T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PROPOLİS YÜKLÜ YENİLEBİLİR EMÜLSİFİYE KİTOSAN FİLM ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE ÇİLEK RAF ÖMRÜNÜN UZATILMASINDA UYGULANMASI

Nisa AKKUZU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ

Haziran, 2024

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PROPOLİS YÜKLÜ YENİLEBİLİR EMÜLSİFİYE KİTOSAN FİLM ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE ÇİLEK RAF ÖMRÜNÜN UZATILMASINDA UYGULANMASI

Nisa AKKUZU tarafından hazırlanan tez çalışması 13.06.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Salih KARASU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Funda KARBANCIOĞLU GÜLER, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Propolis Yüklü Yenilebilir Emülsifiye Kitosan Film Üretimi, Karakterizasyonu ve Çilek Raf Ömrünün Uzatılmasında Uygulanması" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Nisa AKKUZU

İmza

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FYL-2024-6193 numaralı projesi ve TÜBİTAK 2210-A Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı ile desteklenmiştir.



Aileme

TEŞEKKÜR

Başta akademik gelişimime büyük katkıda bulunan danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ'a üzerimdeki tüm emekleri ve bana gösterdiği yakın ilgi için en derin teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, tez çalışmam süresince benden her türlü desteği esirgemeyen Prof. Dr. Funda KARBANCIOĞLU GÜLER, Canan Yağmur KARAKAŞ ve Dilara DEVECİOĞLU hocalarıma sonsuz minnettarlığımı belirtmek isterim.

Tez savunma jürisi hocam Doç. Dr. Salih KARASU'ya katkıları için, bana her zorlukta yardımcı olan Öznur SAROĞLU hocama ve başta canım arkadaşım İlkay YURDAER olmak üzere tüm KMB-116 ekibine bana kazandırdıkları güzel anılar için çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca gösterdikleri fedakarlıklar ve sağladıkları tüm maddi ve manevi destekler için aileme en içten duygularımla teşekkür ederim.

Nisa AKKUZU

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR **v**
SİMGE LİSTESİ **viii**
KISALTMA LİSTESİ **x**
ŞEKİL LİSTESİ **xi**
TABLO LİSTESİ **xii**
ÖZET **xiii**
ABSTRACT **xv**
1 GİRİŞ **1**
1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 2
1.3 Hipotez 3
2 KURAMSAL TEMELLER **4**
2.1 Kitosan Bazlı Filmler 4
2.2 Emülsifiye Filmler 5
2.3 Çilek (*Fragaria ananassa*) 6
2.3.1 Çileklerde *Botrytis cinerea* Enfeksiyonu 7
2.4 Propolis 8
3 MATERYAL VE METOT **10**
3.1 Materyal 10
3.2 Metot 10
3.2.1 Emülsiyonların Hazırlanması 10
3.2.2 Emülsiyon Yüklü Filmlerin Üretilmesi 11
3.2.3 Çileklerin Emülsiyon Yüklü Film Çözeltisi ile Kaplanması 12
3.2.4 Emülsiyonların ve Emülsiyon Yüklü Film Çözeltilerinin Karakterizasyonu 12
3.2.5 Emülsiyon Yüklü Filmlerin Karakterizasyonu 13
3.2.6 Çileklerin Karakterizasyonu 15
3.2.7 İstatistiksel Analizler 17
4 BULGULAR VE TARTIŞMA **18**
4.1 Emülsiyon Yüklü Filmlerin Karakterizasyonu 18
4.2 Emülsiyon Yüklü Filmlerin Karakterizasyonu 23
4.2.1 Filmlerin Kalınlık, Nem Miktarı, Yüzey Morfolojisi ve Mekanik Özellikleri 23

4.2.2 Filmlerin Su Buharı ve Oksijen Geçirgenlikleri 26
4.2.3 Filmlerin Termal Özellikleri ve FTIR Spektrumunun İncelenmesi 28
4.3 Çileklerin Karakterizasyonu 31
4.3.1 Çileklerde Toplam Çözünür Katı Madde (%), Titre Edilebilir Asidite (%), Ağırlık kaybı (%) ve Sertlik 31
4.3.2 Toplam Antosiyanin, Toplam Fenolik, Askorbik Asit Miktarları ve Antioksidan Aktivite 35
4.3.3 Çileklerde *Botrytis cinerea* Gelişimi 38
5 SONUÇ **41**
KAYNAKÇA **42**
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **50**

