daha hızlı ve daha kısa sürede gerçekleşmiştir ($p<0.05$). Bu durum, CH15G filmlerin yüksek çözünürlük oranları ile ilişkilendirilebilir ve bu şekilde simülant ortamında daha kısa sürede çözünerek GSE bileşenlerinin ortama kısa sürede salınımı gerçekleşmiştir. NC içeren filmlerden GSE salınımının daha yavaş gerçekleşmesi, NC ile CH arasındaki güçlü etkileşim sonucu oluşan sert yapı ile açıklanabilir. Elde edilen sonuçlar, Boumail vd. (2013) tarafından hazırlanan iki katmanlı filmlerden (iç katman NC ile zenginleştirilmiş metilselüloz katman ve antimikrobiyal bileşen taşıyan dış katman) antimikrobiyal bileşen salınımı için belirlenen oranlarla benzerlik göstermektedir. PCL-P iki katmanlı filmlerden gallik asit salınımı PCL-C iki katmanlı film örneklerine göre daha hızlı gerçekleşmiş ve dengeye daha kısa sürede ulaşılmıştır ($p<0.05$). Salınım ortamları karşılaştırıldığında, tüm film örnekleri için simülant B'de aktif bileşen salınımının daha hızlı olduğu görülmektedir. Bu durum, CH filmlerin asetik asit çözeltisi içerisindeki çözünürlüğünün oldukça yüksek olmasından kaynaklanabilir. Asetik asit sulu çözeltisi, CH filmler için, polimer yapısını daha esnek hale getirerek eklenen bileşenin difüzyon hızını arttırmaktadır. Benzer bir etki, Talon vd. (2017) tarafından CH filmlerinden, simülant B ortamına polifenol salınımı için gözlenmiştir.



Şekil 4.16. Simülant A için zamanın bir fonksiyonu olarak aktif bileşen salınım miktarı (semboller deneysel verileri, ilgili eğriler teorik tahmin değerlerini vermektedir) (A:Tek katmanlı filmler, B: COC-C iki katmanlı filmler, C:PCL-C iki katmanlı filmler, D:PCL-P iki katmanlı filmler)



Şekil 4.17. Simülant B için zamanın bir fonksiyonu olarak aktif bileşen salınım miktarı (semboller deneysel verileri, ilgili eğriler teorik tahmin değerlerini vermektedir) (A:Tek katmanlı filmler, B: COC-C iki katmanlı filmler, C:PCL-C iki katmanlı filmler, D:PCL-P iki katmanlı filmler)

Çizelge 4.13 her bir simulant için gallik asit salınımına ait Korsmeyer-Peppas parametrelerini göstermektedir. Gallik asit salınım kinetikleri, her bir film örneğinin farklı gıda simülantları ile muamele edildikten sonra elde edilen değerlerin Korsmeyer-Peppas denkliği ile hesaplanmıştır. Deneysel sonuçlar ve teorik veriler karşılaştırılarak modele uygunluk değerleri de belirlenmiştir. Elde edilen n değerleri, CHG PCL-C ve CHG PCL-C filmleri hariç, diğer tüm film örnekleri için 0.5'ten daha düşük olup Fick difüzyon davranışı göstermemiştir. Bu durum, film örneklerinin çözücülerde kısmi çözünmesi ile açıklanabilir.

Çizelge 4.13. Korsmeyer-Peppas model parametreleri (k: hız sabiti, n: difüzyon katsayısı)

Örnek	Simülant		n	K	R ²
CH15G	A	Tek katman	0.40±0.01	2.30±0.02	0.94
		COC-C	0.20±0.01	2.91±0.01	0.99
		PCL-C	0.33±0.01	2.55±0.15	0.95
		PCL-P	0.44±0.01	2.67±0.05	0.98
	B	Tek katman	0.33±0.01	2.74±0.09	0.97
		COC-C	0.37±0.01	2.65±0.01	0.98
		PCL-C	0.57±0.01	2.04±0.01	0.99
		PCL-P	0.55±0.01	1.96±0.01	0.91
CH15G1N	A	Tek katman	0.48±0.01	2.67±0.29	0.91
		COC-C	0.40±0.02	2.34±0.01	0.95
		PCL-C	0.44±0.01	2.19±0.12	0.96
		PCL-P	0.24±0.02	1.99±0.01	0.97
	B	Tek katman	0.25±0.03	2.65±0.03	0.94
		COC-C	0.41±0.01	2.56±0.01	0.96
		PCL-C	0.59±0.01	2.27±0.02	0.96
		PCL-P	0.29±0.03	1.95±0.02	0.97
CH15G2N	A	Tek katman	0.45±0.05	2.27±0.15	0.97
		COC-C	0.35±0.01	2.19±0.01	0.90
		PCL-C	0.37±0.01	2.43±0.01	0.93
		PCL-P	0.23±0.01	2.31±0.02	0.94
	B	Tek katman	0.33±0.08	2.66±0.03	0.97
		COC-C	0.37±0.01	2.43±0.01	0.89
		PCL-C	0.24±0.01	2.77±1.31	0.95
		PCL-P	0.44±0.01	1.99±0.01	0.93
CH15G5N	A	Tek katman	0.44±0.05	1.31±0.37	0.92
		COC-C	0.45±0.04	1.58±0.02	0.97
		PCL-C	0.24±0.01	2.72±0.02	0.95
		PCL-P	0.34±0.01	2.07±1.54	0.93
	B	Tek katman	0.42±0.03	2.26±0.45	0.94
		COC-C	0.39±0.01	2.11±0.02	0.98
		PCL-C	0.31±0.01	2.55±0.02	0.97
		PCL-P	0.30±0.01	2.12±0.01	0.94

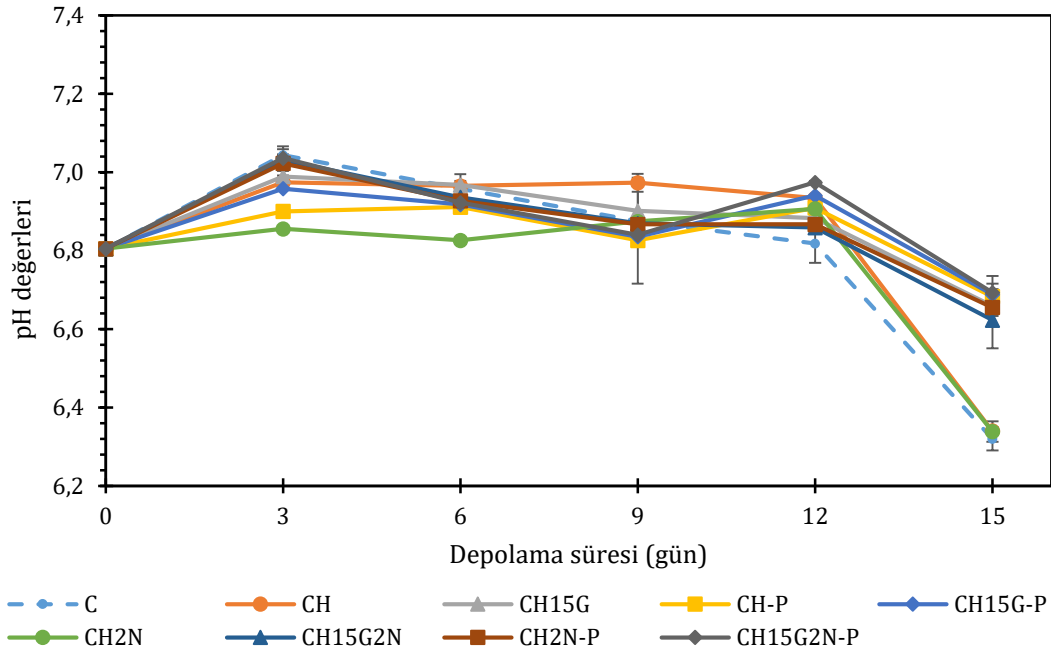
4.4. Gıda Uygulamasında Kullanılacak Ambalaj Malzemesinin Seçimi (4. AŞAMA)

Tez çalışmasının son basamağı olan gıda uygulamasında kullanılacak ambalaj seçimi için film örneklerine ait özellikler çoklu regresyon kullanılarak test edilmiş ve parametrelere ait en yüksek ve en düşük değerlerin özetlendiği program çıktısı Çizelge C.2’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar için en uygun model kullanılarak istenilen özelliklere uyan 4 farklı çözüm de belirlenmiştir (Çizelge C.3). Bu çözümler arasından seçilen örnekler gıda ambalajlama uygulamalarında deneme olarak kullanılmıştır. İstatistik analizlerinin sonucunda üretilen en iyi ambalaj materyalinin CH15G2N PCL-C iki katmanlı film örnekleri olduğu sonucuna varılmıştır (Çizelge C.4). İstatistiksel analiz sonuçlarında elde edilen CH15G2N PCL-C ile ambalajlanan örneklerin depolama boyunca kalitesinde meydana gelen değişimler ve elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.4.1. pH değerleri

Tavuk göğüs fileto örneklerinin buzdolabı koşulları altında depolama boyunca pH değerlerindeki değişim Şekil 4.18’de gösterilmiştir. pH verilerinin istatistiksel analizi sonucunda tavuk göğüs fileto örneklerinin pH değerlerinin farklı ambalaj materyallerinden etkilendiği belirlenmiştir ($p<0.05$). Tavuk göğüs fileto örneklerinin pH değerleri depolama boyunca yavaş bir şekilde düşüş göstermiştir ($p<0.05$). CH15G2N-P filmlerle ambalajlanan örneklerin pH değerleri depolama sonunda en yüksek değeri (6.69) alırken kontrol örnekleri en düşük pH değerlerini (6.32) vermiştir ($p<0.05$). Tek katmanlı filmlerle ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinin pH değerleri iki katmanlı filmlerle ambalajlanan örneklerin pH değerlerinden daha düşük değerler alırken, GSE içeren filmlerle ambalajlanan örneklerin pH değerleri depolama boyunca daha yüksek değerler almıştır ($p<0.05$). Tavuk göğüs fileto örneklerinin pH değerlerindeki değişim bakteriyel gelişim sonucu oluşan asitlik ya da bakteriyel yükün artması nedeniyle gerçekleşmiş olabilir (Gomez ve Lorenzo, 2012). Benzer pH düşüşü, Soysal vd. (2015) tarafından, çok katmanlı antimikrobiyal filmlerle

ambalajlanan ve buzdolabı koşullarında 6 gün boyunca depolanan tavuk butu örnekleri için de rapor edilmiştir.



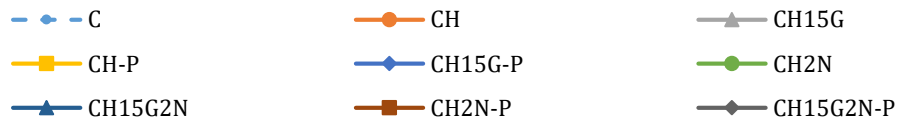
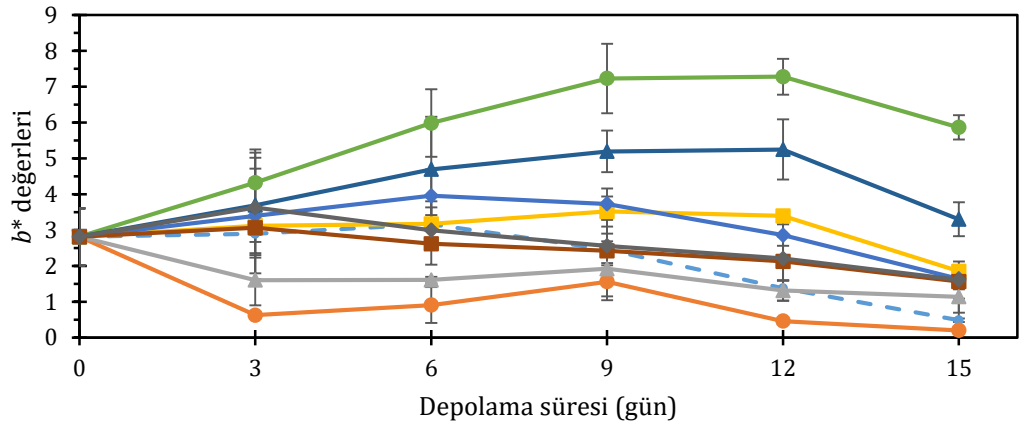
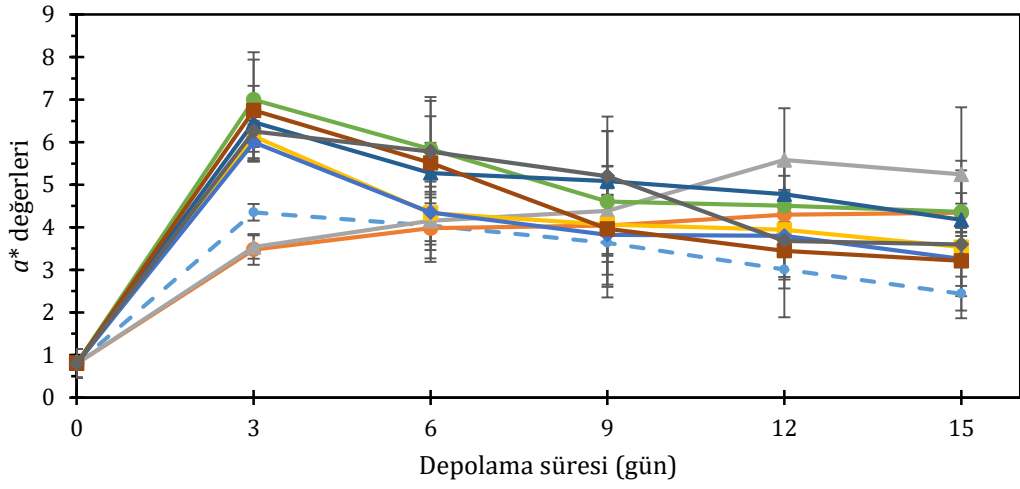
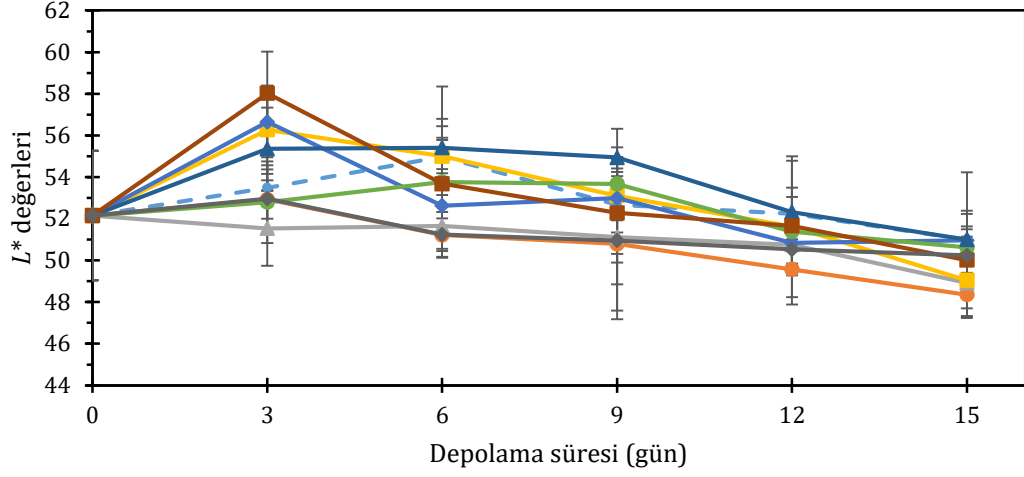
Şekil 4.18. Farklı ambalaj filmlerinin depolama süresince tavuk göğüs fileto örneklerinin pH değerleri üzerine etkileri

CH15G2N filmlerle ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinin pH değerleri depolama boyunca önemli derecede değişim göstermemiştir ($p>0.05$). CH15G2N filmler antimikrobiyal gelişimi efektif bir şekilde baskıladığı için tavuk göğüs fileto örneklerinin pH değerleri değişim göstermemiştir. Benzer şekilde, Khan vd. (2016) antimikrobiyal özellikli ambalajların et örneklerinin pH değerlerinin depolama boyunca stabil kalmasını sağladığını belirtmiştir.

