

Atf İçin: Yıldırım-Yalçın, M. (2024). Kırmızı Lahana Ekstraktının Kitosan-Nişasta Filmlerin Karakteristik Özellikleri Üzerine Etkisi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 732-742.

To Cite: Yıldırım-Yalçın, M. (2024). Effect of Red Cabbage Extract on Characteristic Properties of Chitosan-Starch Films. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 732-742.

Kırmızı Lahana Ekstraktının Kitosan-Nişasta Filmlerin Karakteristik Özellikleri Üzerine Etkisi

Meral YILDIRIM-YALÇIN

Öne Çıkanlar:

- Kitosan-nişasta film kırmızı lahana ekstraktı ile zenginleştirilmiştir
- Ekstrakt ilavesi filmlerin bazı özelliklerini değiştirmiştir
- Farklı pH'da renk değişimi sağlayan antosiyanince zengin filmler üretilmiştir

ÖZET:

Bu çalışmada, kırmızı lahana ekstraktı (hacimce %5, 10 ve 15 oranlarında) eklenmiş kitosan ve nişasta filmler hazırlanarak filmlerin kalınlık, yoğunluk, suda çözünürlük ve şişme gibi fiziksel özellikleri, su buharı geçirgenliği, opaklık ve mekanik (kopma mukavemeti ve kopma anındaki maksimum uzama) özellikleri karakterize edilmiştir. Ayrıca filmlerin toplam fenolik madde ve monomerik antosiyanin içerikleri ve farklı pH'larda 48 saat boyunca fenolik salımları incelenmiştir. Kırmızı lahana ekstrakt miktarının artmasıyla filmlerin kalınlık ve suda çözünürlük değerleri artarken, suda şişme değerleri azalmıştır ($p<0.05$). Su buharı geçirgenlik özellikleri ekstrakt ilavesinden etkilenmemiştir ($p>0.05$). Ekstrakt miktarının artmasıyla daha opak filmler elde edilmiştir ($p<0.05$). Kopma anındaki maksimum uzama miktarı %10-15 ekstrakt içeren filmlerde azalırken ($p<0.05$) kopma mukavemetinde değişiklik gözlenmemiştir ($p>0.05$). Ekstrakt miktarı %10-15 olan filmlerde asidik ortamda fenolik madde salımı olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler:

- Kitosan
- Mısır nişastası
- Kırmızı lahana ekstraktı
- Yenilebilir film

Effect of Red Cabbage Extract on Characteristic Properties of Chitosan-Starch Films

Highlights:

- Chitosan-starch film is enriched with red cabbage extract
- Extract addition changed some of the properties of the films
- Anthocyanin-rich films produced that provide color change at different pH

ABSTRACT:

In this study, red cabbage extract (5, 10 and 15% v/v) added chitosan and starch films were prepared and the physical properties of the films such as thickness, density, water solubility and swelling, water vapor permeability, opacity and mechanical (tensile strength and maximum elongation at break) properties were characterized. In addition, total phenolic and monomeric anthocyanin contents of the films and phenolic releases at different pH for 48 hours were investigated. With the increase in the amount of red cabbage extract, the thickness and water solubility values of the films increased, while the swelling values decreased ($p<0.05$). Water vapor permeability properties were not affected by the addition of extract ($p>0.05$). More opaque films were obtained by increasing the amount of extract ($p<0.05$). While the maximum elongation at break decreased in films containing 10-15% extract ($p<0.05$), no change was observed in tensile strength ($p>0.05$). It was observed that there was phenolic release in the films with 10-15% extract in the acidic environment.

Keywords:

- Chitosan
- Maize starch
- Red cabbage extract
- Edible film

Meral YILDIRIM-YALÇIN ([Orcid ID: 0000-0002-5885-8849](https://orcid.org/0000-0002-5885-8849)), İstanbul Aydın Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Meral YILDIRIM-YALÇIN, e-mail: meralyildirimyalcin@aydin.edu.tr

GİRİŞ

Ambalaj, gıdayı bir bariyer gibi sararak kimyasal, biyolojik ve fiziksel etkilere karşı korumaktadır. Böylece gıdanın taşıma ve depolama süreçleri sırasında kalitesini ve güvenliğini koruyarak raf ömrünün uzamasını sağlamaktadır (Khalid ve Arif, 2022). Gıda ambalajları ayrıca müşteriye gıda hakkında bilgiler vererek gıdanın tanıtılmasına ve pazarlamasına yardımcı olmaktadır. Petrol esaslı plastik malzemeler çok çeşitli şekillerde üretilebilmeleri ve sahip oldukları hafiflik, mekanik dayanım, bariyer ve ısı yapışma gibi üstün özellikleri ile gıda ambalajı olarak sıklıkla tercih edilmektedir (Kumar ve ark., 2020). Ancak günümüzde plastik atık miktarının artmasıyla ortaya çıkan çevresel problemler, biyolojik polimerlerden biyobozunur ambalaj malzemeleri üretilmesine olan ilgiyi arttırmaktadır (Haghighi ve ark., 2020).

Yenilenebilen kaynaklardan üretilen biyobozunur polimerler; tarımsal biyopolimerler, kimyasal sentezle elde edilen biyomonomer polilaktik asit ve mikrobiyal biyopolimerler kullanılarak elde edilirler. Çeşitli polisakkaritler, proteinler, yağlar ve türevleri biyobozunur ve yenilebilir ambalaj malzemesi üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır (Haghighi ve ark., 2020). Nişasta film oluşturma özelliğine sahip, ucuz ve çeşitli kaynaklardan elde edilen bir biyopolimerdir. Nişasta, film oluşturulması sırasında su ile karıştırılarak ısıtılır ve jelatinize olması sağlanır. Nişasta filmlere bir plastikleştirici (genellikle gliserol, sorbitol gibi polioller) eklenerek filmlerin kırılması ve çatlaması önlenmiş olur. Nişasta filmler biyobozunur, yenilebilir, esnek ve şeffaf özelliktedir. Ancak bariyer ve mekanik özelliklerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Lauer ve Smith, 2020; Talón ve ark., 2017a). Film üretiminde nişastanın güçsüz özelliklerinin geliştirilmesi için kitosan gibi başka biyopolimerler ile birlikte kullanılmaktadır (Talón ve ark., 2017a). Kitosan kabuklu deniz hayvanlarının kabuklarından ve deniz atıklarından elde edilen biyoyumlu ve biyobozunur özellikte bir biyopolimerdir. Ayrıca toksik değildir, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Mujtaba ve ark., 2019). Kitosan filmlerin mekanik özellikleri iyidir ancak su buharı geçirgenlikleri yüksektir (Talón ve ark., 2017a).