SİMGE LİSTESİ

a	Ağırlık
ΔP	Basınç Farkı
β	Beta
dk	Dakika
rpm	Dakikada devir sayısı
g	Gram
d	Gün
h	Hacim
$d_{4,3}$	Hacimsel Ağırlıklı Ortalama Partikül Boyutu
HCl	Hidroklorik Asit
a*	Kırmızılık-yeşillik
kg	Kilogram
kV	Kilovolt
L	Litre
MPa	Megapaskal
m	Metre
m^2	Metrekare
µm	Mikrometre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
N	Newton
N	Normalite
L*	Parlaklık
Span	Partikül Boyutu Dağılımı Genişliği
Pa	Paskal
R^2	Regresyon Katsayısı
s	Saniye
°C	Santigrat derece
b*	Sarılık-mavilik
NaOH	Sodyum Hidroksit

SİMGE LİSTESİ

NaCl	Sodyum Klorür
S	Su
a_w	Su aktivitesi
Y	Yağ
g	Yer çekimi ivmesi
%	Yüzde
$d_{3,2}$	Yüzey Alanı Ağırlıklı Ortalama Partikül Boyutu

KISALTMA LİSTESİ

AA	Antioksidan Aktivite
ABTS	2,2′-azinobis (3-ethylbenzothiazolline-6-sulfonic acid)
ANOVA	Varyans Analizi
AsA	Askorbik Asit Miktarı
BE	Boş Emülsiyon
BEF	Boş Emülsiyon Yüklü Film
CFU	Koloni Oluşturabilen Birim
ÇM	Çekme Mukavemeti
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FC	Folin-Ciocalteu
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
MGİ	Miselyal Gelişme İnhibisyonu
MEA	Malt Ekstrakt Agar
PD	Peroksit Değeri
PE	Propolis Emülsiyon
PEF	Propolis Emülsiyon Yüklü Film
SBG	Su Buharı Geçirgenliği
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SGE	Siyanidin-3-glukozit Eşdeğeri
TA	Titre Edilebilir Asitlik
TAM	Toplam Antosiyanin Miktarı
TÇKM	Toplam Çözünür Katı Madde
TE	Trolox Eşdeğeri
TFA	Trifloro Asetik Asit
TFM	Toplam Fenolik Miktarı
U	Uzayabilirlik
UV/VIS	Ultraviyole/ Görünür Işık

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Çileklerde *Botrytis cinerea* enfeksiyonu 7
Şekil 4.1 Emülsiyonların ve film çözeltilerinin partikül boyut dağılımı 18
Şekil 4.2 Film görselleri ve SEM görüntüleri..... 25
Şekil 4.3 Filmlerin oksijen geçirgenliği analizi peroksit değerleri.. 27
Şekil 4.4 Film örneklerinin DSC termogramları 29
Şekil 4.5 BEF, PEF ve film bileşenlerinin FTIR spektrumları..... 30
Şekil 4.6 BEF ve PEF örneklerinin FTIR spektrumları..... 31
Şekil 4.7 Yenilebilir kaplamaların *Botrytis cinerea* gelişimi üzerindeki etkisi (log CFU/g). 40

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1 Örneklerin isimlendirilmesi ve içeriği (%) 11

Tablo 4.1 Emülsiyonların ve emülsiyon yüklü film çözeltilerinin partikül boyutu, toplam fenolik miktarı ve antioksidan aktivitesi 21

Tablo 4.2 Propolis emülsiyonu (PE) ve PE yüklü film (PEF) çözeltisindeki propolis konsantrasyonlarının miselyal gelişme inhibisyonu üzerindeki etkisi (%) 22

Tablo 4.3 Filmlerin kalınlık, nem miktarı (%), su aktivitesi, renk, mekanik özellikler ve su buharı geçirgenliği değerleri. 24