4.4.2. Renk değerleri

Tavuk göğüs fileto örneklerinin renk değerlerindeki değişim Şekil 4.19 ve Çizelge C.5'te gösterilmiştir. Depolama boyunca, CH filmlerle ambalajlanan örnekler en düşük L^* değerlerini gösterirken CH15G filmlerle ambalajlanan örnekler en yüksek L^* değerlerini göstermiştir ($p<0.05$). İki katmanlı filmlerle ambalajlanan örneklerin L^* değerleri, CH15G2N-P ile ambalajlanan örnekler hariç, tek katmanlı filmlerle ambalajlanan örneklerin L^* değerlerinden daha yüksek bulunmuştur

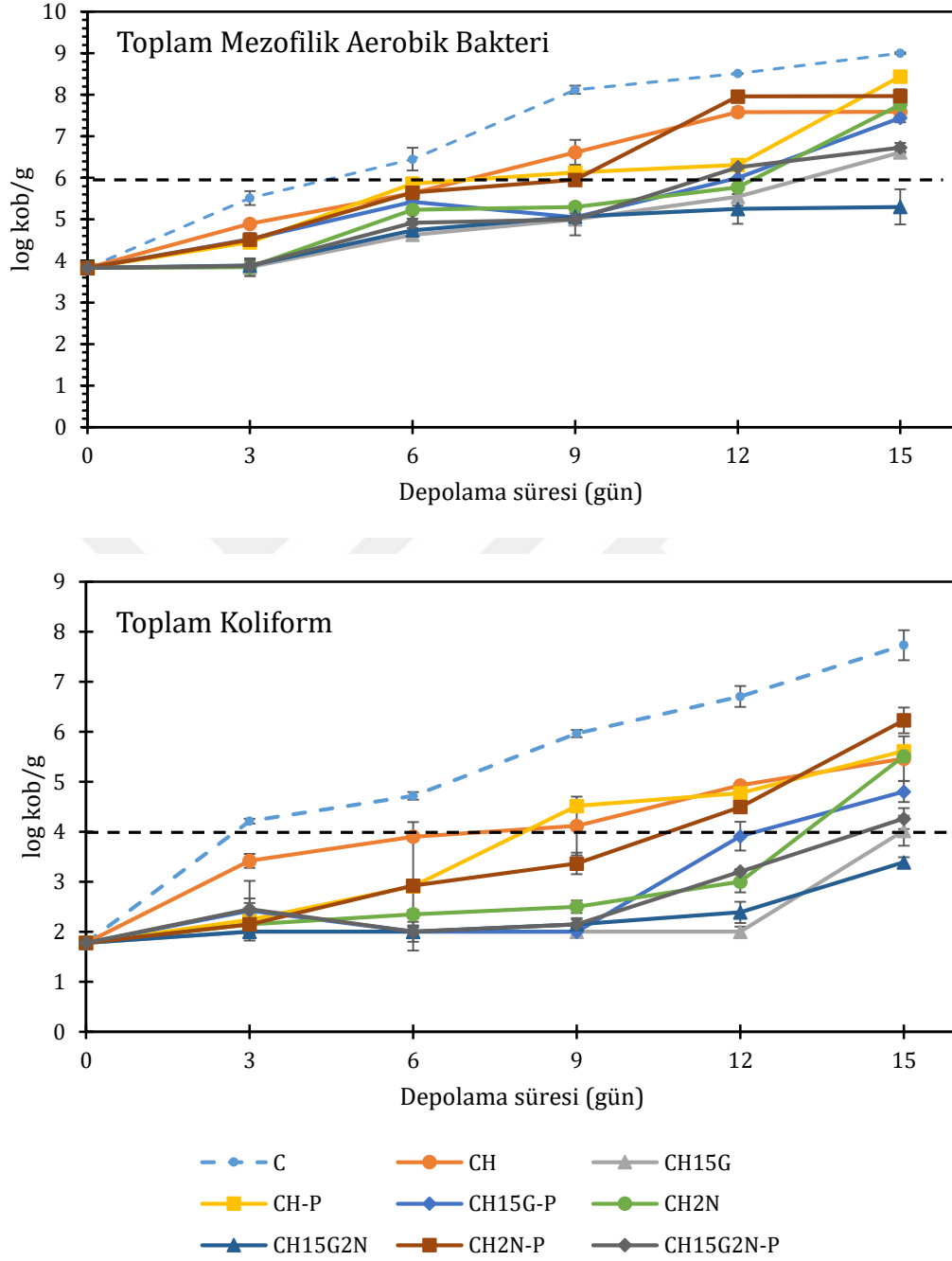
($p < 0.05$). GSE içeren tek katmanlı filmlerle ambalajlanan örnekler daha yüksek L^* değerleri verirken, GSE içeren iki katmanlı filmlerle ambalajlanan örnekler aynı trendi izlememiş ve daha düşük L^* değerleri göstermiştir ($p < 0.05$). İki katmanlı filmlerle ambalajlanan örneklerin L^* değerleri 3 günlük depolama sonrasında düşmeye başlarken aynı durum tek katmanlı filmlerle ambalajlanan örneklerde 6 günlük depolama sonrasında gerçekleşmiştir ($p < 0.05$). L^* değerlerindeki düşüşün nedeni CH bazlı filmlerin tavuk göğüs fileto örneklerinin yüzeyinde bulunan suyu absorbe etmesinden kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde, Azlin-Hasim vd. (2016) poliviniliden klorid (PVC) ve PVC/Ag ile ambalajlanan tavuk eti örneklerinin L^* değerlerinde depolamanın ilk 3 günü artış gözlemiş ve daha sonrasında depolamanın son gününe kadar (9 gün) L^* değerlerinde azalış meydana geldiğini göstermiştir. Tavuk göğüs fileto örneklerinin a^* değerleri depolama süresinden istatistiksel olarak önemli derecede etkilenmiştir ($p < 0.05$). 3 günlük depolamadan sonra örneklerin a^* değerlerinde azalış meydana gelirken sadece CH ve CH15G filmleri ile ambalajlanan örneklerin a^* değerleri depolama boyunca artış göstermiştir ($p < 0.05$). NC içeren filmler ve iki katmanlı filmler ile ambalajlanan örneklerin a^* değerleri 9 günlük depolama boyunca diğer örneklerden daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). CH2N ile ambalajlanan örneklerin b^* değerleri depolama boyunca diğer örneklere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bulunurken CH ile ambalajlanan örneklerin b^* değerleri en düşük değerler olarak belirlenmiştir ($p < 0.05$). CH2N ve CH15G2N ile ambalajlanan örneklerin b^* değerleri depolamanın 12. gününe kadar önemli derecede artış gösterirken, CH2N-P ve CH15G2N-P ile ambalajlanan örneklerin b^* değerlerinde 3 günlük depolamanın ardından önemli derecede azalış meydana gelmiştir ($p < 0.05$). NC içermeyen iki katmanlı filmlerle ambalajlanan örneklerin b^* değerleri ise benzer tek katmanlı filmlerle ambalajlanan örneklerin b^* değerlerinden daha yüksek değerler vermiştir ($p < 0.05$).



Şekil 4.19. Farklı ambalaj filmlerinin depolama süresince tavuk göğüs fileto örneklerinin renk değerleri üzerine etkileri

4.4.3. Mikrobiyolojik analiz sonuçları

Mikrobiyolojik analiz sonuçları Şekil 4.20'de gösterilmiştir.



Şekil 4.20. Farklı ambalaj filmlerinin depolama süresince tavuk göğüs fileto örneklerinin mikrobiyal kalitesine etkileri

Tavuk göğüs fileto örneklerinin başlangıç TMAB sayısı 3.83 log kob/g bulunmuştur. Kontrol örneklerinin ve CH ile ambalajlanmış örneklerin TMAB sayısı depolama boyunca diğer örneklerin TMAB sayısından istatistiksel olarak

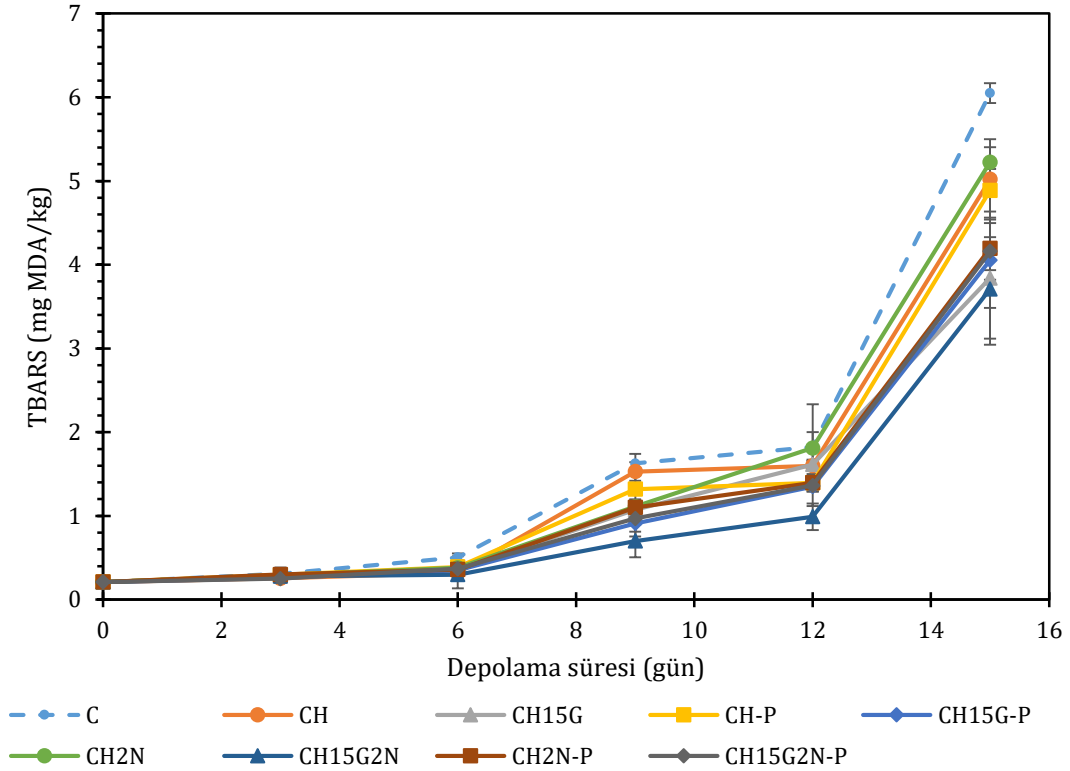
önemli derecede daha fazla bulunmuştur ($p<0.05$). CH15G ile ambalajlanan örnekler, depolamanın 9. gününe kadar de en düşük TMAB sayısına sahipken, 9. günden sonra en düşük TMAB değerlerini, NC varlığında daha yavaş salınım gösteren GSE sayesinde, CH15G2N ile ambalajlanan ürünler göstermiştir ($p<0.05$). İki katmanlı filmlerle ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinin TMAB sayısı, depolama boyunca tek katmanlı filmlerin TMAB sayısından istatistiksel olarak önemli derecede fark göstermemiştir ($p>0.05$). Ancak, GSE içeren filmlerle ambalajlanan örnekler depolama boyunca daha düşük TMAB sayısına sahip olmuştur ($p<0.05$). 6 günlük depolamadan sonra, kontrol örneklerin TMAB sayısı limit olarak kabul edilen 6 log kob/g (Jay vd., 2005) değerini aşarken, CH15G2N ile ambalajlanan örnekler ise depolamanın sonunda 5.30 log kob/g değerine ulaşmıştır.

Tavuk göğüs fileto örneklerinde başlangıç toplam koliform sayısı 1.78 log kob/g bulunmuştur. Kontrol örneklerin ve CH ile ambalajlanan örneklerin toplam koliform sayısı, TMAB sayısı gibi depolama boyunca diğer örneklere göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). 3 günlük depolama sonrasında kontrol örneklerinin toplam koliform sayısı 4.21 log kob/g olarak bulunmuştur. CH ile ambalajlanan ürünler limit olarak kabul edilen 4 log kob/g (Jay vd., 2005) değerine 6 günlük depolamadan sonra ulaşmıştır. CH15G ve CH15G2N ile ambalajlanan örneklerin toplam koliform sayısı 12. güne kadar istatistiksel olarak önemli derecede değişim göstermezken ($p>0.05$), depolamanın son gününde toplam koliform sayısı önemli derecede artış göstermiştir ($p<0.05$).

Tavuk göğüs fileto örneklerinin CH filmler ile ambalajlama işlemi, kontrol örneklerle karşılaştırıldığında mikrobiyal gelişimi inhibe etmiştir, ancak, CH filmlerin GSE ve NC ile kombine edildiği ambalaj filmleri, buzdolabı koşullarında tavuk göğüs fileto örneklerinin mikrobiyal yükünü azaltmada daha etkin bulunmuştur. Dehnad vd. (2014), CH-NC kompozit filmlerin kıyma örneklerinin bakteri sayısını naylon ambalajlara göre etkin bir şekilde azalttığını göstermiştir. Benzer şekilde, Nowzari vd. (2013) CH-jelatin kompozit ve iki katmanlı filmlerin +4°C'de depolama sırasında alabalık etindeki mikrobiyal gelişimi azalttığını rapor etmiştir.

4.4.4. Oksidasyon stabilitesi

Şekil 4.21, farklı ambalaj filmlerinin tavuk göğüs fileto örneklerinin 15 gün boyunca buzdolabı koşullarında depolama sırasında TBARS değerleri üzerine etkilerini göstermektedir.