Biyobozunur filmlere çeşitli maddelerin ilavesi ile yeni özellikler kazandırılmaktadır. Üretilen aktif filmler kaplandıkları gıdanın kalitesini ve raf ömrünü olumlu etkilemektedir. Örneğin; gıdalardaki nem kaybının, renk ve tekstür kayıplarının, mikrobiyal bozulmanın azalması, oksidasyonun engellenmesi ve duyu özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla çeşitli bitkisel ekstraktlar, esansiyel yağlar, organik asitler, bakteriyosinler ve nanomalzemeler ilave edilmektedir (Kontominas, 2020). Ayrıca antosiyanince zengin ekstraktlar filmlere akıllı ambalaj özelliği kazandırmaktadır. Antosiyaninler, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile filmde kullanıldıklarında kaplandıkları gıdanın raf ömrünü uzatıcı etki göstermektedir. Ayrıca antosiyanin içeren filmler pH değişimlerine bağlı olarak renk değişimi sağlamak ve kaplandığı gıdanın tazeliği veya durumu ile ilgili tüketiciye bilgi vererek akıllı ambalaj görevi yapmaktadır (Yong ve Liu, 2020). Gıdaların bozulması sırasında pH değişiklikleri olmaktadır, bu nedenle pH değişimine duyarlı ambalaj malzemelerinin geliştirilmesi oldukça önemlidir (Bilgiç ve ark., 2019). Son yıllarda maviyemiş (Luchese ve ark., 2018), patlıcan (Bilgiç ve ark., 2019), hibiskus (Zhang ve ark., 2019), mor tatlı patates (Jiang ve ark., 2020), kırmızı dikenli armut (Halloub ve ark., 2023) gibi farklı bitkilerden elde edilen antosiyanince zengin ekstraktlar kullanılarak aktif ve akıllı ambalajlar geliştirilmektedir.

Kırmızı lahana (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* F. *rubra*) Akdeniz bölgesine özgü severek tüketilen kışlık bir sebzedir. Kırmızı lahana antosiyaninler başta olmak üzere pek çok fenolik bileşik içerir. Besin içeriği nedeniyle tüketilmesi birçok kanser türü ve kalp rahatsızlıklarına karşı önleyici etki göstermektedir (Izzo ve ark., 2020; Maltaş ve ark., 2017). Bu özellikleri ile kırmızı lahana ekstraktı, biyopolimer gıda ambalajlarında kullanıma oldukça uygundur. Bu çalışmada, nişasta ve kitosan

kullanılarak üretilen filme farklı oranlarda kırmızı lahana ekstraktı ilave edilerek yeni bir aktif ve akıllı ambalaj geliştirilmesi amaçlanmıştır. Literatürde özellikle ekstrakt ilave edilerek çeşitli formülasyonlarda üretilen filmlerin fenolik salımı konusunda az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, üretilen filmlerin fiziksel, mekanik, su buharı geçirgenlik ve optik özellikleri, toplam fenolik madde ve antosiyanin miktarları ve ayrıca fenolik salım özelliklerinin karşılaştırılması yapılarak literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Film yapımında yüksek molekül ağırlıklı kitosan, glasiyel asetik asit, gliserol çözeltisi (%85-88, (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya)) ve kimyasal analizlerde kullanılan Folin Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat, potasyum klorür ve sodyum asetat (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Almanya) ve gallik asit (Isolab, Almanya), analitik saflıkta kimyasal firmalarından temin edilmiştir. Mısır nişastası ve kırmızı lahana (Kepez, Antalya’da yetiştirilen) İstanbul’daki bir marketten temin edilmiştir.

Kırmızı Lahana Ekstraktının Hazırlanması

Kırmızı lahana örnekleri laboratuvara getirildikten sonra kullanılıncaya kadar 4 °C’de saklanmıştır. Lahana yaprakları ayrılarak bir laboratuvar blenderında küçük parçacıklar halinde öğütülmüştür. Öğütülmüş lahana yaprakları (30 g) 100 mL etanol/distile su (50/50, h/h) çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışım ağzı kapalı şekilde ultrasonik su banyosunda (RK510, Bandelin Sonorex, Almanya) 30 dk süresince ekstrakte edilmiştir. Süre sonunda karışım filtre edildikten sonra rotary evaporatörde buharlaştırılarak etanolü uzaklaştırılmıştır ve elde edilen sulu ekstrakt film çözeltisine katılmak üzere ayrılmıştır. Ekstrakt film çözeltisi hazırlanmadan hemen önce taze olarak elde edilmiştir.