Tablo 4.4 Depolama süresince çileklerin toplam çözünür katı madde (%), titre edilebilir asitlik (%), pH, ağırlık kaybı (%) ve sertlik değerleri. 34

Tablo 4.5 Depolama süresince çileklerin toplam fenolik miktarı ve antioksidan aktivitesi. 36

Tablo 4.6 Depolama süresince çileklerin toplam antosiyanin ve askorbik asit miktarı. 37

ÖZET

Propolis Yüklü Yenilebilir Emülsifiye Kitosan Film Üretimi, Karakterizasyonu ve Çilek Raf Ömrünün Uzatılmasında Uygulanması

Nisa AKKUZU

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ

Yenilebilir filmler, gıda kalitesini korumayı ve raf ömrünü uzatmayı amaçlayarak, geleneksel gıda ambalajlarına çevre dostu bir alternatif sunmaktadır. Yenilebilir filmlerin yapısına eklenen biyoaktif bileşikler, bu filmlere antimikrobiyal ve antioksidan özellikler kazandırmakla birlikte, filmlerin mekanik ve bariyer özelliklerini de geliştirebilmektedir. Bu aktif maddelerden biri olan propolis, fenolik bileşikler açısından zengin bileşimi ile sahip olduğu doğal antioksidan ve antimikrobiyal özellikler sayesinde öne çıkmaktadır. Bu çalışmada, propolis emülsiyonunun (PE) kitosan matrisine eklenmesinin filmler üzerindeki etkileri ve bu filmlerin soğuk depolama koşullarında çileklerin kalitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yenilebilir filmlerin karakterizasyonu, Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) spektrumları, yüzey morfolojisi, kalınlık, renk, termal özellikler, mekanik özellikler ve bariyer özellikleri değerlendirilerek gerçekleştirilmiştir. Soğuk depolama sırasında bu filmlerin çilek kalitesi üzerine etkisinin incelenmesi için, çileklerde ağırlık kaybı (%), sertlik, pH, titre edilebilir asitlik (%), toplam çözünür katı madde (%), toplam fenolik miktarı, toplam antosiyanin miktarı, antioksidan

aktivite ve askorbik asit miktarı ölçülmüştür. Boş emülsiyon yüklü filmlere (BEF) kıyasla, propolis emülsiyon yüklü filmler (PEF) daha yüksek çekme mukavemeti ve uzayabilirlik gibi gelişmiş mekanik özellikler, daha iyi oksijen bariyeri ve antioksidan aktivite sergilemiştir. 4 °C'de 14 günlük depolama süresi boyunca, kaplanmış çileklerde kaplanmamış kontrol çileklerine kıyasla fenolik bileşenler, antosiyaninler ve askorbik asitin daha etkili bir şekilde korunduğu görülmüştür. Ayrıca, PEF kaplı çilekler, depolama süresi boyunca *Botrytis cinerea*'ya karşı önemli ölçüde daha güçlü antifungal aktivite göstermiştir. Bu araştırma, PE yüklü kitosan filmlerinin, özellikle çileklerin raf ömrünü uzatmada ve diğer çabuk bozulabilir meyvelerin muhafazasında önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Yenilebilir kaplama, *B. cinerea*, antifungal aktivite.

ABSTRACT

Emulsion Based Edible Film Containing Propolis Extract to Extend The Shelf-Life of Strawberries

Nisa AKKUZU

Department of Food Engineering

Master of Science

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayse KARADAG

Edible films provide an eco-friendly alternative to conventional food packaging, aiming to preserve food quality and extend shelf life. Incorporating bioactive compounds into these films not only imparts antimicrobial and antioxidant properties but also enhances their mechanical and barrier properties. Propolis, one of these active substances, stands out due to its phenolic compound-rich composition, which naturally imparts strong antioxidant and antimicrobial activities. This study investigated the effects of incorporating propolis emulsion (PE) into a chitosan matrix on film properties and their impact on strawberry quality during cold storage. The characterization of edible films was performed by evaluating Fourier Transform Infrared (FTIR) spectra, surface morphology, thickness, color, thermal properties, mechanical properties, and barrier properties. The impact of these films on strawberry quality during cold storage was assessed by measuring weight loss (%), firmness, pH, titratable acidity (%), total soluble solids (%), total phenolic content, total anthocyanin content, antioxidant activity, and ascorbic acid content. Compared to blank emulsion films (BEF), propolis emulsion films (PEF) exhibited enhanced mechanical properties such as higher tensile strength and extensibility, as well as better oxygen barrier properties and antioxidant activity. During the 14-day storage at 4 °C, strawberries coated with these films showed more effective preservation of phenolic compounds,