Şekil 4.21. Farklı ambalaj filmlerinin depolama süresince tavuk göğüs fileto örneklerinin oksidasyon stabilitesi üzerine etkileri

Tavuk göğüs fileto örneklerinin TBARS değerleri hem depolama süresinden hem de ambalaj materyalinden önemli derecede etkilenmiştir ($p < 0.05$). Tavuk göğüs fileto örneklerinin başlangıç TBARS değeri 0.21 mg MDA/kg bulunmuştur. Kontrol örneğinin TBARS değeri depolama sonunda en yüksek değere ulaşırken (6.05 mg MDA/kg) CH15G2N filmlerle ambalajlanan örnekler en düşük TBARS değerini göstermiştir (3.71 mg MDA/kg) ($p < 0.05$). GSE içeren filmlerle ambalajlanan örneklerin TBARS değerleri de depolama boyunca kontrol örneklerinden daha düşük değerlerde bulunmuştur ($p < 0.05$). GSE'nin oksidasyonu inhibe etme etkisi içerdiği gallik asit, kateşin ve epikateşin gibi

fenolik bileşenleri sayesinde gerçekleşmektedir (Furiga vd., 2009). Sonuçlar gösteriyor ki, GSE, NC içeren CH filmlerle birlikte kullanıldığında, tavuk göğüs fileto örneklerinde GSE'nin oksidasyonu önleme etkisi sinerjistik olarak artmıştır. NC aynı zamanda GSE'nin tavuk göğüs fileto örneklerinin yüzeyine salınımını yavaşlatarak, oksidasyonu önleme etkisinin 15 günlük depolama boyunca devam etmesini sağlamıştır. Tek katmanlı filmlerle ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinin TBARS değerleri iki katmanlı filmlerle ambalajlanan örnekler ile karşılaştırıldığında daha düşük değerler almıştır ($p < 0.05$). Genel olarak, CH filmlerin hepsi kontrol örneklerine göre daha düşük TBARS değerleri göstermiştir ($p < 0.05$). Bu durum CH'nin metal iyonlarıyla şelat oluşturma etkisinden ve CH amino gruplarının ambalajlanan örneğin yağ bileşenleri ile etkileşimi sonucu oksidasyonu yavaşlatma etkisinden kaynaklanabilmektedir (Sathivel vd., 2007). Tüm örnekler, limit olarak kabul edilen 2 mg MDA/kg örnek değerini (Hu vd., 2015) 12 günlük depolama sonunda aşmıştır. Oksidasyon sınırına ulaşma süresinin oldukça uzun olmasının bir nedeni de kullanılan CH filmlerin oksijen geçirgenlik değerlerinin oldukça düşük olmasıdır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmasının amacı, aktif özelliklere sahip ve gıda ambalajlamasına uygun CH bazlı GSE ve NC içeren, PCL ve COC iki katmanlı nanokompozit filmler üretmektir. Çalışmanın birinci aşamasında CH filmlere aktif özellik kazandırmak amacıyla filmlere eklenecek olan fenolik bileşenler üzüm çekirdeği tozundan ekstrakte edilmiştir. İkinci aşamada, ekstrakte edilen fenolik bileşenler, GSE, farklı oranlarda CH filmlere eklenerek, filmlerin özelliklerinde meydana getirdiği değişimler ve tavuk göğüs fileto örneklerinin raf ömrünü ne şekilde etkilediği incelenmiştir. Üçüncü aşamada ise, ikinci aşamada belirlenen (en iyi özellikleri gösteren) GSE oranı kullanılmıştır. Bu aşamada, CH filmlere nanodolgu maddesi olarak NC eklenmiş ve çok fonksiyonlu ambalaj malzemesi üretmek amacıyla PCL ve COC kullanılarak PCL-C, PCL-P ve COC-C iki katmanlı filmler üretilmiştir. CH aktif bileşenleri taşıyan ve gıda ile temas edecek olan katmanı oluştururken, bariyer özellikleri ve mekanik dayanımı CH filmlere göre daha iyi olan PCL veya COC dış katmanı oluşturmaktadır. Üçüncü aşamada elde edilen ambalaj filmlerinin karakterizasyon analizleri ve aktif özellikleri koruyup korumadığı belirlenmiş ve tezin amacına uygun ve en iyi özellikleri gösteren ambalaj filmi bir sonraki aşamada gıda uygulamalarında kullanılmıştır. Son aşamada, seçilen ambalaj filminin tavuk göğüs fileto örneklerinin raf ömrüne etkileri incelenmiştir.

CH filmlere GSE ilave edilmesi, CH filmlerin fiziko-mekanik, yapısal ve aktif özelliklerini etkilemiştir. GSE ilavesi, GSE'nin hidrofilik yapısı nedeniyle tüm aşamalar için CH filmlerin su buharı geçirgenlik değerlerinde artışa neden olmuştur. GSE aynı zamanda, daha düşük transmittans ve parlaklık değerlerinin elde edilmesine ve daha yüksek opaklık değerlerinin gözlenmesine neden olmuştur. Yapısal olarak, SEM analizlerinde GSE'nin CH filmler içerisinde homojen dağılım gösterdiği belirlenmiştir. GSE aynı zamanda plastifiyan özellik göstererek CH filmlerin elastikiyetini arttırmış, ancak TS değerlerinin azalmasına neden olmuştur. GSE ilavesi, tezin amacına uygun olarak CH filmlere antioksidan özellik kazandırmış ve bu özelliğini %15 oranında kullanıldığı zaman tavuk göğüs fileto örneklerinde oksidasyonu yavaşlatarak ve CH filmlerin antimikrobiyal aktivitelerine katkı yaparak devam ettirmiştir. Bu yüzden bir sonraki aşamada

sadece %15 oranında GSE ilavesi ile devam edilmiştir. İkinci aşamanın sonunda, GSE ve CH bazlı film örneklerinin gıda ambalaj materyali olarak potansiyele sahip olduğu görülmüştür.

Tez çalışmasının üçüncü aşamasında, CH filmlere GSE'nin yanında mekanik özelliklerini geliştirmek için nanodolgu malzemesi olarak NC ilave edilmiştir. İki katmanlı filmlerin oluşturulması çok fonksiyonlu gıda ambalaj malzemesi oluşturmak için kullanılabilecek yöntemlerden bir tanesidir. İki katmanlı filmler iki farklı yöntem kullanılarak oluşturulmuştur: kloroform fazında çözündürülen COC ve PCL film çözeltileri ile CH filmlerin kaplanması ve sıcaklık altında pres uygulayarak iki katmanın birleştirilmesi. Genel olarak film örneklerinin fiziko-mekanik özelliklerinde önemli değişiklikler meydana gelmiştir. CH filmlerin temas açısı daha düşük bulunurken, GSE ve NC içeren CH filmlerin yüzeyi daha pürüzlü olması nedeniyle daha yüksek temas açısı değerleri vermiştir. NC ilavesi CH filmlerin su tutma kapasitesi ve suda çözünürlük değerlerinde düşüğe neden olurken EM ve TS değerlerinde artış sağlamıştır. Bu durum, CH filmlere NC ilavesi, etkin bir şekilde CH filmlerin suya karşı direncini arttırmış ve mekanik dayanımında gelişme görülmüştür. Aynı zamanda, GSE ve NC'nin CH filmlere birlikte eklenmesi filmlerin mekanik özelliklerinde sinerjist etki yaratmıştır. NC aynı zamanda film örneklerinin transmittans ve parlaklık değerlerini arttırmış ve opaklık değerlerinde azalışa neden olmuştur.

İkinci katman olarak COC ve PCL uygulamasının NC ve GSE içeren CH filmlerin mekanik, optik ve su buharı bariyer özelliklerini önemli ölçüde değiştirdiği gözlenmiştir. COC-C iki katmanlı film örneklerinin suya direnci, mekanik dayanımı ve nem bariyer özellikleri CH filmlerle karşılaştırıldığında geliştirilmiştir. SEM görüntüleri CH ve COC katmanların birbirleriyle uyumlu olduğunu göstermiştir, ancak GSE içeren CH katmanları arasında ayırım görülmüştür. PCL-C filmlerde ise katmanlar arası ayırım gözlenmemiş ve PCL'in, COC'ye göre CH filmlerle daha iyi uyum sağladığı gözlenmiştir. COC ve PCL katmanı, GSE ilavesinde olduğu gibi, CH film örneklerinin transmittans değerlerinde azalışa ve opaklık değerlerinde artışa neden olmuştur.

Tüm film örnekleri, CH'nin doğal antimikrobiyal olması sayesinde *E. coli* ve *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Film örneklerinin antimikrobiyal etkisi GSE ilavesi ile bir miktar artış gösterse de NC ilavesi bu etkiyi azaltmıştır. Salınım çalışmalarında NC ilave edilen örneklerden GSE bileşenlerinin salınımının daha yavaş olduğu gözlenmiştir. İki katmanlı film örnekleri, *E. coli* ve *L. monocytogenes*'e karşı daha düşük antimikrobiyal aktivite göstermiştir. CH filmlerin antimikrobiyal etki gösterebilmesi için sulu ortamda şişmesi ve belli ölçüde çözünerek mikroorganizmalar üzerinde inhibisyon sağlamaları gerekir. Mekanik özelliklerde ve suya dirençte gelişim sağlayan NC ilavesi ve suya afinite göstermeyen ikinci bir katmanın var olması antimikrobiyal etkiyi düşürmüş olabilir. Bu yüzden, herhangi bir polimerin kimyasal ya da fiziksel özelliklerinde modifikasyon yapılırken, aktif gıda ambalaj materyali oluşturulabilmesi için koşulların optimize edilmesi gerekir. CH ve PCL veya COC bazlı iki katmanlı filmlerin oluşturulması yeterli su bariyer özellikleri, mekanik dayanım ve uygun esneklikte biyo-bazlı çok fonksiyonlu ambalajların üretilmesi konusunda bir adım oluşturmuştur. Aynı zamanda, NC ve GSE'nin CH filmler içerisinde kombinasyonu iki katmanlı filmlerin fonksiyonelliğini arttırmıştır ve potansiyel ambalaj malzemesi olabileceğini göstermiştir. Bu nedenle tez çalışmasının son aşamasında, üçüncü aşama için en iyi özellikleri gösteren film örneği grubu seçilerek gıda denemelerine devam edilmiştir. Üçüncü aşamada tezin amacına uygun olan ve en iyi özellikleri gösteren film örneği CH15G2N PCL-C iki katmanlı film örnekleridir. Bu yüzden, karşılaştırma yapabilmek için CH15G2N PCL-C ile birlikte %2 NC ve/veya GSE içeren ve/veya PCL-C uygulaması yapılmış/yapılmamış film örneklerinin hepsi gıda uygulamasında kullanılmıştır.

Dördüncü aşamanın sonuçları gösteriyor ki, CH ve PCL bazlı aktif iki katmanlı ambalaj malzemeleri tavuk göğüs fileto örnekleri için raf ömrünü arttırma potansiyeline sahiptir. Tek katmanlı filmlerle ambalajlanan örnekler, iki katmanlı filmlerle ambalajlanan örneklere göre, +4°C'de depolama boyunca daha düşük pH değerlerine ve daha yüksek TBARS değerlerine sahip olmuştur. Kontrol örneği olarak CH filmlerle ambalajlanmayan LDPE filmler kullanılan örnekler seçilmiştir. Depolama boyunca en yüksek TBARS değerlerini ve mikrobiyal yükü kontrol örnekleri göstermiştir. En düşük TBARS değerleri ise CH15G2N

örneklerinde görülmüştür. GSE içeren filmlerle ambalajlanan film örnekleri kontrol örneği ile karşılaştırıldığında depolama boyunca daha düşük TBARS değerleri vermiştir. Depolama boyunca örneklerin renk değerleri ambalaj materyalinden etkilenmiştir. En düşük mikrobiyal yük GSE ve NC içeren film örnekleri ile ambalajlanan örneklerde görülmüştür. Kontrol örnekleri limit olarak kabul edilen mikrobiyal yük değerlerine 6 gün içerisinde ulaşırken, CH bazlı filmlerle ambalajlanan örnekler 6 günden daha fazla, örnek kalitesini korumuş ve raf ömründe artış sağlamıştır. Sonuçlar gösteriyor ki, aktif katman içeren çok fonksiyonlu ve katmanlı ambalaj malzemelerinin kullanımı gıda ambalaj alanında potansiyele sahiptir.

Bu tez çalışması ile CH filmlerin mekanik dayanımı, suya afinitesi ve aktif özellikleri gibi özellikleri geliştirilerek, iki katmanlı filmlerde kullanıldığı zaman gıda uygulamaları açısından etkinliği test edilmiş ve üretilen iki katmanlı filmlerle tavuk göğüs fileto örneklerinin raf ömründe iyileşme sağlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Ahmed, J., Mulla, M., Arfat, Y.A., Thai, L.A. (2017). Mechanical, thermal, structural and barrier properties of crab Shell chitosan/graphene oxide composite films. *Food Hydrocolloids*, 71, 141-148.
- Ahn, J.-H., Kim, Y.-P., Seo, E.-M., Choi, Y.-K., Kim, H.-S. (2008). Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil. *Journal of Food Engineering*, 84(2), 327-334.
- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT - Food Science and Technology*, 43(6), 837-842.
- Albertos, I., Rico, D., Diez, A.M., González-Arnáiz, L., García-Casasa, M.J., Isabel Jaime, I. (2014). Effect of edible chitosan/clove oil films and high-pressure processing on the microbiological shelf life of trout fillets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 2858-2865.
- Alix, S., Mahieu, A., Terrie, C., Soulestin, J., Gerault, E., Feuilloley, M. G. J., Leblanc, N. (2013). Active pseudo-multilayered films from polycaprolactone and starch based matrix for food-packaging applications. *In European Polymer Journal*, 49, 1234-1242.
- Alves, V. L. C. D., Rico, B. P. M., Cruz, R. M. S., Vicente, A. A., Khmelinskii, I., Vieira, M. C. (2018). Preparation and characterization of a chitosan film with grape seed extract-carvacrol microcapsules and its effect on the shelf-life of refrigerated Salmon (*Salmo salar*). *LWT - Food Science and Technology*, 89, 525-534.
- Andresen, M., Stenstad, P., Møretrø, T., Langsrud, S., Syverud, K., Johansson, L. S., Stenius, P. (2007). Nonleaching antimicrobial films prepared from surface-modified microfibrillated cellulose. *Biomacromolecules*, 8(7), 2149-2155.
- Anonim, 2018. Erişim Tarihi: 07.01.2018. www.webofscience.com.
- Anonim, 2017. Properties of cyclo olefin copolymers. Erişim Tarihi: 28.01.2017. <https://topas.com/products/topas-coc-polymers>.
- Appendini, P., Hotchkiss, J. H. (2002). Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3(2), 113-126.
- Applerot, G., Perkas, N., Amirian, G., Girshevitz, O., Gedanken, A. (2009). Coating of glass with ZnO via ultrasonic irradiation and a study of its antibacterial properties. *Applied Surface Science*, 256(3 SUPPL.).
- Arfat, Y. A., Benjakul, S., Vongkamjan, K., Sumpavapol, P., Yarnpakdee, S. (2015). Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices wrapped with fish

protein isolate/fish skin gelatin-ZnO nanocomposite film incorporated with basil leaf essential oil. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6182–6193.