Filmlerin Hazırlanması

Filmler dökme ve solvent evaporasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Kitosan çözeltisi (%2, a/h) %1 (h/h) asetik asit çözeltisinde 24 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılarak hazırlanmıştır. Süre sonunda kitosan miktarının ağırlıkça %20’si kadar gliserol eklenerek mekanik karıştırıcı (IKA RW 20, Almanya) ile 400 rpm’de 15 dk süre ile karıştırılmıştır. Mısır nişastası (%2, a/h) su ile karıştırılarak 85 °C’de su banyosunda 30 dk boyunca mekanik karıştırıcı ile karıştırılarak jelatinize edilmiştir. Oda sıcaklığında soğutulan nişasta çözeltisine nişastanın ağırlıkça %20’si kadar gliserol ilave edilerek 400 rpm’de 15 dk karıştırılmıştır (Talón ve ark., 2017a). Kontrol film (K) için hazırlanan kitosan ve nişasta çözeltilerinden eşit hacimlerde karıştırılmıştır. Ekstrakt içeren filmlerde ise sıvı formdaki ekstrakt film çözeltisinin hacimce %5, %10 ve %15’i (E-%5, E-%10, E-%15) olacak şekilde eklenmiştir. Ekstrakt ile film çözeltisine ilave edilen su miktarı kadar nişasta çözeltisi hazırlama aşamasında daha az su kullanılmıştır. Tüm karışım 3 dk 10.000 rpm’de karıştırılarak homojenize edilmiştir. Çözelti içerisindeki gazın giderilmesi (degassing) için ultrases su banyosunda 15 dk bekletilmiştir ve 140 mm çapında ağız açıklığına sahip polistiren petrilere 22 mL dökülmüştür. Film çözeltileri 30 °C’de fansız etüvde 2 gün kurutulmuştur. Kurutulan filmler 4 gün boyunca doymuş Mg(NO₃)₂ içeren desikatörde (%55 bağıl nem) 25 °C’de saklanmıştır.

Filmlerin Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi

Filmlerin kalınlığı farklı petrilere alınan örneklerin farklı noktalarından ölçüm alınmasıyla bulunmuştur. Kalınlık ölçümleri 0.001 mm hassasiyete sahip bir mikrometre (3109-25A, Insize, Almanya) ile yapılmıştır. Filmlerin yoğunluk değerleri, yaklaşık 40 mm x 40 mm boyutlarında kesilen kare film örneklerinin ağırlığının, her boyutunun üç farklı noktadan ölçülüp hesaplanan hacmine bölünmesi ile hesaplanmıştır (g/cm³).

Yaklaşık 20 mm çapında kesilen yuvarlak şekilli film örnekleri suda çözünürlük analizi öncesinde 80 °C’de vakum etüvde (EV018, Nüve, Türkiye) kurutulmuş ilk ağırlık ölçümü alınmıştır. Örnekler oda sıcaklığında 50 mL distile su içerisinde 24 saat boyunca sürekli olarak çalkalanarak (SSL1, Stuart, UK) bekletilmiştir. Süre sonunda suda çözünmeyen kısım 80 °C’de vakum etüvde kurutulmuş ağırlık ölçümü ile bulunmuştur. İlk ağırlıktan suda çözünmeyen kısmın çıkarılması ile suda çözünen film miktarı hesaplanmıştır. Suda çözünen film miktarının ilk ağırlığa oranının yüzdesi ise suda çözünürlük oranını vermektedir (Kurtfaki ve Yildirim-Yalcin, 2023).

Suda şişme analizi için ise ilk ağırlığı alınan film örnekleri oda sıcaklığındaki 50 mL suda 30 dk bekletilmiştir. Sudan çıkarılan film örneklerinin yüzeyindeki fazla su filtre kağıdı yardımıyla alınarak son ağırlığı alınmıştır. Suda şişme oranı filmlerin aldığı su miktarının filmlerin ağırlığına bölünmesiyle hesaplanmıştır (Cao ve ark., 2007).

Filmlerin Su Buharı Geçirgenliğinin Belirlenmesi

Su buharı geçirgenliği ASTM E96/E96M (ASTM, 2015a) standart su metodunun modifiye versiyonuna göre yapılmıştır (McHugh ve ark., 1993). Su buharı geçirgenliği ölçümü yapmak amacıyla filmlerden dairesel örnekler kesilmiştir. Analizlerde dairesel bir ağız açıklığına sahip alüminyum test kaplarına 20 mL distile su konularak, kabın su seviyesi ile filmin yerleştirileceği yüzey arasındaki mesafe ölçülmüştür. Filmlerden kesilen örneklerin kalınlık ölçümleri alınarak alüminyum kaplara bir O-ring üzerine sabitlenmiş ve kapların kapağı simetrik yerleşmiş vidalar ile kapatılmıştır. İçerisine su konulan ve ağzına film yerleştirilen kapların ilk ağırlığı tartılarak 25 °C’de doygun Mg(NO₃)₂ çözeltisi içeren 53 ± 2 bağıl nemdeki desikatöre yerleştirilmiştir. Test kaplarının 8 saat süresince her saat ağırlık kayıpları gravimetrik olarak ölçülmüştür. Filmlerin su buharı geçirgenlik oranı zamana karşı ağırlık kaybı grafiğinin eğiminin film yüzey alanına bölünmesi ile bulunmuştur. Su buharı geçirgenliği (gmm/m²hkPa), hesaplanan geçirgenlik oranının film kalınlığı ile çarpılması ve düzeltilmiş kısmi buhar basınçları kullanılarak hesaplanan kısmi buhar basıncı farkına bölünmesi ile hesaplanmıştır.

Filmlerin Optik Özelliklerinin Belirlenmesi

Filmlerin şeffaflık değeri 560 nm’de UV-Vis spektrofotometrede (T60UV, PG instruments, Birleşik Krallık) %T ölçümü yapılarak belirlenmiştir (D1746, ASTM, 2015). Ölçümde spektrofotometre kuvvetlerine yerleştirilen dikdörtgen şeklinde kesilmiş film örnekleri (10 x 40 mm) kullanılmıştır. Filmlerin opaklık değerleri ise 600 nm’de alınan absorbans değerinin filmlerin kalınlığına bölünmesi ile hesaplanmıştır (AU/mm) (Park ve Zhao, 2004).

Filmlerin Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi

Kopma mukavemeti (N/mm²) ve kopma anındaki maksimum uzama (%) değerleri ASTM D-882 (ASTM, 2012) standardına uygun olarak ölçülmüştür. Analizde dikdörtgen şeklinde kesilen (15 mm x 70 mm) film örnekleri çekme testi cihazının (LAB3-2512A, Mesdan Lab, İtalya) birbirlerine 40 mm mesafede bulunan çenelerine tutturulmuştur. Analizlerde 100 N yük hücresi ve 25 mm/dk hız kullanılmıştır.