antocyanins, and ascorbic acid compared to uncoated control strawberries. Moreover, PEF-coated strawberries demonstrated significantly higher antifungal activity against *Botrytis cinerea* throughout the storage period. This research highlights the promising potential of propolis emulsion-loaded films for preserving perishable fruits, with a particular focus on extending the shelf life of strawberries.

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Yenilebilir filmler ve kaplamalar, gıdaların yüzeyine uygulanan ve ürünün bir parçası olarak veya üründen çıkarıldıktan sonra tüketilebilen ince katmanlardır. Bu tür filmlerin üretiminde biyolojik olarak doğada parçalanabilen ve toksik olmayan polisakkaritler, proteinler ve lipit bazlı malzemeler tercih edilmektedir (Hiremani vd., 2021). Bu polisakkaritlerin arasında yer alan, kitinin deasetilasyonundan elde edilen kitosan, doğal bir katyonik polimerdir. Doğal antimikrobiyal özelliklere sahip olması, toksik olmayan yapısı ve biyobozunur yapıda olması nedeniyle çeşitli sürdürülebilir ambalaj uygulamaları için yüksek potansiyele sahip bir materyal olarak kabul edilmektedir (Stanicka vd., 2021). Bozulabilir gıdalara yenilebilir filmlerin uygulanması, aşırı nem kaybını önlemekte, mikrobiyal kontaminasyona karşı korumakta ve solunum hızını yavaşlatarak tat veya aromayı değiştirmeden bariyer özelliklerini geliştirmektedir ve böylece kalite kayıplarını azaltmaktadır (Nascimento vd., 2020; Nasrin vd., 2023).

Arıların kovanlarını onarmak ve korumak için ürettiği reçinemsi bir madde olan propolis, *Aspergillus, Fusarium, Penicillium, Botrytis* ve *Colletotrichum* gibi gıda bozulmalarında rol oynayan küflere karşı etkili antifungal aktivite göstermektedir (Gniewosz vd., 2022; Suriyatem vd., 2018). Bunlara ek olarak, propolis ekstraktının polimer filmlere eklenmesi, polimer zincirindeki kovalent ve kovalent olmayan etkileşimler sayesinde bu filmlerin biyolojik, mekanik ve bariyer özelliklerini geliştirebilmektedir (Xue vd., 2021). Ancak, propolis ekstraktının hidrofobik doğası nedeniyle kitosan (Siripatrawan & Vitchayakitti, 2016), pullulan (Gniewosz vd., 2022), nişasta (Suriyatem vd., 2018) ve polilaktik asit (Ulloa vd., 2019) gibi hidrofilik biyopolimerlere dahil edilmesi için etanol (Pastor vd., 2010), propilen glikol (Yong & Liu, 2021) gibi bir taşıyıcıya ihtiyaç duyulmaktadır.

Çilek (*Fragaria ananassa*), klimakterik olmayan bir meyve olup genellikle taze olarak tüketilmektedir. Kendine özgü tat ve aromasının yanı sıra C ve E vitaminleri ile antosiyaninler açısından zengin bir içeriğe sahiptir. Ancak, kabuğu olmaması