ASTM. (2012). ASTM D882-12: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. *Annual Book of ASTM Standards*, 14, 1–11.

ASTM. (2014). Standard test method for determining the antimicrobial activity of immobilized antimicrobial agents under dynamic contact conditions. Standard Designations: E2149-10. In *Annual book of ASTM standards*. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.

ASTM. (1995). ASTM E96-95: Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. *Annual Book of ASTM*, 552, 406-413.

Auras, R. A., Singh, S. P., Singh, J. J. (2005). Evaluation of oriented poly(lactide) polymers vs. existing PET and oriented PS for fresh food service containers. *Packaging Technology and Science*, 18(4), 207–216.

Azeredo, H. M. C., Mattoso, L. H. C., Avena-Bustillos, R. J., Filho, G. C., Munford, M. L., Wood, D., McHugh, T. H. (2010). Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. *Journal of Food Science*, 75(1), N1-7.

Azlin-Hasim, S., Cruz-Romero, M. C., Morris, M. A., Padmanabhan, S. C., Cummins, E., Kerry, J. P. (2016). The Potential Application of Antimicrobial Silver Polyvinyl Chloride Nanocomposite Films to Extend the Shelf-Life of Chicken Breast Fillets. *Food and Bioprocess Technology*, 9(10), 1661–1673.

Bañón, S., Díaz, P., Rodríguez, M., Garrido, M. D., Price, A. (2007). Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. *Meat Science*, 77(4), 626–633.

Barron, C., Varoquaux, P., Guilbert, S., Gontard, N., Gouble, B. (2001). Modified atmosphere packaging of cultivated mushroom (*Agaricus bisporus* L.) with hydrophilic films. *Journal of Food Science*, 66(8), 251–255.

Batista Reis, Souza, C., Silva, J.B.A., Martins, A.C., Nunes, I.L., Druzian, J.I. (2015). Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of a packaged product. *Food and bioproducts processing*, 94, 382–391.

Bharadwaj, R. K. (2001). Modeling the barrier properties of polymer-layered silicate nanocomposites. *Macromolecules*, 34(26), 9189–9192.

- Bi, L., Yang, L., Narsimhan, G., Bhunia, A.K., Yao, Y. (2011). Designing carbohydrate nanoparticles for prolonged efficacy of antimicrobial peptide. *Journal of Controlled Release*, 150, 150–156.
- Bonilla, J., Fortunati, E., Atarés, L., Chiralt, A., Kenny, J. M. (2014). Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 35, 463–470.
- Boumail, A., Salmieri, S., Klimas, E., Tawema, P. O., Bouchard, J., Lacroix, M. (2013). Physico-chemical properties of antimicrobial film based on polycaprolactone and nanocellulose and their capacity to inhibit salmonella typhimurium on vegetables. *J-FOR*, 3(1), 45–49.
- Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Cerqueira, M. A., Rocha, C. M. R., Avides, M. C., Quintas, M. A. C., Vicente, A. A. (2011). Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *Journal of Food Engineering*, 106(2), 111–118.
- Bouwmeester, H., Dekkers, S., Noordam, M. Y., Hagens, W. I., Bulder, A. S., de Heer, C., Voorde, S., Wijnhoven, S., Marvin, H., Sips, A. J. A. M. (2009). Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 53(1), 52–62.
- Brannan, R. G. (2009). Effect of grape seed extract on physicochemical properties of ground, salted, chicken thigh meat during refrigerated storage at different relative humidity levels. *Journal of Food Science*, 73(1), 36–40.
- Brown, H., Williams, J. (2003). Packaged product quality and shelf life. In: *Food packaging technology*, Coles, R., McDowell, D., Kirwan, M.J. (eds.), Blackwell/CRC Press, Boca Raton, FL, p. 65-94.
- Buege, J. A., Aust, S. D. (1978). Microsomal Lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52(C), 302–310.
- Burgos, N., Armentano, I., Fortunati, Dominici, F., Luzi, F, Fiori, S., Cristofaro, S., Visai, L., Jiménez, A., Kenny, J.M. (2017). Functional Properties of Plasticized Bio-Based Poly(Lactic Acid)_Poly(Hydroxybutyrate) (PLA_PHB) Films for Active Food Packaging. *Food Bioprocess Technology*, 10:770–780.
- Casariago, A., Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Teixeira, J. A., Cruz, L., Díaz, R., Vicente, A. A. (2009). Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1895–1902.
- Cerqueira, M.A., Fabra, M.J., Castro-Mayorga, J.L., Bourbon, A.I., Pastrana, L.M., Vicente, A.A., Lagaron, J.M. (2016). Use of Electrospinning to Develop Antimicrobial Biodegradable Multilayer Systems: Encapsulation of

Cinnamaldehyde and Their Physicochemical Characterization. *Food And Bioprocess Technology*, 9(11), 1874-1884.

- Chandrasekaran, G., Han, H. K., Kim, G. J., Shin, H. J. (2011). Antimicrobial activity of delaminated aminopropyl functionalized magnesium phyllosilicates. *Applied Clay Science*, 53(4), 729–736.
- Chang, P. R., Jian, R., Yu, J., Ma, X. (2010). Fabrication and characterisation of chitosan nanoparticles/plasticised-starch composites. *Food Chemistry*, 120(3), 736–740.
- Chivrac, F., Pollet, E., Schmutz, M., Avérous, L. (2008). New approach to elaborate exfoliated starch-based nanobiocomposites. *Biomacromolecules*, 9(3), 896–900.
- Choi, J. G., Kang, O. H., Lee, Y. S., Oh, Y. C., Chae, H. S., Jang, H. J., Kwon, D. Y. (2009). Antibacterial activity of methyl gallate isolated from galla rhois or carvacrol combined with nalidixic acid against nalidixic acid resistant bacteria. *Molecules*, 14(5), 1773–1780.
- Choudalakis, G., Gotsis, A. D. (2009). Permeability of polymer/clay nanocomposites: A review. *European Polymer Journal*, 45(4), 967-984.
- Cioffi, N., Torsi, L., Ditaranto, N., Tantillo, G., Ghibelli, L., Sabbatini, L., Blevè-Zacheo, T., D'Alessio, M., Zambonin, P., Traversa, E. (2005). Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. *Chemistry of Materials*, 17(21), 5255–5262.
- Cushnie, T. P. T., Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99-107.
- Cussler, E. L., Hughes, S. E., Ward, W. J., Aris, R. (1988). Barrier membranes. *Journal of Membrane Science*, 38(2), 161–174.
- Dallas, P., Sharma, V. K., Zboril, R. (2011). Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: Classification, synthetic paths, applications, and perspectives. *Advances in Colloid and Interface Science*, 166(1–2), 119–135.
- Damm, C., Münstedt, H., Rösch, A. (2008). The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano- and microcomposites. *Materials Chemistry and Physics*, 108(1), 61–66.
- Dasan, Y. K., Bhat, A. H., Ahmad, F. (2017). Polymer blend of PLA/PHBV based bionanocomposites reinforced with nanocrystalline cellulose for potential application as packaging material. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1323–1332.

- Dehnad, D., Emam-Djomeh, Z., Mirzaei, H., Jafari, S. M., Dadashi, S. (2014). Optimization of physical and mechanical properties for chitosan-nanocellulose biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 105(1), 222–228.
- Dehnad, D., Mirzaei, H., Emam-Djomeh, Z., Jafari, S. M., Dadashi, S. (2014). Thermal and antimicrobial properties of chitosan-nanocellulose films for extending shelf life of ground meat. *Carbohydrate Polymers*, 109, 148–154.
- Rollini, M., Mascheroni, E., Capretti, G., Coma, V., Musatti, A., Piergiovanni, L. (2017). Propolis and chitosan as antimicrobial and polyphenols retainer for the development of paper based active packaging materials. *Food Packaging and Shelf Life*, 14, 75–82.
- Dong, C., Song, D., Cairney, J., Maddan, O. L., He, G., Deng, Y. (2011). Antibacterial study of Mg(OH)₂ nanoplatelets. *Materials Research Bulletin*, 46(4), 576–582.
- Duan, J. L., Zhang, S. Y. (2013). Application of chitosan based coating in fruit and vegetable preservation: A review. *Food Processing Technology*, 4, 227.
- Dufresne, A., Cavailé, J. Y., Dupeyre, D., Garcia-Ramirez, M., Romero, J. (1999). Morphology, phase continuity and mechanical behaviour of polyamide 6/chitosan blends. *Polymer*, 40(7), 1657–1666.
- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114(4), 1173–1182.
- Elsabee, M. Z., Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering C*, 33(4), 1819–1841.
- Eren, I., Kaymak-Ertekin, F. (2007). Optimization of osmotic dehydration of potato using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 79(1), 344–352.
- European Commission. (2011). Commission Regulation (EU) No 10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. *Official Journal of the European Union*, 15(1), 12–88.
- Fabra, M. J., Hambleton, A., Talens, P., Debeaufort, F., Chiralt, A. (2011). Effect of ferulic acid and α -tocopherol antioxidants on properties of sodium caseinate edible films. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1441–1447.
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., Chi, Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115(1), 66–70.

- Farris, S., Introzzi, L., Biagioni, P., Holz, T., Schiraldi, A., Piergiovanni, L. (2011). Wetting of biopolymer coatings: Contact angle kinetics and image analysis investigation. *Langmuir*, 27(12), 7563–7574.
- Fernández, A., Soriano, E., Hernández-Muñoz, P., Gavara, R. (2010). Migration of Antimicrobial Silver from Composites of Polylactide with Silver Zeolites. *Journal of Food Science*, 75(3), E186–E193.
- Ferreira, A. S., Nunes, C., Castro, A., Ferreira, P., Coimbra, M. A. (2014). Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. *Carbohydrate Polymers*, 113, 490–499.
- Ferreira, C. O., Nunes, C. A., Delgadillo, I., Lopes-da-Silva, J. A. (2009). Characterization of chitosan–whey protein films at acid pH. *Food Research International*, 42, 807–813.
- Friesen, K., Chang, C., Nickerson, M. (2015). Incorporation of phenolic compounds, rutin and epicatechin, into soy protein isolate films: Mechanical, barrier and cross-linking properties. *Food Chemistry*, 172, 18–23.
- Furiga, A., Lonvaud-Funel, A., Badet, C. (2009). In vitro study of antioxidant capacity and antibacterial activity on oral anaerobes of a grape seed extract. *Food Chemistry*, 113(4), 1037–1040.
- Gao, W., Dong, H., Hou, H., Zhang, H. (2012). Effects of clays with various hydrophilicities on properties of starch-clay nanocomposites by film blowing. *Carbohydrate Polymers*, 88(1), 321–328.
- Gartner, H., Li, Y., Almenar, E. (2015). Improved wettability and adhesion of polylactic acid/chitosan coating for bio-based multilayer film development. *Applied Surface Science*, 332, 488–493.
- Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S. A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*, 76(1), 172–181.
- Gómez, M., Lorenzo, J. M. (2012). Effect of packaging conditions on shelf-life of fresh foal meat. *Meat Science*, 91(4), 513–520.
- Gómez-Estaca J, Montero P, Gimenez B, Gómez-Guillén MC. 2007. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in coldsmoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, 105, 511–520.
- Gontard, N., Guilbert, S. (1994). Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In *Food Packaging and Preservation* (pp. 159–181). Boston, MA: Springer US.

- Gorrasi, G., Tortora, M., Vittoria, V., Galli, G., Chiellini, E. (2002). Transport and mechanical properties of blends of poly(ϵ -caprolactone) and a modified montmorillonite-poly(ϵ -caprolactone) nanocomposite. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 40(11), 1118–1124.
- Gorrasi, G., Tortora, M., Vittoria, V., Pollet, E., Alexandre, M., Dubois, P. (2004). Physical Properties of Poly(ϵ -caprolactone) Layered Silicate Nanocomposites Prepared by Controlled Grafting Polymerization. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 42(8), 1466–1475.
- Gorrasi, G., Tortora, M., Vittoria, V., Pollet, E., Lepoittevin, B., Alexandre, M., Dubois, P. (2003). Vapor barrier properties of polycaprolactone montmorillonite nanocomposites: Effect of clay dispersion. *Polymer*, 44(8), 2271–2279.
- Grigoriadi, K., Giannakas, A., Ladavos, A. K., Barkoula, N. M. (2015). Interplay between processing and performance in chitosan-based clay nanocomposite films. *Polymer Bulletin*, 72(5), 1145–1161.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, 124(1), 91–97.
- Gutiérrez-Tauste, D., Domènech, X., Casañ-Pastor, N., Ayllón, J. A. (2007). Characterization of methylene blue/TiO₂ hybrid thin films prepared by the liquid phase deposition (LPD) method: Application for fabrication of light-activated colorimetric oxygen indicators. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 187(1), 45–52.
- Haas, J., Ravi Kumar, M. N. V., Borchard, G., Bakowsky, U., Lehr, C.-M. (2005). Preparation and characterization of chitosan and trimethyl-chitosan-modified poly-(epsilon-caprolactone) nanoparticles as DNA carriers. *AAPS PharmSciTech*, 6(1), E22–E30.
- Haema, K., Piroonpan, T., Taechutrakul, S., Kempanichkul, A., Pasanphan, W. (2017). Piperidine-conjugated polyfunctional star-shaped PLLA as a novel bio-based antioxidant additive for bioplastics. *Polymer Degradation and Stability*, 143, 145-154.
- Halder, D., Mitra, A., Bag, S., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R. (2011). Study on Gelatin-Silver Nanoparticle Composite Towards the Development of Bio-Based Antimicrobial Film. *Journal Of Nanoscience And Nanotechnology*, 11(12), 10374-10378.
- Han, J. H. (2014). A review of food packaging technologies and innovations. In J. H. Han (Ed.), *Innovations in food packaging* (p. 3–12). San Diego, USA.