Filmlerin Toplam Fenolik ve Monomerik Antosiyanin Tayini

Yaklaşık 0.3 g film örnekleri küçük parçalara kesilerek 10 mL %80’lik etanol çözeltisi ile deney tüplerinde karıştırılmıştır. Tüpler sürekli çalkalanarak 24 saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta ekstrakte edilmiştir. Sonrasında yarım saat süre ile ultrases su banyosunda tutulmuşlardır. Hazırlanan ekstraktlar filtre edilerek film parçalarından ayrılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı için Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır (Marquez ve ark., 2017). Deney tüpüne aktarılan ekstrakt üzerine 200 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 2 mL distile su eklenerek Vortex ile karıştırılmıştır.

Tüpler 3 dk inkübe edildikten sonra 1 mL %7.5 (a/h) sodyum karbonat çözeltisi eklenmiş ve karışım 25 °C'de karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin 765 nm'de UV-Vis spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi Gallik asit ile oluşturularak sonuçlar 100 g filmde mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplanmıştır.

Toplam monomerik antosiyanin tayininde ise aynı ekstraktlar kullanılarak pH-diferansiyel metot uygulanmıştır (Ahmadiani ve ark., 2014). Farklı pH'lardaki tampon çözeltiler (0.025 M potasyum klorür: pH 1 ve 0.4 M sodyum asetat: pH 4.5) ile ekstraktlar 1:10 oranında seyreltilerek 15 dk karanlıkta dengelenmiştir. Hazırlanan tüm dilüsyonların absorbans değerleri UV-Vis spektrofotometrede 520 ve 700 nm'de okunmuştur. Filmin (100 g) içerdiği toplam monomerik antosiyanin miktarı mg cyanidin-3-glucoside (Cy3G) cinsinden Eşitlik 1 ve Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Monomerik antosiyanin} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH 1} - (A_{520} - A_{700})_{pH 4.5} \quad (2)$$

Formüldeki MW Cy3G için moleküler ağırlığı (449.2 g/mol); DF seyreltme faktörünü; ϵ molarabsorpsiyon katsayısını (26900 l/Mcm); l ise küvetin ışık yolu uzunluğu olan 1 cm'yi temsil etmektedir.

Filmlerden Fenolik Madde Salımı

Film örneklerinden 30 mm x 30 mm boyutlarında kesilen parçalar farklı gıda matrislerindeki fenolik salımını gözlemlemek amacıyla üç farklı pH'daki çözelti içerisine konulmuştur. Bu amaçla distile su (pH 5.48), %3 (h/h) asetik asit (pH 2.67) ve %95 (h/h) etanol (pH 7.37) kullanılmıştır. Filmler deney tüplerinde farklı pH'daki sıvılar içerisinde 25 ± 2 °C'de bekletilmiştir ve 1, 3, 24 ve 48 saat sonunda örnek alınarak ne kadar fenolik geçişi olduğu toplam fenolik madde analizi belirlenmiştir. Süre sonlarında tüplerden 1 mL örnek alınmıştır ve aynı miktar taze kimyasal tüplere eklenmiştir.

İstatistiksel Analiz

Analizler en az 3 paralel olacak şekilde yapılmıştır ve sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 19 (IBM SPSS 19, SPSS Inc., Chicago, ABD) programı ile Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve post-hoc Duncan çok yönlü karşılaştırma testi uygulanmıştır. Anlamlılık düzeyi olarak $p=0.05$ seçilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Filmlerin Fiziksel Özellikleri ve Su Buharı Geçirgenliği

Filmlerin kalınlık, yoğunluk, suda çözünürlük ve şişme oranı analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Kalınlık ölçümlerine göre yüksek oranda ilave edilen kırmızı lahana ekstraktı (E-%15) filmlerin kalınlığını anlamlı derecede arttırmıştır ($p<0.05$). Diğer oranlarda ilave edilen ekstrakt kontrole göre kalınlık değerlerinde anlamlı bir farka neden olmamıştır ($p>0.05$). İlave edilen ekstrakt ile filmin artan katı madde içeriği kalınlığın artmasına neden olmuştur (da Rosa ve ark., 2020). Filmlerin yoğunluk değerleri 1.06-1.24 g/cm³ aralığında değişmektedir. Ekstrakt ilavesinin yoğunluk değerleri üzerine anlamlı bir etkisi olmamıştır ($p>0.05$). Suda çözünürlük değerleri %17.61-%57.93 aralığında bulunmuştur. Az miktarda ilave edilen ekstraktın (%5) çözünürlüğü etkilemediği görülmektedir ($p>0.05$). Daha yüksek oranlarda ilave edilen ekstrakt (%10 ve %15) ise çözünürlük değerinin giderek artmasına neden olmuştur. Benzer şekilde Wang ve ark. (2013) kitosan filme çay polifenollerinin eklenmesinin filmlerin suda çözünürlüğünü arttırdığını rapor etmiştir.

Filmlerin şişme oranı (g alınan su/g film) polimer zincirlerindeki molekül içi bağlanmayla ilgilidir ve düşük şişme oranı su bariyer özelliği ile ilişkilendirilebilir (Nguyen ve ark., 2020). Çizelge 1'de

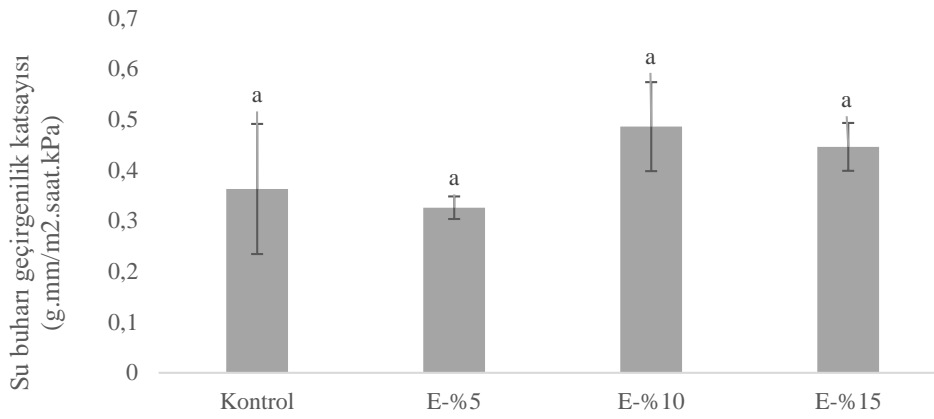
filmlere ekstrakt ilave edilmesiyle suda şişme oranlarında azalma olduğu görülmektedir. Yüksek oranda ilave edilen ekstrakt ile en düşük suda şişme değeri elde edilmiştir (0.50 g/g).