nedeniyle çilekler mekanik yaralanmalara ve küf gibi mikroorganizmaların etkilerine karşı oldukça duyarlıdırlar (Jiang vd., 2019; Pagliarulo vd., 2016). Çileklerin bozulmasına neden olan en yaygın iki küf türünün *Rhizopus stolonifera* ve *Botrytis cinerea* olduğu belirtilmektedir. *B. cinerea* enfeksiyonu, tarlada kontaminasyon veya bozulmuş meyvelerle temas yoluyla meydana gelmekte ve enfeksiyonun sonucunda salınan küf enzimleri ve toksinler meyve hücrelerinde ölüme yol açmaktadır (Petrasch vd., 2019) Son yıllarda yapılan çalışmalarda meyve ve sebzelerde mikrobiyal bozulmanın yavaşlatılması için doğal antimikrobiyal maddelerin yüklendiği yenilebilir filmler kullanılmıştır. Bu çalışmada da propolisin antifungal özelliği göz önüne alınarak, propolis emülsiyonu yüklü kitosan filmiyle kaplanmış çileklerde, *Botrytis cinerea* gelişiminin azaltılması amaçlanmıştır.

1.2 Tezin Amacı

Bu çalışmanın nihai amacı suda çözünmeyen hidrofobik yapılı propolis ekstraktının herhangi bir organik çözücü veya sentetik yüzey aktif madde kullanılmadan yüksek miktarlarda geleneksel Y/S (su içerisinde yağ emülsiyonu) emülsiyonuna yüklenebilmesi ve bu emülsiyonun hidrofilik kitosan matrisine eklenerek yenilebilir filmlerin elde edilmesidir. Bu kapsamda boş emülsiyon (BE) ve propolis emülsiyonun (PE) yüklendiği kitosan filmleri; sırasıyla boş emülsiyon yüklü film (BEF) ve propolis emülsiyon yüklü film (PEF) olarak adlandırılmış; kurutulduktan sonra bu filmler renk, kalınlık, nem içeriği, yüzey morfolojisi, oksijen ve nem bariyeri, mekanik ve yapısal özellikler açısından karakterize edilmiştir. Çalışmanın sonraki aşamasında ise bu filmlerin çileklerin kalite üzerine etkilerinin incelenmesi için filmlerle kaplanmış çileklerde 14 günlük depolama süresi boyunca, ağırlık kaybı (%), sertlik, titre edilebilir asidite (TA), pH, toplam fenolik miktarı (TFM), toplam antosiyanin miktarı (TAM), askorbik asit (AsA) ve antioksidan aktivite (AA) içeriğindeki değişikliklere ek olarak, PEF ve BEF kaplamanın *B. cinerea* üzerine antifungal etkinliğinin belirlenmesi için aşılandıktan sonra BEF ve PEF ile kaplanmış çileklerde *B. cinerea* sayımı gerçekleştirilmiştir.

1.3 Hipotez

Propolis, çeşitli fenolik maddeler açısından oldukça zengin doğal bir maddedir. Önceki çalışmalar, polimer filmlerine propolis gibi aktif maddelerin eklenmesinin, filmlerin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin yanı sıra filmlerin bariyer özellikleri, mekanik özellikleri ve termal stabilitelerini de geliştirdiğini göstermiştir. Bu çalışmada, yüksek miktarda propolis içeren emülsiyonun (PE) kitosan filmine yüklenmesinin, filmin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini önemli ölçüde artıracağı hipotez edilmiştir. Ayrıca, propolisin antioksidan aktivitesi ve kitosan zincirleri ile propolis polifenolleri arasındaki etkileşimlerin etkisiyle, bu filmlerin termal stabilitesinin, mekanik ve bariyer özelliklerinin, boş emülsiyon (BE) yüklenmiş filmlere kıyasla daha üstün olacağı öngörülmüştür. Ayrıca yapılan çalışmada bu filmlerle kaplanmış çileklerde, filmlerin antioksidan ve bariyer özellikleri sayesinde solunumun azalması, metabolik faaliyetlerin yavaşlayacağı ve dolayısıyla kalitedeki kaybın azalacağı öngörülmüş ve PEF kaplamanın *B. cinerea* üzerinde göstereceği antifungal etki sayesinde, PEF kaplı çileklerde küf gelişiminin azaltılacağı düşünülmüştür.