- Han, Y., Yu, M., Wang, L. (2018). Preparation and characterization of antioxidant soy protein isolate films incorporating licorice residue extract. *Food Hydrocolloids* 75, 13-21.
- He, Y., Kong, W., Wang, W., Liu, T., Liu, Y., Gong, Q., Gao, J. (2012). Modified natural halloysite/potato starch composite films. *Carbohydrate Polymers*, 87(4), 2706–2711.
- Hernandez R. Polymer properties. In *The Wiley Encyclopaedia of Packaging Technology*, 2nd edn, Brody AL, Marsh KS (eds). New York, John Wiley, 1997. p758–765.
- Hernández-Vargas, J., González-Campos, J. B., Lara-Romero, J., Prokhorov, E., Luna-Bárceñas, G., Aviña-Verduzco, J. A., González-Hernández, J. C. (2014). Chitosan/MWCNTs-decorated with silver nanoparticle composites: Dielectric and antibacterial characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, 131(9).
- Hong, S. I., Lee, J. W., Son, S. M. (2005). Properties of polysaccharide-coated polypropylene films as affected by biopolymer and plasticizer types. *Packaging Technology and Science*, 18(1), 1–9.
- Hosseini, M. H., Razavi, S. H., Mousavi, M. A. (2009). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(6), 727–743.
- Hu, J., Wang, X., Xiao, Z., Bi, W. (2015). Effect of chitosan nanoparticles loaded with cinnamon essential oil on the quality of chilled pork. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 519–526.
- Huang, D., Boxin, O. U., Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856.
- Huq, T., Salmieri, S., Khan, A., Khan, R. A., Le Tien, C., Riedl, B., Lacroix, M. (2012). Nanocrystalline cellulose (NCC) reinforced alginate based biodegradable nanocomposite film. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), 1757–1763.
- Ishiaku, U. S., Pang, K. W., Lee, W. S., Ishak, Z. A. M. (2002). Mechanical properties and enzymic degradation of thermoplastic and granular sago starch filled poly(ϵ -caprolactone). *European Polymer Journal*, 38(2), 393–401.
- Jasour, M.S., Ehsani, A., Mehryar, L., Naghibi, S.S. (2014) Chitosan coating incorporated with the lactoperoxidase system: an active edible coating for fish preservation. *J Sci Food Agric* 2015; 95: 1373–1378.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., Golden, D. A. (2005). Fresh Meats and Poultry. In *Modern Food Microbiology*, 7th Edition, 63–99.

- 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.
- Jimenez, G., Ogata, N., Kawai, H., Ogihara, T. (1997). Structure and Thermal / Mechanical Properties of Poly (ϵ -caprolactone) – Clay Blend. *Journal of Applied Polymer Science*, 64(November), 2211–2220.
- Joerger, R. D. (2007). Antimicrobial films for food applications: A quantitative analysis of their effectiveness. *Packaging Technology and Science*, 20(4), 231–273.
- Johan MR, Jimson SA, Ghazali N, Zahari NAM, Redha NF. (2011). Morphologies and Physical Properties of the Cyclic-olefin Copolymer Blends with Different Molecular Structure and their Nanosilica-modified Composite Films. *International Journal of Material Research*, 102, 413-419.
- Jongjareonrak A, Benjakul S, Visessanguan W, Tanaka M. 2008. Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. *Food Hydrocolloid*, 22:449–458.
- Joseph, C. S., Prashanth, K. V. H., Rastogi, N. K., Indiramma, A. R., Reddy, S. Y., Raghavarao, K. S. M. S. (2011). Optimum Blend of Chitosan and Poly-(ϵ -caprolactone) for Fabrication of Films for Food Packaging Applications. *Food and Bioprocess Technology*, 4(7), 1179–1185.
- Kakroodi, A.R., Kazemi, Y., Nofar, M., Park, C.B. (2017). Tailoring poly(lactic acid) for packaging applications via the production of fully bio-based in situ microfibrillar composite films. *Chemical Engineering Journal*, 308:772–782.
- Kanatt, S. R., Rao, M. S., Chawla, S. P., Sharma, A. (2012). Active chitosan-polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290–297.
- Katalinić, V., Možina, S. S., Skroza, D., Generalić, I., Abramović, H., Miloš, M., Boban, M. (2010). Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chemistry*, 119(2), 715–723.
- Kavas, G., Kavas, N., Saygili, D. (2015). The Effects Of Thyme And Clove Essential Oil Fortified Edible Films On The Physical, Chemical And Microbiological Characteristics Of Kashar Cheese. *Journal of Food Quality*, 38, 405–412.
- Kazemi, S.M., Rezaei, M. (2015). Antimicrobial Effectiveness Of Gelatin–Alginate Film Containing Oregano Essential Oil For Fish Preservation. *Journal of Food Safety* 35, 482–490.

- Khan, A., Gallah, H., Riedl, B., Bouchard, J., Safrany, A., Lacroix, M. (2016). Genipin cross-linked antimicrobial nanocomposite films and gamma irradiation to prevent the surface growth of bacteria in fresh meats. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 35, 96–102.
- Khan, A., Huq, T., Khan, R. A., Riedl, B., Lacroix, M. (2014). Nanocellulose-Based Composites and Bioactive Agents for Food Packaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(2), 163–174.
- Khan, A., Khan, R. A., Salmieri, S., Le Tien, C., Riedl, B., Bouchard, J., Lacroix, M. (2012). Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), 1601–1608.
- Khan, I., Tango, C. N., Oh, D. H. (2017). Development and evaluation of chitosan and its derivative for the shelf life extension of beef meat under refrigeration storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 1111–1121.
- Khanarian, G. (2000). Rubber toughened and optically transparent blends of cyclic olefin copolymers. *Polymer Engineering and Science*, 40(12), 2590–2601.
- Khoo, C. G. L., Frantzich, S., Rosinski, A., Sjöström, M., Hoogstraate, J. (2003). Oral gingival delivery systems from chitosan blends with hydrophilic polymers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 55(1), 47–56.
- Khor, E., Lim, L. Y. (2003). Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, 24(13), 2339–2349.
- Khwaldia, K., Basta, A. H., Aloui, H., El-Saied, H. (2014). Chitosan-caseinate bilayer coatings for paper packaging materials. *Carbohydrate Polymers*, 99, 508–516.
- Kim, S. Y., Jeong, S. M., Park, W. P., Nam, K. C., Ahn, D. U., Lee, S. C. (2006). Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Food Chemistry*, 97(3), 472–479.
- Kolarik J, Krulis Z, Slouf M, Fambri L. (2005). High-density polyethylene/cyclicolefin copolymer blends. Part 1: Phase structure, dynamic mechanical, tensile, and impact properties. *Polymer Engineering and Science*, 45, 817-826.
- Kolařík, J., Pegoretti, A., Fambri, L., Penati, A. (2003). Non-linear long-term tensile creep of poly(propylene)/cycloolefin copolymer blends with fibrous structure. *Macromolecular Materials and Engineering*, 288(8), 629–641.

- Kolařík, J., Pegoretti, A., Fambri, L., Penati, A. (2006). High-density polyethylene/cycloolefin copolymer blends, part 2: Nonlinear tensile creep. *Polymer Engineering and Science*, 46(10), 1363–1373.
- Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 51–63.
- Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., Peppas, N. A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 15(1), 25–35.
- Kumar, M. N. V. R., Muzzarelli, R. A. A., Muzzarelli, C., Sashiwa, H., Domb, A. J. (2004). Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chemical Reviews*, 104(12), 6017–6084.
- Kuo, P. C., Sahu, D., Yu, H. H. (2006). Properties and biodegradability of chitosan/nylon 11 blending films. *Polymer Degradation and Stability*, 91(12), 3097–3102.
- Kurek, M., Ščetar, M., Voilley, A., Galić, K., Debeaufort, F. (2012). Barrier properties of chitosan coated polyethylene. *Journal of Membrane Science*, 403–404, 162–168.
- Lacoste, A., Schaich, K. M., Zumbunnen, D., Yam, K. L. (2005). Advancing controlled release packaging through smart blending. *Packaging Technology and Science*, 18(2), 77–87.
- Lee, S. (2002). Microstructure, tensile properties, and biodegradability of aliphatic polyester/clay nanocomposites. *Polymer*, 43(8), 2495–2500.
- Lee, S. K., Sheridan, M., Mills, A. (2005). Novel UV-activated colorimetric oxygen indicator. *Chemistry of Materials*, 17(10), 2744–2751.
- Li, Q., Zhou, J., Zhang, L. (2009). Structure and properties of the nanocomposite films of chitosan reinforced with cellulose whiskers. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 47(11), 1069–1077.
- Liao, F., Chen, C., Subramanian, V. (2005). Organic TFTs as gas sensors for electronic nose applications. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 107(2), 849–855.
- Liu, J., Liu, S., Wu, Q., Gu, Y., Kan, J., Jin, C. (2017). Effect of protocatechuic acid incorporation on the physical, mechanical, structural and antioxidant properties of chitosan film. *Food Hydrocolloids*, 73, 90–100.
- Liu, M. O., Lin, H. F., Yang, M. C., Lai, M. J., Chang, C. C., Shiao, P. L., Chen, I., Chen, J. Y. (2007). Thermal, dynamic mechanical and rheological properties of

- metallocene-catalyzed cycloolefin copolymers (mCOCs) with high glass transition temperature. *Materials Letters*, 61(2), 457–462.
- Liu, Y., Cai, Y., Jiang, X., Wu, J., Le, X. (2016). Molecular interactions, characterization and antimicrobial activity of curcumin–chitosan blend films. *Food Hydrocolloids*, 52, 564–572.
- Llana-Ruiz-Cabello, M., Pichardo, S., Jimenez-Morillo, N.T., Bermudez, J.M., Aucejo, S., Gonzalez-Vila, F.J., Camean, A.M., Gonzalez-Perez, J.A. (2016). Molecular characterisation of a bio-based active packaging containing *Origanum vulgare* L. essential oil using pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 96(9), 3207–3212.
- Makino, Y., Hirata, T. (1997). Modified atmosphere packaging of fresh produce with a biodegradable laminate of chitosan-cellulose and polycaprolactone. *Postharvest Biology and Technology*, 10(3), 247–254.
- Martins, J. T., Cerqueira, M. A., Vicente, A. A. (2012). Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 220–227.
- Massania, M.B., Botana, A., Eisenberg, P., Vignolo, G. (2014). Development of an active wheat gluten film with *Lactobacillus curvatus* CRL705 bacteriocins and a study of its antimicrobial performance during ageing. *Food Additives Contaminants: Part A*, 31(1), 164–171.
- Mathew, S., Abraham, T. E. (2008). Characterisation of ferulic acid incorporated starch-chitosan blend films. *Food Hydrocolloids*, 22(5), 826–835.
- Matiacevich, S., Acevedo, N., López, D. (2015). Characterization Of Edible Active Coating Based On Alginate–Thyme Oil–Propionic Acid For The Preservation Of Fresh Chicken Breast Fillets. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39, 2792–2801.
- Matzinos, P., Tserki, V., Kontoyiannis, A., Panayiotou, C. (2002). Processing and characterization of starch/polycaprolactone products. *Polymer Degradation and Stability*, 77(1), 17–24.
- Mayachiew P, Devahastin S. 2010. Effects of drying methods and conditions on release characteristics of edible chitosan films enriched with Indian gooseberry extract. *Food Chem.* 118:594–601.
- Mesquita, J. P., Donnici, C. L., Teixeira, I. F., Pereira, F. V. (2012). Bio-based nanocomposites obtained through covalent linkage between chitosan and cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 210–217.

- Messersmith, P. B., Giannelis, E. P. (1993). Polymer-Layered Silicate Nanocomposites: In Situ Intercalative Polymerization of ϵ -Caprolactone in Layered Silicates. *Chemistry of Materials*, 5(8), 1064–1066.
- Mills, A., Hazafy, D. (2009). Nanocrystalline SnO₂-based, UVB-activated, colourimetric oxygen indicator. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 136(2), 344–349.
- Mills, A., Doyle, G., Peiro, A. M., Durrant, J. (2006). Demonstration of a novel, flexible, photocatalytic oxygen-scavenging polymer film. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 177(2–3), 328–331.
- Monagas, M., Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B., Laureano, O., Ricardo Da Silva, J. M. (2003). Monomeric, Oligomeric, and Polymeric Flavan-3-ol Composition of Wines and Grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6475–6481.
- Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40(7), 3941.
- Moradi, M., Tajik, H., Razavi Rohani, S. M., Oromiehie, A. R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J., Hadian, M. (2012). Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT - Food Science and Technology*, 46(2), 477–484.
- Morelli, C.L., Mahrous, M., Belgacem, M.N., Branciforti, M.C., Bretas, R.E.S., Bras, J. (2015). Natural copaiba oil as antibacterial agent for bio-based active packaging. *Industrial Crops and Products*, 70, 134–141.
- Morici, E., Arrigo, R., Dintcheva, N.T. (2014). Quercetin as natural stabilizing agent for bio-polymer. *Times of Polymers (Top) And Composites*, 1599, 314–317.
- Muller, J., Casado Quesada, A., González-Martínez, C., Chiralt, A. (2017). Antimicrobial properties and release of cinnamaldehyde in bilayer films based on polylactic acid (PLA) and starch. *European Polymer Journal*, 96, 316–325.
- Nayak, P. L. (1999). Biodegradable Polymers: Opportunities and Challenges. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 39(3), 481–505.
- Nisar, T., Wang, Z.C., Yang, X., Tian, Y., Iqbal, M., Guo, Y. (2018). Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 670–680.

- Nowzari, F., Shábanpour, B., Ojagh, S. M. (2013). Comparison of chitosan-gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 141(3), 1667–1672.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1), 193–198.
- Olabarrieta, I., Forsström, D., Gedde, U. W., Hedenqvist, M. S. (2001). Transport properties of chitosan and whey blended with poly(ϵ -caprolactone) assessed by standard permeability measurements and microcalorimetry. *Polymer*, 42(9), 4401–4408.
- Ortega-Toro, R., Collazo-Bigliardi, S., Talens, P., Chiralt, A. (2016). Influence of citric acid on the properties and stability of starch-polycaprolactone based films. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(2).
- Otoni, C.G., Moura, M.R., Aouada, F.A., Camilloto, G.P., Cruz, R.S., Lorevice, M.V., Soares, N.F.F., Mattoso, L.H.C. (2014). Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. *Food Hydrocolloids*, 41, 188-194.
- Padrao, J., Gonçalves, S., Silva, J.P., Sencadas, V., Lanceros-Mendez, S., Pinheiro, A.C., Vicente, A.A., Rodrigues, L.R., Dourado, F. (2016). Bacterial cellulose-lactoferrin as an antimicrobial edible packaging. *Food Hydrocolloids*, 58, 126-140.
- Pandey, J. K., Raghunatha Reddy, K., Pratheep Kumar, A., Singh, R. P. (2005). An overview on the degradability of polymer nanocomposites. *Polymer Degradation and Stability*, 88(2), 234–250.
- Park S, Zhao Y. Development and characterization of edible films from cranberry pomace extracts. *J Food Sci*. 2006;71:E95–E101.
- Park, S. Il, Marsh, K. S., Dawson, P. (2010). Application of chitosan-incorporated LDPE film to sliced fresh red meats for shelf life extension. *Meat Science*, 85(3), 493–499.
- Paul, M.-A., Alexandre, M., Degée, P., Henrist, C., Rulmont, A., Dubois, P. (2003). New nanocomposite materials based on plasticized poly(-lactide) and organo-modified montmorillonites: thermal and morphological study. *Polymer*, 44(2), 443–450.
- Peesan, M., Supaphol, P., Rujiravanit, R. (2005). Preparation and characterization of hexanoyl chitosan/poly(lactide) blend films. *Carbohydrate Polymers*, 60(3), 343–350.