Çizelge 1. Filmlerin fiziksel özellikleri

Film	Kalınlık (μm)	Yoğunluk (g/cm^3)	Suda çözünürlük (%)	Şişme oranı (g/g)
Kontrol	27.39 ^{bc} \pm 6.73	1.06 ^a \pm 0.06	26.05 ^c \pm 1.46	1.26 ^a \pm 0.06
E-%5	26.81 ^c \pm 7.17	1.15 ^a \pm 0.11	17.61 ^c \pm 2.72	0.88 ^b \pm 0.02
E-%10	29.72 ^{ab} \pm 7.05	1.23 ^a \pm 0.07	40.40 ^b \pm 7.14	0.89 ^b \pm 0.01
E-%15	30.77 ^a \pm 8.04	1.24 ^a \pm 0.11	57.93 ^a \pm 0.45	0.50 ^c \pm 0.01

*Aynı sütunda yer alan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0.05)

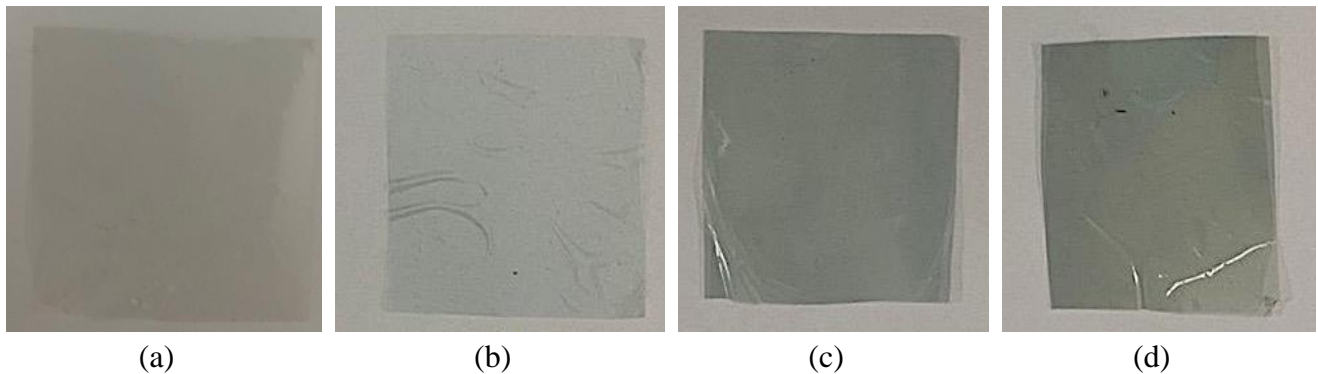
Öte yandan filmlerin su buharı geçirgenlik değerleri incelendiğinde (Şekil 1) ekstrakt ilavesi ile anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmektedir (p>0.05).



Şekil 1. Filmlerin su buharı geçirgenlik katsayısı değerleri

Filmlerin Optik Özellikleri

Üretilen filmlerin beyaz zemin üzerindeki fotoğrafları Şekil 2’de verilmiştir. Filmlerin ekstrakt içeriğine göre karakteristik renklerinde ve optik geçirgenliklerinde farklılıklar olduğu görülmektedir.



Şekil 2. Filmlerin fotoğrafları (a) Kontrol, (b) E-%5, (c) E-%10, (d) E-%15

Çizelge 2’de filmlerin UV-Vis spektrofotometresinde ölçülen şeffaflık (%T) ve opaklık (AU/mm) değerlerine göre yüksek oranda ekstrakt (%15) kullanılmasıyla şeffaflığın azaldığı ve opaklığın arttığı görülmektedir. %10 ekstrakt içeren örneklerin optik özelliklerinde ise kontrol filme göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (p>0.05). Kitosan filmlere yeşil çay ekstraktının eklenmesiyle konsantrasyona bağlı olarak opaklık değerinin arttığı benzer şekilde önceki bir çalışmada belirtilmiştir (Siripatrawan vve Harte, 2010).

Çizelge 2. Filmlerin optik özellikleri

Film	Şeffaflık (%T)	Opaklık (AU/mm)
Kontrol	87.29 ^b ± 0.90	2.28 ^b ± 0.00
E-%5	88.01 ^a ± 1.20	2.79 ^{ab} ± 0.43
E-%10	83.00 ^b ± 0.06	2.95 ^{ab} ± 0.25
E-%15	80.14 ^c ± 0.12	3.60 ^a ± 0.44

*Aynı sütunda yer alan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0.05)