2
KURAMSAL TEMELLER

2.1 Kitosan Bazlı Filmler

Yengeç ve karides gibi kabukluların dış iskeletlerinin ana bileşeni olan kitinin deasetilasyonundan elde edilen kitosan, β-1,4 bağlarıyla birbirine bağlanan glukozamin ve N-asetilglukozamin birimlerinden oluşan doğal bir katyonik polimerdir (Nair vd., 2020). Kitosan bazlı filmler, toksik olmamaları, sürdürülebilir olmaları ve doğal antimikrobiyal yapıları nedeniyle biyobozunur ambalajlamada ve çeşitli meyve ve sebzelelerin kaplanmasında kullanılmıştır. Kitosanın antimikrobiyal özelliği, katyonik bir polimer olmasından kaynaklanır. Kitosan zincirlerinin yapısındaki pozitif amino gruplarının mikroorganizma hücrelerinin negatif yüzeyleriyle elektrostatik etkileşime girmesi sonucunda bakteri ve küf hücre membranlarının geçirgenliği değişmekte ve hücre içerisindeki materyaller dışarı sızdığından hücre ölümü gerçekleşmektedir (Elsabee & Abdou, 2013).

Kitosan filmlerinin mekanik ve bariyer özellikleri kullanılan kitosanın deasetilasyon derecesine, molekül ağırlığına, filmlerin kuruma hızı ve ortam bağıl nemine bağlı olarak değişir. Ayrıca bu filmlere çeşitli asitlerin, fenolik bileşiklerin ve gliserol gibi plastikleştirici ajanların eklenmesi filmlerin mekanik ve bariyer özelliklerini etkileyen bir diğer faktördür. Bu maddeler kitosan zincirleri arasında çapraz bağlayıcı görev görerek daha kompakt bir film yapısı oluşmasına ya da zincirlerin hareketliliğini artırarak daha esnek filmler elde edilmesine neden olmaktadır (Mujtaba vd., 2019).

Hasat sonrasında meyvelerde meydana gelen bozulmalar, özellikle C vitamini ve fenolik maddelerin kaybına yol açarak besinsel değerin düşmesine neden olur ve bu durum meyvelerin sağlık yararlarını da azalmaktadır. Yenilebilir filmler, meyvelerin yüzeylerine kaplandığında gaz bariyer özelliği göstererek solunumu yavaşlatır ve oksidasyon reaksiyonlarını azaltır, böylece meyvelerin bozulmasını yavaşlatarak besinsel içeriğinin korunmasını sağlar (Kerch, 2015).

Kitosan filmlerinin antimikrobiyal ve diğer özelliklerinin geliştirilmesi için esansiyel yağlar, fenolik bileşikler, çeşitli asitler ve nanopartiküller bu filmlerin

yapısına dahil edilmiştir (Mujtaba vd., 2019). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda nanopartiküllerin, bitkisel ekstraktların ve esansiyel yağların eklendiği kitosan filmleri, çilek, kiraz, mango, üzüm, havuç ve salatalık gibi birçok meyve ve sebzenin kaplanmasında kullanılmış ve depolama süresince bu gıdaların besinsel özelliklerinin korunmasını sağlamıştır (Kerch, 2015).

2.2 Emülsifiye Filmler

Emülsiyonlar, bir veya daha fazla birbirine karışmayan sıvıdan oluşan ve bu sıvılardan birinin diğerinin içinde küçük damlacıklar halinde dağıldığı sistemlerdir. Emülsiyonlardaki damlacıkların boyutları genellikle 200 nm ile 100 μm arasında değişir. Geleneksel emülsiyonların yapısını değiştirmek amacıyla çeşitli yüzey aktif maddeler, stabilizatörler ve jelleştirme ajanları kullanılarak bu boyut özellikleri değiştirilebilmektedir. Emülsiyon teknolojisi, gıda endüstrisinde birçok gıda ürününün geliştirilmesinde kullanılmakta olup, özellikle lipofilik aktif maddelerin taşınımı için de önemli bir rol oynamaktadır (Tan & McClements, 2021).