- Pegoretti, A., Kolarík, J., Fambri, L., Penati, A. (2003). Polypropylene/cycloolefin copolymer blends: Effects of fibrous phase structure on tensile mechanical properties. *Polymer*, 44(11), 3381–3387.
- Perazzo, K.K., Conceicao, A.C., Santos, J.C., Assis, D.J., Souza, C.O., Druzian, J.I. (2014). Properties and Antioxidant Action of Actives Cassava Starch Films Incorporated with Green Tea and Palm Oil Extracts. *PLOS ONE*, 9(9), 1-13.
- Pereda, M., Dufresne, A., Aranguren, M. I., Marcovich, N. E. (2014). Polyelectrolyte films based on chitosan/olive oil and reinforced with cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 1018–1026.
- Pereda, M., Ponce, A. G., Marcovich, N. E., Ruseckaite, R. A., Martucci, J. F. (2011). Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1372–1381.
- Perreira, D. A., Cruz, J. M., Losada, P. P. (2012). Active and Intelligent Packaging for the Food Industry. *Food Reviews International*, 28(2), 146–187.
- Perreira, D. A., Losada, P. P., Maroto, J., Cruz, J. M. (2011). Lipid damage during frozen storage of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) in active packaging film containing antioxidants. *Food Chemistry*, 126(1), 315–320.
- Petersen, K., Nielsen, P. V., Olsen, M. B. (2001). Physical and mechanical properties of biobased materials - Starch, polylactate and polyhydroxybutyrate. *Starch/Staerke*, 53(8), 356–361.
- Petersen, K., Væggemose Nielsen, P., Bertelsen, G., Lawther, M., Olsen, M. B., Nilsson, N. H., Mortensen, G. (1999). Potential of biobased materials for food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 10(2), 52–68.
- Petersson, L., Oksman, K. (2006). Biopolymer based nanocomposites: Comparing layered silicates and microcrystalline cellulose as nanoreinforcement. *Composites Science and Technology*, 66(13), 2187–2196.
- Pimbert, S. (2003). Evaluation of the Fractionated Crystallization of Isotactic Polypropylene and High Density Polyethylenes in Their Blends with Cycloolefin Copolymers. *Macromolecular Symposia*, 203, 277–283.
- Plackett, D. V., Holm, V. K., Johansen, P., Ndoni, S., Nielsen, P. V., Sipilainen-Malm, T., Södergard, A., Verstichel, S. (2006). Characterization of L-potylactide and L-polyactide-polycaprolactone co-polymer films for use in cheese-packaging applications. *Packaging Technology and Science*, 19(1), 1–24.
- Ponce AG, Roura SI, del Valle CE, Moreira MR. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest Biol Technol.* 49:294–300.

- Pruneda E, Peralta-Hernández JM, Esquivel K, Lee SY, Godínez LA, Mendoza S. (2008). Water vapor permeability, mechanical properties and antioxidant effect of Mexican oregano-soy based edible films. *Journal of Food Science*, 73, 488–493.
- Qin Y., Wang X. (2010). Carbon dioxide-based copolymers: Environmental benefits of PPC, an industrially viable catalyst. *Biotechnology Journal*, 5, 1164–1180.
- Qin, Y. Y., Yang, J. Y., Lu, H. B., Wang, S. S., Yang, J., Yang, X. C., Chai, M., Li, L., Cao, J. X. (2013). Effect of chitosan film incorporated with tea polyphenol on quality and shelf life of pork meat patties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 61, 312–316.
- Quintavalla, S., Vicini, L. (2002). Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, 62(3), 373–380.
- Rababah, T., Hettiarachchy, N. S., Horax, R., Cho, M. J., Davis, B., Dickson, J. (2006). Thiobarbituric acid reactive substances and volatile compounds in chicken breast meat infused with plant extracts and subjected to electron beam irradiation. *Poultry Science*, 85(6), 1107–1113.
- Ramos, M., Valdés, A., Mellinas, A., Garrigós, M. (2015). New Trends in Beverage Packaging Systems: A Review. *Beverages*, 1(4), 248–272.
- Ramziia S., Ma, H., Yao, Y., Wei, K., Huang, Y. (2017). Enhanced antioxidant activity of fish gelatin–chitosan edible films incorporated with procyanidin. *Journal of Applied Polymer Science*, 45781, 1-10.
- Rao, Y. Q. (2007). Gelatin-clay nanocomposites of improved properties. *Polymer*, 48(18), 5369–5375.
- Raquez, J. M., Nabar, Y., Narayan, R., Dubois, P. (2011). Preparation and characterization of maleated thermoplastic starch-based nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 122(1), 639–647.
- Ray, S. S., Bousmina, M. (2005). Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. *Progress in Materials Science*, 50(8), 962–1079.
- Rhim, J. W. (2011). Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, 86(2), 691–699.
- Rhim, J. W., Ng, P. K. W. (2007). Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4), 411–433.

- Rhim, J. W., Hong, S. I., Park, H. M., Ng, P. K. W. (2006). Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(16), 5814–5822.
- Rhim, J. W., Lee, J. H., Hong, S. I. (2007). Increase in water resistance of paperboard by coating with poly(lactide). *Packaging Technology and Science*, 20(6), 393–402.
- Rhim, J.-W., Lee, S.-B., Hong, S.-I. (2011). Preparation and Characterization of Agar/Clay Nanocomposite Films: The Effect of Clay Type. *Journal of Food Science*, 76(3), N40–N48.
- Rimdusit, S., Jingjid, S., Damrongsakkul, S., Tiptipakorn, S., Takeichi, T. (2008). Biodegradability and property characterizations of Methyl Cellulose: Effect of nanocompositing and chemical crosslinking. *Carbohydrate Polymers*, 72(3), 444–455.
- Rivero, S., García, M. A., Pinotti, A. (2009). Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 531–539.
- Rivero, S., García, M. A., Pinotti, A. (2010). Crosslinking capacity of tannic acid in plasticized chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 82, 270–276.
- Robertson, G. L. (2013). Food packaging: principles and practice. In TaylorFrancis (Ed.) (pp. 43–53). CRC Press.
- Rodsamran, P., Sothornvit, R. (2018). Microencapsulation of Thai rice grass (*O. Sativa* cv. Khao Dawk Mali 105) extract incorporated to form bioactive carboxymethyl cellulose edible film. *Food Chemistry*, 242, 239–246.
- Rogovina, S. Z., Vikhoreva, G. A. (2006). Polysaccharide-based polymer blends: Methods of their production. *Glycoconjugate Journal*, 23(7–8), 611–618.
- Rollini, M., Mascheroni, E., Capretti, G., Coma, V., Musatti, A., Piergiovanni, L. (2017). Propolis and chitosan as antimicrobial and polyphenols retainer for the development of paper based active packaging materials. *Food Packaging and Shelf Life*, 14, 75–82.
- Roohani, M., Habibi, Y., Belgacem, N. M., Ebrahim, G., Karimi, A. N., Dufresne, A. (2008). Cellulose whiskers reinforced polyvinyl alcohol copolymers nanocomposites. *European Polymer Journal*, 44(8), 2489–2498.
- Rubentheren, V., Ward, T. A., Chee, C. Y., Nair, P. (2015). Physical and chemical reinforcement of chitosan film using nanocrystalline cellulose and tannic acid. *Cellulose*, 22(4), 2529–2541.
- Rubentheren, V., Ward, T. A., Chee, C. Y., Nair, P., Salami, E., Fearday, C. (2016). Effects of heat treatment on chitosan nanocomposite film reinforced with

- nanocrystalline cellulose and tannic acid. *Carbohydrate Polymers*, 140, 202–208.
- Rubilar, J. F., Cruz, R. M. S., Silva, H. D., Vicente, A. A., Khmelinskii, I., Vieira, M. C. (2013). Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 466–474.
- Rui, L., Xie, M., Hu, B., Zhou, L., Yin, D., Zeng, X. (2017). A comparative study on chitosan/gelatin composite films with conjugated or incorporated gallic acid. *Carbohydrate Polymers*, 173, 473–481.
- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Barber, X., Sendra, E., Perez-Alvarez, J.A., Fernández-López, J. (2015). Effect of chitosan edible films added with *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oil on shelf-life of cooked cured ham. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6493–6501.
- Russell, A. D., Hugo, W. B. (1994). Antimicrobial Activity and Action of Silver. *Progress in Medicinal Chemistry*, 31(C), 351–370.
- Saini, S., Sillard, C., Belgacem, M.N., Bras, J. (2016). Nisin anchored cellulose nanofibers for long term antimicrobial active food packaging. *RSV Advances*, 6(15), 12437-12445.
- Sakurai, K., Maegawa, T., Takahashi, T. (2000). Glass transition temperature of chitosan and miscibility of chitosan/poly(N-vinyl pyrrolidone) blends. *Polymer*, 41(19), 7051–7056.
- Samaržija-Jovanović, S., Jovanović, V., Marković, G., Konstantinović, S., Marinović-Cincović, M. (2011). Nanocomposites based on silica-reinforced ethylene-propylene-diene-monomer/ acrylonitrile-butadiene rubber blends. *Composites Part B: Engineering*, 42(5), 1244–1250.
- Sánchez-García, M. D., Hilliou, L., Lagarón, J. M. (2010). Morphology and water barrier properties of nanobiocomposites of κ /I-hybrid carrageenan and cellulose nanowhiskers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 12847–12857.
- Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2010). Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 277–283.
- 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.

- Sarasam, A., Madihally, S. V. (2005). Characterization of chitosan-polycaprolactone blends for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 26(27), 5500–5508.
- Sathivel, S., Liu, Q., Huang, J., Prinyawiwatkul, W. (2007). The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorboscha*) fillets during frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 83(3), 366–373.
- Sharmin, N., Khan, R. A., Salmieri, S., Dussault, D., Lacroix, M. (2012). Fabrication and Characterization of Biodegradable Composite Films Made of Using Poly(caprolactone) Reinforced with Chitosan. *Journal of Polymers and the Environment*, 20(3), 698–705.
- Shin, J. Y., Park, J. Y., Liu, C., He, J., Kim, S. C. (2005). Chemical structure and physical properties of cyclic olefin copolymers. *Pure and Applied Chemistry*, 77(5), 801–814.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1998). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.
- Sinha Ray, S., Okamoto, M. (2003). Polymer/layered silicate nanocomposites: A review from preparation to processing. *Progress in Polymer Science (Oxford)*.
- Sinha Ray, S., Yamada, K., Okamoto, M., Ueda, K. (2003). Biodegradable Polylactide/Montmorillonite Nanocomposites. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 3(6), 503–510.
- Sionkowska, A. (2011). Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review. *Progress in Polymer Science (Oxford)*.
- Siripatrawan, U., Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloid*, 24, 770–775.
- Šlouf, M., Kolařík, J., Fambri, L. (2004). Phase morphology of PP/COC blends. *Journal of Applied Polymer Science*, 91(1), 253–259.
- Smolander, M., Chaudhry, Q., Castle, L., Watkins, R. (2010). Nanotechnologies in food packaging. In *Nanotechnologies in food* (p. 86–101). Royal Society of Chemistry.
- Souza, M. P., Vaz, A. F. M., Silva, H. D., Cerqueira, M. A., Vicente, A. A., Carneiro-da-Cunha, M. G. (2015). Development and Characterization of an Active Chitosan-Based Film Containing Quercetin. *Food and Bioprocess Technology*, 8(11), 2183–2191.

- Soysal, Ç., Bozkurt, H., Dirican, E., Güçlü, M., Bozhüyük, E. D., Uslu, A. E., Kaya, S. (2015). Effect of antimicrobial packaging on physicochemical and microbial quality of chicken drumsticks. *Food Control*, 54, 294–299.
- Södergård, A., Stolt, M. (2002). Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 27(6), 1123–1163.
- Sun, Q., Sun, C., Xiong, L. (2013). Mechanical, barrier and morphological properties of pea starch and peanut protein isolate blend films. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 630–637.
- Sun, X., Wang, Z., Kadouh, H., Zhou, K. (2014). The antimicrobial, mechanical, physical and structural properties of chitosan-gallic acid films. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 83–89.
- Suryanegara, L., Nakagaito, A. N., Yano, H. (2009). The effect of crystallization of PLA on the thermal and mechanical properties of microfibrillated cellulose-reinforced PLA composites. *Composites Science and Technology*, 69(7–8), 1187–1192.
- Suyatma, N. E., Copinet, A., Tighzert, L., Coma, V. (2004). Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan and poly (lactic acid) blends. *Journal of Polymers and the Environment*, 12(1), 1–6.
- Talón, E., Trifkovic, K. T., Nedovic, V. A., Bugarski, B. M., Vargas, M., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2017). Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1153–1161.
- Tang, C., Liu, H. (2008). Cellulose nanofiber reinforced poly(vinyl alcohol) composite film with high visible light transmittance. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 39(10), 1638–1643.
- Tawakkal, I.S.M, Cran, M.J., Bigger, S.W. (2017). Effect of poly(lactic acid)/kenaf composites incorporated with thymol on the antimicrobial activity of processed meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, 1-12.
- Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. *Trends in Food Science and Technology*, 14(3), 71–78.
- Torres-Giner, S., Torres, A., Ferrandiz, M., Fombuena, V., Balart, R. (2017). Antimicrobial activity of metal cation-exchanged zeolites and their evaluation on injection-molded pieces of bio-based high-density polyethylene. *J Food Saf.* 37, 1-12.
- Tortora, M., Vittoria, V., Galli, G., Ritrovati, S., Chiellini, E. (2002). Transport properties of modified montmorillonite-poly(ϵ -caprolactone)

- nanocomposites. *Macromolecular Materials and Engineering*, 287(4), 243–249.
- Turalija, M., Bischof, S., Budimir, A., Sabyasachi, G. (2016). Antimicrobial PLA films from environment friendly additives. *Composites Part B*, 102, 94-99.
- Utracki, L. A., Simha, R., Garcia-Rejon, A. (2003). Pressure-volume-temperature dependence of polycaprolactone/clay nanocomposites. *Macromolecules*, 36(6), 2114–2121.
- Uysal Unalan, I., Cerri, G., Marcuzzo, E., Cozzolino, C. A., Farris, S. (2014). Nanocomposite films and coatings using inorganic nanobuilding blocks (NBB): current applications and future opportunities in the food packaging sector. *RSC Adv.*, 4(56), 29393–29428.
- Valencia-Sullca, C., Vargas, M., Atarés, L., Chiralt, A. (2017). Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, 75, 107–115.
- Vaziri, H. S., Omaraei, I. A., Abadyan, M., Mortezaei, M., Yousefi, N. (2011). Thermophysical and rheological behavior of polystyrene/silica nanocomposites: Investigation of nanoparticle content. *Materials and Design*, 32(8–9), 4537–4542.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., Debevere, J. (2002). Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts. *Food Additives and Contaminants*, 19, 163–171.
- Vlieger, J. J. (2003). Green plastics for food packaging. In *Novel Food Packaging Techniques* (p. 519–534), Elsevier.
- Vogler, E. A. (1998). Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*, 74(1–3), 69–117.
- Wan, A., Xu, Q., Sun, Y., Li, H. (2013). Antioxidant activity of high molecular weight chitosan and N,O-quaternized chitosans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(28), 6921–6928.
- Wang, H., Wang, L. (2017). Developing a bio-based packaging film from soya by-products incorporated with valonea tannin. *Journal of Cleaner Production*, 143, 624-633.
- Wang, H.-M., Chou, Y.-T., Wu, C.-S., Yeh, J.-T. (2012). Polyester/cellulose acetate composites: Preparation, characterization and biocompatible. *Journal of Applied Polymer Science*, 126(S2), E242–E251.
- Wang, L. (2000). Preparation and Properties Thermoplastic Starch-Polyester Laminate Sheets by Coextrusion. *Polymer Engineering and Science*, 40(2), 499–506.