Filmlerin Mekanik Özellikleri

Mekanik özellikler filmlerin fiziksel dayanımı ile ilgili bilgi verdikleri için oldukça önemlidir. Filmlere ait kopma mukavemeti (N/mm²) ve kopma anındaki maksimum uzama (%) değerleri Çizelge 3'de verilmiştir. Kontrol film için kopma mukavemeti 11.60 N/mm² ve kopma anındaki maksimum uzama %27.75 olarak bulunmuştur. Meng ve ark. (2020) kitosan ve patates nişastası ile hazırlanan filmler için benzer sonuçlar rapor etmiştir (kopma mukavemeti için 19.74 MPa ve maksimum uzama değeri için %16.03). Kopma mukavemeti değerleri ortalama 11.60 ve 12.87 N/mm² aralığında değişmektedir ve filmler arasında anlamlı bir farklılığa sahip değildir. Başka bir ifade ile kırmızı lahana ekstraktının eklenmesi kitosan ve nişasta içeren filmin kopma mukavemeti üzerinde herhangi bir anlamlı etki oluşturmamıştır. Kopma anındaki yüzde maksimum uzama değeri ise %10 ve %15 oranında ekstrakt içeren filmlerde kontrol ve %5 oranında ekstrakt içeren filmlere göre daha düşüktür (p<0.05). Talón ve ark. (2017b) sadece kitosan filmlere kekik ekstraktı ve tannik asit ilavesi ile oluşan kitosan-polifenol etkileşimi sonucunda kopma mukavemetinde artış ve maksimum uzama değerinde düşüş olduğunu belirtmiştir. Kitosan-nişasta karışımı filmlerde ise filmlerin maksimum uzama değerinde düşüş meydana gelirken kopma mukavemeti değişmemiştir. Bu durum nişastanın kitosan-polifenol etkileşimini kısıtladığı şeklinde yorumlanmıştır.

Çizelge 3. Filmlerin mekanik özellikleri

Film	Kopma mukavemeti (N/mm ²)	Kopma anındaki maksimum uzama (%)
Kontrol	11.60 ^a ± 0.51	27.75 ^a ± 4.68
E-%5	12.87 ^a ± 0.50	24.19 ^a ± 4.17
E-%10	12.46 ^a ± 0.77	12.00 ^b ± 1.30
E-%15	12.80 ^a ± 1.42	14.63 ^b ± 3.71

*Aynı sütunda yer alan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0.05)

Filmlerin Toplam Fenolik, Antosiyanin İçerikleri ve Fenolik Salımı

Filmlerin toplam fenolik madde miktarı ortalama olarak 6.35 ve 47.94 mg GAE/100 g film aralığında bulunmuştur (Çizelge 4). Filmlerde kullanılan kırmızı lahana ekstrakt miktarı arttıkça filmlerin toplam fenolik madde miktarı da istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmaktadır (p<0.05). Toplam monomerik antosiyanin miktarı ise ortalama 3.82 ve 10.21 mg Cy3G/100 g film aralığında bulunmuştur (Çizelge 4). Ekstrakt miktarı ile toplam antosiyanin miktarı artarken %10 ve %15 ekstrakt içeren filmler arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p>0.05).

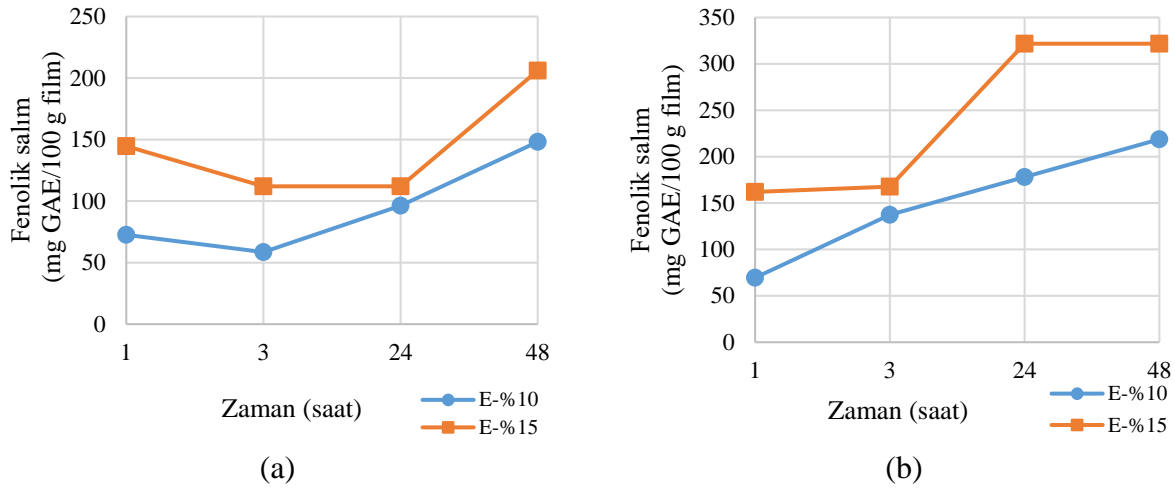
Filmlerden kesilen örnekler farklı pH'lardaki distile su (pH 5.48), %3 asetik asit (pH 2.67) ve %95 etanol (pH 7.37) çözeltileri içerisinde belli sürelerde bekletilerek filmde bulunan fenolik madde geçişi analiz edilmiştir. Kontrol ve %5 ekstrakt içeren filmin bulunduğu tüplerden alınan sıvı örneklerde spektrofotometrik olarak yapılan toplam fenolik madde analizinde fenolik madde tespit edilememiştir. Ayrıca distile su ve asetik asite göre daha yüksek pH'ya sahip %95 etanol çözeltisi içerisinde bekletilen filmlerden de 48 saat süresince fenolik geçişi tespit edilememiştir. %10 ve %15 ekstrakt içeren filmlerden distile su ve %3 asetik asit çözeltilerine geçen fenolik madde miktarlarının zamana bağlı olarak salımı Şekil 3'de görülmektedir. Şekil 3'e göre zamanla fenolik madde geçişinde artış olduğu görülmektedir. Asetik asit çözeltisindeki filmlerden distile su içerisindeki filmlere oranla daha yüksek

miktarlarda fenolik geçişi olmuştur. Kitosan düşük pH'larda daha fazla çözündüğü için asidik ortamdaki filmlerden fenolik madde geçişinin daha fazla olduğu görülmüştür (Gomaa ve ark., 2018; Nguyen ve ark., 2022).