Bugüne kadar yapılan bazı çalışmalarda, lipofilik aktif maddeler, hidrofilik film matrislerine herhangi bir yağ/su (Y/S) emülsiyonuna yüklenmeden doğrudan eklenmiştir. Ancak bu tür filmler, suda düşük çözünürlük sergilemekte ve içeriklerindeki aktif maddeler, ortamdaki oksijen, sıcaklık ve metal iyonlarının varlığında oksidasyona karşı duyarlılık göstermektedir. Bu nedenle, hidrofobik bileşenler filmlere doğrudan eklenmeden önce bir Y/S emülsiyonuna yüklenmekte ve bu emülsiyonlar film oluşturucu çözeltilere ilave edilmektedir. Bu yöntemle, aktif maddeler hidrofobik yağ fazına yüklenerek hidrofilik matriste homojen bir şekilde dağılmakta, ayrıca çevresel olumsuz koşullardan korunarak bu maddelerin kontrollü salınımı sağlanmaktadır (Reis vd., 2023).

Emülsifiye filmlerin optik özellikleri ve opaklığı, filme eklenen emülsiyonun yağ damlacıklarının boyutları ve bu damlacıkların dağılımı ile yakından ilişkilidir. Film boyunca dağılan yağ damlacıkları, ışığın geçişini engelleyerek filmlerin daha opak olmasına neden olur ve bu durum, damlacıkların boyutu arttıkça belirginleşir. Emülsifiye filmlerin su buharı ve oksijene karşı bariyer özellikleri, ortamın bağıl nemi ve sıcaklığına bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle yapılarındaki hidrofobik yağ fazı nedeniyle daha fazla oksijen geçirirler. Bu hidrofobik bileşenler, gazlar için daha yüksek çözünürlük ve afiniteye sahiptir. Öte yandan,

emülsifiye filmlerin su geçirgenliği, yapılarındaki yağın hidrofobik doğası nedeniyle genellikle daha düşüktür. Ayrıca, yağ damlacıklarının film yapısındaki dağılımları homojen hale geldikçe, filmlerin su buharı bariyer özellikleri daha etkili olur. Emülsifiye filmlerde polimer matrisi içerisinde dağılmış olan yağ damlacıkları heterojen bir dağılım yaratarak zincirler arasındaki süreksizliği artırmakta ve bu nedenle de bu filmlerin mekanik dayanımları saf polisakkarit ve protein filmlerine göre genellikle daha düşük olmaktadır (Galus & Kadzińska, 2015).

2.3 Çilek (*Fragaria ananassa*)

Klimakterik olmayan bir meyve olarak sınıflandırılan çilek (*Fragaria ananassa*), kendine özgü görünüş, tat ve aromasıyla dünya genelinde sevilerek tüketilmektedir. Çilek, karakteristik aromalarının yanı sıra, C ve E vitaminleri, karotenoidler ve antosiyaninler açısından zengin olduğu için sağlık açısından oldukça faydalı bir meyvedir (Yan vd., 2019).

Çilekler, yapılarında bulunan polifenoller ve vitaminler sayesinde antioksidan özellik gösterirler ve çileklere antioksidan kapasite kazandıran bileşenler arasında en çok antosiyaninler ve askorbik asit ön plana çıkmaktadır. Çilek, böğürtlen, yaban mersini ve ahududu gibi meyvelerin karakteristik kırmızı renklerinden sorumlu antosiyaninler, suda çözünür özellikte bitkilerin ikincil metabolitleridir (Basu vd., 2014). Çileklerde pelargonidin-3-glukozit, siyanidin-3-glukozit, 3-rutinosit ve 3-malonil glukozit olmak üzere dört ana antosiyanin yanı sıra 25'ten fazla antosiyanin çeşidinin bulunduğu bildirilmiştir (Basu vd., 2014; Giampieri vd., 2012). Çilek türü ve yetiştiği çevreden bağımsız olarak, pelargonidin-3-glukozit her çilekte ana antosiyanin olarak öne çıkmış ve miktarı daha az olsa da siyanidin-3-glukozitin de her çilek türünde bulunduğu gözlemlenmiştir (Giampieri vd., 2012).