- Wang, L., Dong, Y., Men, H., Tong, J., Zhou, J. (2013). Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 35–41.
- Xiao-e, L., Green, A. N. M., Haque, S. A., Mills, A., Durrant, J. R. (2004). Light-driven oxygen scavenging by titania/polymer nanocomposite films. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 162(2–3), 253–259.
- Xu, B., Zheng, Q., Song, Y., Shangguan, Y. (2006). Calculating barrier properties of polymer/clay nanocomposites: Effects of clay layers. *Polymer*, 47(8), 2904–2910.
- Yano, K., Usuki, A., Okada, A., Kurauchi, T., Kamigaito, O. (1993). Synthesis And Properties Of Polyimide Clay Hybrid. *Journal of Polymer Science Part A- Polymer Chemistry*, 31(10), 2493–2498.
- Youssef, A. M., Abdel-Aziz, M. S., El-Sayed, S. M. (2014). Chitosan nanocomposite films based on Ag-NP and Au-NP biosynthesis by *Bacillus Subtilis* as packaging materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 185–191.
- Youssef, A. M., Abou-Yousef, H., El-Sayed, S. M., Kamel, S. (2015). Mechanical and antibacterial properties of novel high performance chitosan/nanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 76, 25–32.
- Yu, L., Dean, K., Li, L. (2006). Polymer blends and composites from renewable resources. *Progress in Polymer Science (Oxford)*.
- Zahra Javidi, Z., Hosseini, S.F., Rezaei, M. (2016). Development of flexible bactericidal films based on poly(lactic acid) and essential oil and its effectiveness to reduce microbial growth of refrigerated rainbow trout. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 251-260.
- Zamudio-Flores, P. B., Torres, A. V., Salgado-Delgado, R., Bello-Pérez, L. A. (2010). Influence of the oxidation and acetylation of banana starch on the mechanical and water barrier properties of modified starch and modified starch/chitosan blend films. *Journal of Applied Polymer Science*, 115(2), 991–998.
- Zeng, M., Fang, Z., Xu, C. (2004). Effect of compatibility on the structure of the microporous membrane prepared by selective dissolution of chitosan/synthetic polymer blend membrane. *Journal of Membrane Science*, 230(1–2), 175–181.

EKLER

EK A. Üzüm Çekirdeğinden Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonun Optimizasyon Sonuçları

EK B. Filmlere Eklenecek GSE Oranının Belirlenmesinde Kullanılan Çoklu Regresyon Sonuçları

EK C. Gıda Uygulamasında Kullanılacak Film Örneklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Çoklu Regresyon Sonuçları



Çizelge A.1. Tasarım matrisi ve tam faktöriyel tasarım

Faktör 1 A:Etanol (ml)	Faktör 2 B:katı:sıvı (g/ml)	Faktör 3 C:süre (dk)	Yanıt 1 Toplam fenolik mg/kgx10 ²	Yanıt 2 Gallik asit mg/g	Yanıt 3 Kateşin mg/g	Yanıt 4 Epikateşin mg/g	Yanıt 5 Antioksidan µmol/ml	Yanıt 6 Zon (E.coli) mm	Yanıt 7 Zon (Listeria) mm
75	0.23	76	228.12	0.12	0.06	0.04	71.45	11.00	10.00
75	0.15	76	251.58	0.12	0.04	0.02	27.09	9.33	8.50
75	0.15	76	251.58	0.12	0.04	0.02	27.09	9.33	8.50
60	0.20	120	214.89	0.14	0.06	0.04	75.72	12.00	9.75
75	0.15	76	251.58	0.12	0.04	0.02	27.09	9.33	8.50
90	0.20	32	67.16	0.02	0.01	0.00	18.12	11.33	9.00
90	0.10	120	67.16	0.04	0.03	0.01	18.28	12.33	10.00
90	0.20	120	130.07	0.06	0.03	0.02	25.86	12.67	10.00
75	0.15	2	121.44	0.06	0.03	0.01	27.79	10.60	9.00
75	0.15	150	106.99	0.12	0.06	0.03	32.56	10.33	8.50
60	0.10	120	173.75	0.12	0.05	0.02	41.35	11.00	8.75
50	0.15	76	309.42	0.11	0.04	0.03	15.06	12.25	10.00
100	0.15	76	65.83	0.01	0.01	0.00	17.57	9.00	8.50
75	0.07	76	269.09	0.03	0.02	0.00	17.49	9.50	8.50
60	0.20	32	151.38	0.13	0.05	0.03	35.49	10.75	9.75
75	0.15	76	251.58	0.12	0.04	0.02	27.09	9.33	8.50
60	0.10	32	116.49	0.12	0.05	0.02	20.28	10.00	8.50
75	0.15	76	251.58	0.12	0.04	0.02	27.09	9.33	8.50
90	0.10	32	72.03	0.01	0.01	0.00	18.12	10.67	8.50

Çizelge A.2. Tam faktöriyel tasarım için varyans analiz (ANOVA) tablosu

Kaynak	df	Toplam fenolik			df	Gallik asit		
		Katsayı	Kareler toplamı	p-değeri		Katsayı	Kareler toplamı	p-değeri
Model	9	-253.4	106440	0.004	9	0.11482	0.034483	0.000
Lineer	3		41054	0.007	3		0.027229	0.000
A-etanol	1	-53.4	38995	0.001	1	-0.03943	0.021236	0.000
B-katı:çözücü	1	4.8	311	0.693	1	0.01588	0.003442	0.003
C-süre	1	11.3	1748	0.358	1	0.01367	0.002551	0.008
Kare	3		64169	0.001	3		0.006571	0.003
A2	1	-34.3	16924	0.013	1	0.00401	0.004938	0.001
B2	1	-12.7	2327	0.292	1	-0.01150	0.001905	0.017
C2	1	-60.2	52265	0.000	1	-0.00704	0.000714	0.110
2-yönlü interaksiyon	3		1217	0.883	3		0.000683	0.440
AB	1	-2.3	41	0.886	1	-0.00141	0.000016	0.798
AC	1	-7.8	492	0.620	1	0.00891	0.000635	0.129
BC	1	9.3	685	0.560	1	0.00201	0.000032	0.716
Error	10		18825	0.000	10		0.002318	
Lack of Fit	5		18825		5		0.002318	
Pure Error	5		0		5		0.000000	
Total	19		125265		19		0.036801	
R2	84.97				93.70			
Adj-R2	71.45				88.03			
Pre-R2	0.00				52.18			

Çizelge A.2. Tam faktöriyel tasarım için varyans analiz (ANOVA) tablosu (devam)

Kaynak	df	Katesin			df	Epikatesin		
		Katsayı	Kareler toplamı	p-değeri		Katsayı	Kareler toplamı	p-değeri
Model	9	0.03701	0.004017	0.001	9	0.02440	0.002501	0.000
Lineer	3		0.003619	0.000	3		0.000153	0.146
A-etanol	1	-0.01408	0.002709	0.000	1	-0.00946	0.000078	0.094
B-katı:çözücü	1	0.00550	0.000413	0.017	1	0.00728	0.000062	0.130
C-süre	1	0.00603	0.000496	0.011	1	0.00462	0.000020	0.371
Kare	3		0.000278	0.204	3		0.000196	0.089
A2	1	-0.00316	0.000144	0.122	1	-0.00354	0.000181	0.018
B2	1	0.00050	0.000004	0.796	1	-0.00135	0.000026	0.308
C2	1	0.00267	0.000103	0.183	1	-0.00024	0.000001	0.852
2-yönlü interaksiyon	3		0.000121	0.523	3		0.000070	0.423
AB	1	-0.00026	0.000001	0.918	1	-0.00126	0.000013	0.472
AC	1	0.00365	0.000107	0.177	1	0.000004	0.000043	0.197
BC	1	0.00130	0.000014	0.616	1	0.00131	0.000014	0.454
Error	10		0.000504	0.000	10		0.000227	
Lack of Fit	5		0.000504		5		0.000227	
Pure Error	5		0.000000		5		0	
Total	19		0.004521		19		0.002728	
R2	88.86				91.68			
Adj-R2	78.84				84.18			
Pre-R2	15.40				36.57			

Çizelge A.2. Tam faktöriyel tasarım için varyans analiz (ANOVA) tablosu (devam)

Kaynak	Antioksidan aktivite				Antimikrobiyal aktivite							
	df	Katsayı	Kareler toplamı	p-değeri	df	<i>Escherichia coli</i>			df	<i>Listeria monocytogenes</i>		
						Katsayı	Kareler toplamı	p-değeri		Katsayı	Kareler toplamı	p-değeri
Model	9	27.05	4136.51	0.011	9	9.307	16.0346	0.203	9	8.495	6.03893	0.031
Lineer	3		2608.41	0.003	3		4.0834	0.322	3		2.53267	0.031
A-etanol	1	-6.46	570.08	0.035	1	-0.162	0.3595	0.568	1	-0.130	0.23010	0.296
B-katı:çözücü	1	10.83	1601.71	0.002	1	0.386	2.0357	0.190	1	0.386	2.03570	0.008
C-süre	1	5.65	436.62	0.059	1	0.352	1.6881	0.230	1	0.140	0.26688	0.263
Kare	3		861.61	0.082	3		11.8097	0.046	3		2.42032	0.035
A2	1	-3.57	183.58	0.196	1	0.632	5.7490	0.040	1	0.299	1.29238	0.026
B2	1	6.38	587.47	0.033	1	0.499	3.5887	0.092	1	0.299	1.29238	0.026
C2	1	1.33	25.53	0.617	1	0.576	4.7751	0.057	1	0.123	0.21692	0.310
2-yönlü interaksiyon	3		666.49	0.137	3		0.1415	0.986	3		1.08594	0.192
AB	1	-5.25	220.58	0.160	1	-0.094	0.0703	0.799	1	-0.219	0.38281	0.186
AC	1	-6.68	356.52	0.083	1	0.094	0.0703	0.799	1	0.281	0.63281	0.098
BC	1	3.34	89.39	0.357	1	-0.010	0.0009	0.977	1	-0.094	0.07031	0.556
Error	10		958.21		10		10.3066	0.000	10		1.89544	
Lack of Fit	5		958.21		5		10.3066		5		1.89544	
Pure Error	5		0.00		5		0.0000		5		0.00	
Total	19		5094.71		19		26.3412		19		7.93437	
R2	81.19				60.87							
Adj-R2	64.27				25.66							
Pre-R2	0.00				0.00							

Çizelge B.1. Farklı oranlarda GSE içeren CH filmlerle ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinin renk değerlerindeki değişim

		Depolama (gün)					
	Örnek	0	3	6	9	12	15
L*	C	52.15±3.11	51.00±0.88	53.49±0.80	52.23±2.77	52.66±0.81	54.98±0.65
	CH		48.92±0.92	50.79±1.10	51.22±3.62	49.57±1.68	52.93±1.06
	CH5G		53.16±0.72	50.41±0.94	54.07±1.30	50.83±1.82	55.12±0.58
	CH10G		53.83±0.77	50.72±1.41	52.35±1.98	53.30±0.48	52.94±0.56
	CH15G		51.54±1.80	50.76±1.49	51.11±3.52	48.35±1.06	51.66±1.68
a*	C	2.36±0.34	4.35±0.20	3.64±0.37	4.04±1.28	3.01±0.45	4.44±0.40
	CH		3.98±0.36	4.30±0.80	4.04±1.39	4.34±0.88	3.48±0.60
	CH5G		3.54±0.43	3.57±1.11	4.39±0.93	5.27±1.28	3.98±0.69
	CH10G		2.49±0.41	7.24±1.99	4.00±0.79	7.58±0.52	7.15±1.13
	CH15G		1.80±0.27	4.60±0.68	3.81±1.06	5.30±1.22	3.60±1.58
b*	C	2.81±0.79	0.48±0.54	2.89±0.47	3.17±0.44	1.38±1.22	4.62±0.55
	CH		0.63±0.85	0.46±1.01	0.91±1.52	1.92±0.89	3.82±0.88
	CH5G		6.96±0.42	5.62±0.60	7.38±0.45	5.54±1.27	4.27±0.15
	CH10G		6.30±0.19	6.34±0.73	5.93±0.48	9.22±0.43	8.87±0.45
	CH15G		1.60±1.70	1.61±0.91	1.56±1.77	1.14±1.28	3.22±0.45
ΔE	C	-	3.4±0.5	2.0±0.2	3.1±1.1	2.4±1.4	3.6±0.4
	CH		4.4±0.5	3.6±0.8	4.2±2.1	3.7±1.3	3.2±0.5
	CH5G		4.5±0.5	3.7±1.1	5.5±1.2	4.4±0.2	3.7±0.8
	CH10G		3.9±1.1	6.4±0.5	3.9±1.1	8.4±0.6	7.8±1.2
	CH15G		2.6±0.6	3.3±0.9	4.0±1.7	5.4±0.5	2.8±0.9

Çizelge B.2. Çoklu regresyon analizi program çıktıları (parametreler)

Response	Goal	Lower	Target	Upper	Importance
TBARS	Minimum		3.42	6.020	4
Koliform	Minimum		2.60	4.778	4
TMAB	Minimum		6.00	7.778	4
Opaklık	Minimum		266.23	384.100	1
Transmittans	Maximum	80.10	87.10		1
E	Maximum	9.00	19.63		2
TS	Maximum	3.60	52.00		2
EM	Maximum	1260.00	2153.51		2
<i>P. aureginosa</i>	Maximum	1.45	1.92		3
<i>S. aureus</i>	Maximum	1.00	1.92		3
<i>L. monocytogenes</i>	Maximum	1.19	1.88		3
<i>E. coli</i>	Maximum	0.90	1.50		3
İnhibisyon (%)	Maximum	0.00	21.45		3