Çizelge 4. Filmlerin toplam fenolik ve antosiyanin miktarı

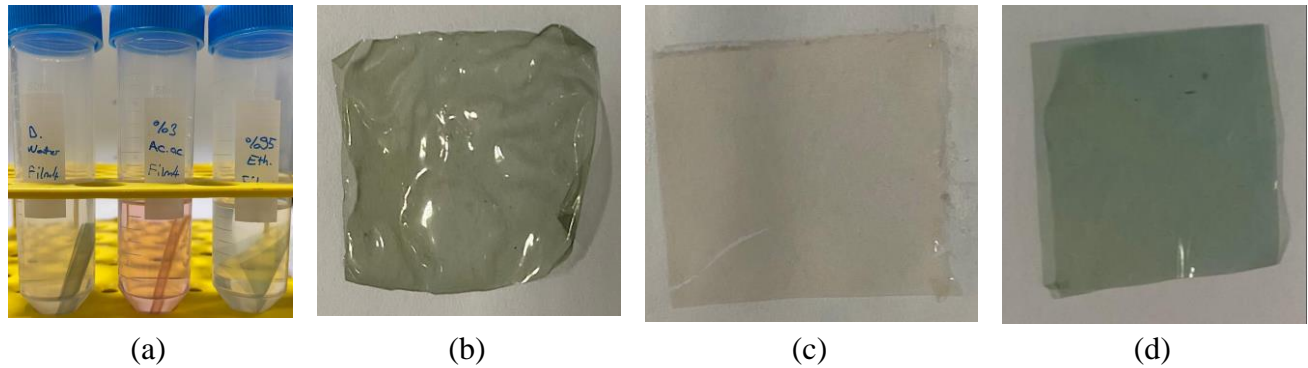
Film	Toplam fenolik madde (mg GAE/100 g film)	Toplam monomerik antosiyanin (mg Cy3G/100 g film)
Kontrol	6.35 ^d ± 0.30	0
E-%5	27.22 ^c ± 1.97	3.82 ^b ± 0.86
E-%10	40.39 ^b ± 1.26	10.21 ^a ± 1.43
E-%15	47.94 ^a ± 2.42	9.21 ^a ± 1.54

*Aynı sütunda yer alan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0.05).



Şekil 3. Ekstrakt içeren E-%10 ve E-%15 filmlerin (a) distile suda ve (b) %3 asetik asit içerisinde fenolik salım miktarları

Şekil 4a'da yüksek oranda ekstrakt içeren E-%15 filminin farklı pH'lara daldırılması sonucunda meydana gelen renk değişimi görülmektedir. Şekil 4b-d'de ise fenolik salım testleri sırasında 48 saat distile su, asetik asit ve etanol çözeltilerinde bekletilmiş olan E-%15 filmin çıkarılıp kurutulması sonrasındaki renk farklılıkları görülmektedir. Üretilen filmler antosiyanin içerikleri ile farklı pH tamponlarında renk değişimi oluşturmaktadır. Antosiyanin bileşikler farklı pH değerlerindeki yapısal farklılıklarından dolayı renk değişimi gösterirler (Gutiérrez ve ark., 2017). Ekstrakt içeren filmlerde daha düşük pH değerlerinde kırmızımsı renkler oluşurken daha yüksek pH değerlerinde mavimsi renkler oluştuğu görülmüştür. Bu durum, kırmızı lahana ekstraktı ilave edilerek üretilen kitosan ve nişasta filmin pH-duyarlı akıllı ambalajlar geliştirilmesinde kullanım potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4. (a) E-%15 film farklı pH daki çözeltilerin içindeki renk değişimleri, 48 saat sonunda (b) distile su, (c) %3 asetik asit, (d) %95 etanol içerisinde çıkarılan E-%15 filmin görüntüsü

SONUÇ

Bu çalışmada kırmızı lahanadan elde edilen ekstraktın kitosan ve mısır nişastası ile üretilen film matrisine eklenmesi çalışılmıştır. Kırmızı lahanaya ekstraktı farklı oranlarda (hacimce %5, 10 ve 15) film çözeltisine ilave edilmiştir. Yüksek oranda ekstrakt içeren filmlerin kalınlık değerlerinde artış olduğu görülmüştür. Ayrıca yüksek ekstrakt içeriğinde suda çözünürlük değerleri artarken yoğunluk, su buharı geçirgenliği değerleri değişmemiş ve suda şişme değerleri azalmıştır. Ekstrakt miktarına bağlı olarak filmlerin şeffaflığında azalma ve opaklığında artma olduğu görülmüştür. Filmlerin mekanik özelliklerinden kopma mukavemetinde ekstrakt içeriğine bağlı bir değişim görülmemiştir. Kopma anındaki maksimum uzama değerleri ise %10 ve %15 ekstrakt içeren filmler için azaldığı görülmüştür. Ayrıca filmlerden 48 saat boyunca farklı pH'daki çözeltelerde fenolik madde geçişi incelenmiştir. Kontrol ve %5 ekstrakt içeren filmlerde fenolik madde geçişi gözlenmemiştir. Etanol çözeltisinde (pH 7.37) bekletilen filmlerden de fenolik madde geçişi gözlenmemiştir. Ekstrakt içeriği %10 ve %15 olan filmler için asidik ortamda (pH 2.67) 48 saat boyunca fenolik madde geçişi artmıştır. Kırmızı lahanaya ekstraktı, içeriğindeki antosiyanin bileşikler ile filmlerin farklı pH değerlerinde renk değişimi göstermesine neden olmuştur. Bu bilgiler, kırmızı lahanaya ekstraktının, renk değişimi sağlayarak pH değişimleri hakkında bilgi veren akıllı ambalajlar üretmek için kitosan-nişasta filmlerine eklenme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu tür filmler et, tavuk ve deniz ürünleri gibi hassas gıdaların depolama boyunca tazeliği hakkında bilgi almak amacıyla kullanılabilir. Ancak her gıdanın bozulma mekanizması farklı olduğu için geliştirilen filmlerin farklı gıda denemelerine ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Ahmadiani, N., Robbins, R. J., Collins, T. M., & Giusti, M. M. (2014). Anthocyanins contents, profiles, and color characteristics of red cabbage extracts from different cultivars and maturity stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(30), 7524-7531.
- ASTM (2012). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting - D882-12. West Conshohocken, PA: ASTM, Annual Book of American Standard Testing Methods.
- ASTM (2015). Standard test method for transparency of plastic sheeting - D1746-15. West Conshohocken, PA: ASTM, Annual Book of American Standard Testing Methods.
- ASTM (2015a). Standard test method for water vapor transmission of materials - E96/E96M- 15. West Conshohocken, PA: ASTM, Annual Book of American Standard Testing Methods.
- Bilgiç, S., Söğüt, E., & Seydim, A. C. (2019). Chitosan and starch based intelligent films with anthocyanins from eggplant to monitor pH variations. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7, 61-66.
- Cao, N., Fu, Y., & He, J. (2007). Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. *Food Hydrocolloids*, 21(7), 1153-1162.
- Gomaa, M., Hifney, A. F., Fawzy, M. A., & Abdel-Gawad, K. M. (2018). Use of seaweed and filamentous fungus derived polysaccharides in the development of alginate-chitosan edible films containing fucoidan: Study of moisture sorption, polyphenol release and antioxidant properties. *Food Hydrocolloids*, 82, 239-247.
- Gutiérrez, T. J., Ponce, A. G., & Alvarez, V. A. (2017). Nano-clays from natural and modified montmorillonite with and without added blueberry extract for active and intelligent food nanopackaging materials. *Materials Chemistry and Physics*, 194, 283-292.

- Haghighi, H., Licciardello, F., Fava, P., Siesler, H. W., & Pulvirenti, A. (2020). Recent advances on chitosan-based films for sustainable food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100551.
- Halloub, A., Raji, M., Essabir, H., Nekhlaoui, S., Bensalah, M. O., & Bouhfid, R. (2023). Stable smart packaging betalain-based from red prickly pear covalently linked into cellulose/alginate blend films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 234, 123764.
- Izzo, L., Rodríguez-Carrasco, Y., Pacifico, S., Castaldo, L., Narváez, A., & Ritieni, A. (2020). Colon bioaccessibility under in vitro gastrointestinal digestion of a red cabbage extract chemically profiled through UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. *Antioxidants*, 9(10), 955.
- Jiang, G., Hou, X., Zeng, X., Zhang, C., Wu, H., Shen, G., ... & Zhang, Z. (2020). Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 359-372.
- Khalid, M. Y., & Arif, Z. U. (2022). Novel biopolymer-based sustainable composites for food packaging applications: A narrative review. *Food Packaging and Shelf Life*, 33, 100892.
- Kontominas, M. G. (2020). Use of alginates as food packaging materials. *Foods*, 9(10), 1440.
- Kumar, S., Mukherjee, A., & Dutta, J. (2020). Chitosan based nanocomposite films and coatings: Emerging antimicrobial food packaging alternatives. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 196-209.
- Kurtfaki, M., & Yildirim-Yalcin, M. (2023). Characterization of *Laurus nobilis* L. leaf essential oil incorporated maize starch and rice protein films. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-9.
- Lauer, M. K., & Smith, R. C. (2020). Recent advances in starch-based films toward food packaging applications: Physicochemical, mechanical, and functional properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 3031-3083.
- Luchese, C. L., Abdalla, V. F., Spada, J. C., & Tessaro, I. C. (2018). Evaluation of blueberry residue incorporated cassava starch film as pH indicator in different simulants and foodstuffs. *Food Hydrocolloids*, 82, 209-218.
- Maltaş, A. Ş., Tavalı, İ. E., Uz, İ., & Kaplangörey, M. (2017). Kırmızı baş lahana (*Brassica oleracea* var. capitata f. rubra) yetiştiriciliğinde vermikompost uygulaması. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 30(2), 155-161.
- Marquez, G. R., Di Pierro, P., Mariniello, L., Esposito, M., Giosafatto, C. V., & Porta, R. (2017). Fresh-cut fruit and vegetable coatings by transglutaminase-crosslinked whey protein/pectin edible films. *LWT*, 75, 124-130.
- McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58(4), 899-903.
- Meng, W., Shi, J., Zhang, X., Lian, H., Wang, Q., & Peng, Y. (2020). Effects of peanut shell and skin extracts on the antioxidant ability, physical and structure properties of starch-chitosan active packaging films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 137-146.
- Mujtaba, M., Morsi, R. E., Kerch, G., Elsabee, M. Z., Kaya, M., Labidi, J., & Khawar, K. M. (2019). Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 889-904.

- Nguyen, T. T., Dao, U. T. T., Bui, Q. P. T., Bach, G. L., Thuc, C. H., & Thuc, H. H. (2020). Enhanced antimicrobial activities and physiochemical properties of edible film based on chitosan incorporated with *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl. leaf extract. *Progress in Organic Coatings*, 140, 105487.
- Nguyen, T. T., Pham, B. T. T., Le, H. N., Bach, L. G., & Thuc, C. H. (2022). Comparative characterization and release study of edible films of chitosan and natural extracts. *Food Packaging and Shelf Life*, 32, 100830.
- Park, S. I., & Zhao, Y. (2004). Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(7), 1933-1939.
- da Rosa, G. S., Vanga, S. K., Garipey, Y., & Raghavan, V. (2020). Development of biodegradable films with improved antioxidant properties based on the addition of carrageenan containing olive leaf extract for food packaging applications. *Journal of Polymers and the Environment*, 28, 123-130.
- Siripatrawan, U., & Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770-775.
- Talón, E., Trifkovic, K. T., Vargas, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2017a). Release of polyphenols from starch-chitosan based films containing thyme extract. *Carbohydrate Polymers*, 175, 122-130.
- Talón, E., Trifkovic, K. T., Nedovic, V. A., Bugarski, B. M., Vargas, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2017b). Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1153-1161.
- 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.
- Yong, H., & Liu, J. (2020). Recent advances in the preparation, physical and functional properties, and applications of anthocyanins-based active and intelligent packaging films. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100550.
- Zhang, J., Zou, X., Zhai, X., Huang, X., Jiang, C., & Holmes, M. (2019). Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness. *Food Chemistry*, 272, 306-312.