Çizelge B.3. Çoklu regresyon analizi program çıktıları (çözümler)

Solution	Örnek	TBARS Fit	Koliform Fit	TMAB Fit	Opaklık Fit	Transmittans Fit	E Fit	TS Fit	EM Fit	<i>P. aereginosa</i> Fit	<i>S. aureus</i> Fit	<i>L. monocytogenes</i> Fit	<i>E. coli</i> Fit	İnhibisyon (%) Fit	Composite Desirability
1	CH15G	3.4	2.6	6.1	374	81	19	21	2.0	1.9	1.1	1.8	1.4	20	0.65
2	CH10G	4.2	2.9	6.6	343	84	16	21	1.8	1.6	1.7	1.9	1.2	17	0.63
3	CH5G	4.3	4.0	6.6	322	86	10	39	1.3	1.5	1.5	1.2	1.4	13	0.35
4	CH	5.0	4.5	7.6	303	86	14	21	1.3	1.5	1.4	1.7	1.0	0	0

Çizelge B.4. Çoklu regresyon analizi program çıktıları (tahmin)

Response	Variable		Setting	
	Fit	SE Fit	95% CI	95% PI
TBARS	3.430	0.292	(2.758; 4.103)	(2.086; 4.775)
Koliform	2.602	0.158	(2.162; 3.042)	(1.841; 3.364)
TMAB	6.088	0.127	(5.762; 6.414)	(5.524; 6.652)
Opaklık	374.1	15.1	(339.3; 408.9)	(304.5; 443.7)
Transmittans	81.100	0.577	(79.769; 82.431)	(78.437; 83.763)
E	18.630	0.577	(17.299; 19.961)	(15.967; 21.293)
TS	21.30	4.45	(11.04; 31.56)	(0.79; 41.81)
EM	2133.5	18.2	(2091.4; 2175.6)	(2049.3; 2217.7)
<i>P. aureginosa</i>	1.8600	0.0363	(1.7712; 1.9488)	(1.6824; 2.0376)
<i>S. aureus</i>	1.0900	0.0659	(0.9343; 1.2457)	(0.7785; 1.4015)
<i>L. monocytogenes</i>	1.7500	0.0399	(1.6524; 1.8476)	(1.5548; 1.9452)
<i>E. coli</i>	1.4000	0.0433	(1.2940; 1.5060)	(1.1880; 1.6120)
İnhibisyon (%)	20.450	0.500	(19.297; 21.603)	(18.144; 22.756)

Çizelge C.1. Tek katmanlı ve iki katmanlı film örneklerine ait logaritmik azalma miktarları

	Örnek	Logaritmik azalma (log kob/mL)	
		<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Tek katman	CH	0.98±0.02	1.69±0.02
	CHG	1.04±0.03	1.09±0.03
	CH1N	1.06±0.09	1.49±0.05
	CHG1N	1.20±0.08	1.52±0.01
	CH2N	1.19±0.06	1.50±0.03
	CHG2N	1.35±0.04	1.82±0.03
	CH5N	1.19±0.04	2.37±0.04
	CHG5N	1.39±0.04	2.37±0.02
	COC-C	CH	0.86±0.08
CHG		0.85±0.02	0.00±0.01
CH1N		0.73±0.05	1.20±0.26
CHG1N		0.79±0.10	1.67±0.10
CH2N		0.93±0.06	1.64±0.04
CHG2N		0.69±0.08	1.68±0.16
CH5N		0.69±0.02	1.47±0.07
CHG5N		0.92±0.03	1.49±0.06
PCL-C		CH	0.96±0.09
	CHG	1.01±0.08	0.80±0.08
	CH1N	0.82±0.09	0.61±0.01
	CHG1N	1.38±0.04	1.17±0.04
	CH2N	1.38±0.14	1.17±0.02
	CHG2N	1.34±0.31	1.12±0.04
	CH5N	1.43±0.01	1.21±0.03
	CHG5N	0.60±0.03	0.78±0.03
	PCL-P	CH	0.07±0.01
CHG		0.07±0.02	0.14±0.02
CH1N		0.21±0.01	0.37±0.04
CHG1N		0.04±0.01	0.17±0.01
CH2N		0.11±0.01	0.52±0.01
CHG2N		0.29±0.04	0.16±0.01
CH5N		0.54±0.02	0.71±0.03
CHG5N		0.20±0.01	0.15±0.04

Çizelge C.2. Parametrelere ait elde edilen en yüksek ve en düşük değerler ve önem dereceleri

Response	Goal	Lower	Target	Upper	Weight	Importance
<i>L. monocytogenes</i>	Maximum	0.000	2.40		1	1
<i>E. coli</i>	Maximum	0.052	1.65		1	1
Antioksidan aktivite	Maximum	0.000	34.09		1	1
opaklık (Axnm)/mm	Minimum		162.39	5203.71	1	1
Transmittans	Maximum	0.600	87.50		1	1
ϵ %	Maximum	8.20	26.94		1	1
TS	Maximum	8.84	72.28		1	1
EM	Maximum	800	2284.76		1	1
Su tutma kapasitesi. %	Minimum		37.01	467.53	1	1
Çözünürlük. %	Minimum		9.15	33.97	1	1
Su buharı geçirgenliği	Minimum		0.10	11.79	1	1

Çizelge C.3. Modele uygun çözümler ve sonuçları

S	C1	<i>L. monocytogenes</i> Fit	<i>E. coli</i> Fit	Antioksidan aktivite Fit	opaklık (Axnm)/mm Fit	Transmittans Fit	E% Fit	TS Fit	EM Fit	Su tutma kapasitesi, % Fit	Çözünürlük, % Fit	Su buharı geçirgenliği Fit	Composite Desirability
1	CH15G2N PCL-C	1.9	1.5	21	973	60	22	22	1.7	129	19	0.57	0.66
2	CH15G5N	2.4	1.4	20	370	78	18	20	1.1	185	15	6.28	0.57
3	CH15G2N	1.8	1.0	16	348	79	14	24	1.6	194	16	5.90	0.56
4	CH15G1N COC-C	1.7	0.8	20	198	68	20	12	1.4	129	17	0.39	0.55

Çizelge C.4. Modele göre en uygun ambalaj filmi ve bu film örneklerine ait sonuçlar

Response	Variable		Setting	
	C1	CH15G2N PCL-C		
	Fit	SE Fit	95% CI	95% PI
<i>L. monocytogenes</i>	1.9244	0.0896	(1.7420; 2.1067)	(1.6085; 2.2403)
<i>E. coli</i>	1.487	0.130	(1.222; 1.751)	(1.028; 1.945)
Antioksidan aktivite	20.890	0.163	(20.566; 21.214)	(20.165; 21.615)
opaklık (Axnm)/mm	973	192	(593; 1354)	(122; 1824)
Transmittans	60.00	3.83	(52.40; 67.60)	(43.00; 77.00)
ϵ %	22	1.31	(19.39; 24.59)	(16.18; 27.80)
TS	21.7	3.29	(15.16; 28.22)	(7.09; 36.30)
EM	1665	96.8	(1472.3; 1857.0)	(1234.6; 2094.8)
Su tutma kapasitesi, %	128.8	12.1	(104.7; 152.9)	(74.9; 182.6)
Çözünürlük, %	19.25	1.10	(17.06; 21.44)	(14.36; 24.14)
Su buharı geçirgenliği	0.573	0.382	(-0.185; 1.331)	(-1.122; 2.268)

Çizelge C.5. Farklı filmlerle ambalajlanan tavuk göğüs fileto örneklerinin renk değerlerindeki değişim

		Depolama (gün)					
	Örnek	0	3	6	9	12	15
L*	C	52.15±3.11	51.00±0.88	53.49±0.80	52.23±2.77	52.66±0.81	54.98±0.65
	CH		48.92±0.92	50.79±1.10	51.22±3.62	49.57±1.68	52.93±1.06
	CHG		51.54±1.80	50.76±1.49	51.11±3.52	48.35±1.06	51.66±1.68
	CHP		56.27±2.12	51.62±3.35	49.04±1.77	53.10±3.38	55.00±1.72
	CHGP		56.65±1.70	50.84±1.38	50.96±1.06	52.63±1.19	52.99±3.26
	CHN		52.80±1.96	53.76±2.12	53.67±1.30	51.39±2.11	54.62±1.77
	CHNG		49.24±1.98	52.32±1.03	55.35±1.38	55.41±2.46	54.94±1.23
	CHNP		58.02±2.00	50.02±3.13	52.28±1.97	51.66±0.64	53.68±1.48
	CHNGP		50.53±1.61	51.23±0.79	50.96±2.10	50.24±0.73	52.96±0.91
a*	C	2.36±0.34	4.35±0.20	3.64±0.37	4.04±1.28	3.01±0.45	4.44±0.40
	CH		3.98±0.36	4.30±0.80	4.04±1.39	4.34±0.88	3.48±0.60
	CHG		1.80±0.27	4.60±0.68	3.81±1.06	5.30±1.22	3.60±1.58
	CHP		6.14±0.36	3.54±0.74	3.94±0.69	4.34±0.32	4.07±0.45
	CHGP		6.00±0.42	4.35±1.09	3.83±0.94	2.83±1.03	3.26±0.63
	CHN		7.00±1.12	4.36±1.14	4.51±2.00	5.84±0.70	4.60±1.20
	CHNG		6.48±0.85	4.18±0.71	5.09±1.17	4.78±0.66	5.28±0.38
	CHNP		6.75±1.19	3.96±1.55	5.51±0.78	3.45±0.61	3.21±0.83
	CHNGP		6.25±0.71	3.60±0.83	3.68±1.06	5.78±1.79	5.20±1.74
b*	C	2.81±0.79	0.48±0.54	2.89±0.47	3.17±0.44	1.38±1.22	4.62±0.55
	CH		0.63±0.85	0.46±1.01	0.91±1.52	1.92±0.89	3.82±0.88
	CHG		1.60±1.70	1.61±0.91	1.56±1.77	1.14±1.28	3.22±0.45
	CHP		9.12±1.33	3.17±0.63	0.70±0.91	5.39±1.00	4.39±1.04
	CHGP		10.40±1.76	0.96±0.74	3.73±1.43	2.86±1.03	3.32±1.09
	CHN		4.32±0.93	5.98±0.94	7.23±1.07	7.28±1.50	5.47±1.34
	CHNG		4.69±1.02	3.69±1.46	5.19±1.38	8.25±1.84	5.30±0.47
	CHNP		6.07±1.20	2.42±0.58	2.13±0.86	2.62±1.10	3.12±1.56
	CHNGP		3.63±1.39	3.00±1.42	2.21±0.77	2.56±0.60	4.98±1.18
ΔE	C	-	3.4±0.5	2.0±0.2	3.1±1.1	2.4±1.4	3.6±0.4
	CH		4.4±0.5	3.6±0.8	4.2±2.1	3.7±1.3	3.2±0.5
	CHG		2.6±0.6	3.3±0.9	4.0±1.7	5.4±0.5	2.8±0.9
	CHP		8.7±1.4	3.2±1.5	4.2±1.8	4.9±2.3	3.7±1.4
	CHGP		9.6±2.2	3.4±0.9	3.1±1.3	3.1±0.9	3.8±1.2
	CHN		5.2±1.5	4.6±1.2	5.6±0.9	6.1±1.3	5.0±3.3
	CHNG		5.7±1.4	2.5±1.2	5.9±1.7	7.1±2.2	4.2±0.9
	CHNP		8.7±1.6	3.6±2.4	3.7±1.0	1.7±0.6	2.7±1.4
	CHNGP		4.7±0.6	2.8±0.7	2.8±1.9	4.0±1.8	4.5±0.9

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ece SÖĞÜT
Doğum Yeri ve Yılı : Denizli, 1986
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ececagdas@sdu.edu.tr

Eğitim Durumu

Lise : Denizli Lisesi, 1999
Lisans : Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği
Yüksek Lisans : Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği

Mesleki Deneyim

SDÜ, Mühendislik Fakültesi, Gıda mühendisliği 2011-..... (halen)

Yayımları

- Kumcuoglu S, Cagdas E. (2015). Effects of Grape Seed Powder and Whey Protein on Quality Characteristics of Chicken Nuggets. Journal of Food Quality, Volume 38, Issue 2, pages 83–93, April 2015.
- Cagdas E, Kumcuoglu S. (2015). Effects of the Addition of Grape Seed Powder on the Thermorheological Properties of Frying Batters. International Journal of Food Engineering, 11, 2. April 2015.
- Cagdas E, Kumcuoglu S. (2015). Effect of grape seed powder on oxidative stability of precooked chicken nuggets during frozen storage. Journal of Food Science and Technology, May 2015, Volume 52, Issue 5, pp 2918-2925.
- Guzel-Seydim ZB, Dibekci M, Cagdas E, Seydim AC. (2016). Effect of kefir on *Fusobacterium nucleatum* in potentially preventing intestinal cancer. Functional Foods in Health and Disease. Volume 6, Issue 7, pages 469-477, July 2016.

- Söğüt E., Seydim A.C. (2017). Biyo-bazlı Nanokompozitler ve Gıda Ambalajlamadaki Uygulamaları. *Gıda*, 47 (6): 821-833. doi: 10.15237/gıda.GD17084
- Çağdaş E., Seydim A.C. (2016). Üzüm çekirdeğinden fenolik bileşen ekstraksiyonunun yüzey yanıt metodu ile optimizasyonu. *Gıda*, Doi: 10.15237/gıda.GD16042 (Kontrol No: 3176707)
- Çağdaş E., Kumcuoğlu S. (2014). Üzüm çekirdeği tozu ve peynir altı suyu tozunun tavuk nugget kalitesi üzerine etkileri. *Gıda*, 39(5), 291-298. Doi: 10.15237/gıda.GD14032 (Kontrol No: 2211519)
- Çağdaş E., Seydim A.C. (2014). Moleküler Hareketlilik: Gıdaların Muhafazası ve İşlemesinde Yeni Bir Yaklaşım. *Gıda*, 39(5), 307-313., Doi: 10.15237/gıda.GD13081 (Kontrol No: 2211718)
- Süfer, Ö. Çağdaş, E., Kumcuoğlu, S., Turgut, A. (2013). Farklı Miktarlarda Üzüm Çekirdeği Tozu İlave Edilmiş Kaplama Harçlarının Reolojik Özellikleri. *Gıda*, 38(1), 17-31. (Kontrol No: 111215)
- Çağdaş, E., Kumcuoğlu, S., Güven, S., Tavman, Ş. (2011). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (silymarin) from milk thistle (*Silybum marianum* L.). *Gıda*, 36(6), 311-318. (Kontrol No: 111181)
- Çağdaş, E., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş. (2011). Mikrodalga Destekli Vakum Kurutma Tekniği ve Gıdaların Kurutulmasında Kullanımı. *Akademik Gıda*, 9(1), 40-48. (Kontrol No:111163)