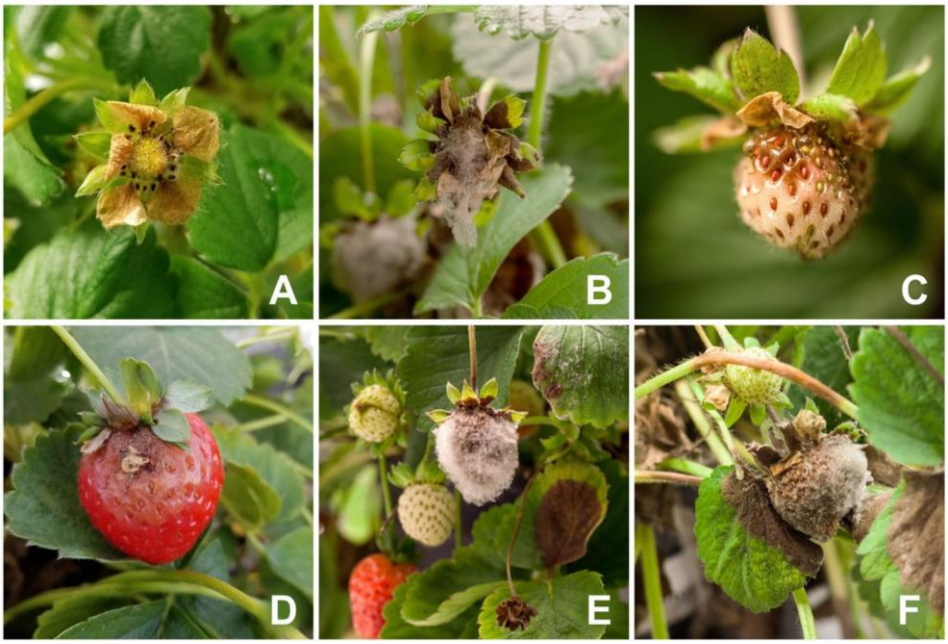
Tüm fonksiyonel özelliklerinin yanı sıra, kabuksuz olmaları ve çok ince bir epidermis tabakasına sahip olmaları nedeniyle, çilekler çeşitli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlara ve dış etkenlerin sebep olduğu fiziksel hasarlara karşı son derece hassastır. Bu durum çileklerin çabuk bozulmasına yol açarak doku değişikliklerine ve küf oluşumuna neden olmaktadır (Gol vd., 2013).

Önceki çalışmalarda çileklerin yüzeyinde uçucu bileşenler, nem ve oksijene karşı yarı geçirgen bir bariyer oluşturulması ve böylece bozulmanın önlenebilmesi için

yenilebilir kaplamalar kullanılmıştır. Örneğin, saf kitosan filmleri ya da etanolik propolis ekstraktı, propolis nanopartikülleri ya da limon esansiyel yağı içeren kitosan filmleri çileklerin kaplanmasında kullanıldığında, nem kaybı ve yumuşamanın azaltıldığı, küflenmenin geciktirildiği ve besinsel profilin daha iyi korunduğu görülmüştür (Abdalla vd., 2023; Correa-Pacheco vd., 2019; Jiang vd., 2019; Martínez-González vd., 2020).

2.3.1 Çileklerde *Botrytis cinerea* Enfeksiyonu

B. cinerea, dünya genelinde 200'den fazla mahsulde ''gri küf'' hastalığına sebep olan yaygın bir fungal patojendir. Bu patojen, ürettiği fitotoksik metabolitler ve enzimlerle meyvelerin hücre duvarını yıkarak enfeksiyonu kolaylaştırmakta, hasat öncesi ve sonrası, tarlalarda, seralarda ve soğuk depolama sırasında meyvelerde çürümeye ve kalitenin bozulmasına yol açmaktadır (AbuQamar vd., 2017; Oliveira vd., 2024). Bitkilerde çeşitli semptomlara yol açan *B. cinerea* enfeksiyonu, özellikle çilek, ahududu, üzüm ve böğürtlen gibi küçük meyveli bitkilerde, meyvelerin yüzeyinde hızla çoğalan gri konidia kütleleri ve yumuşak çürük bölgeler olarak gözlemlenmektedir (Williamson vd., 2007).



Şekil 2.1 Çileklerde *Botrytis cinerea* enfeksiyonu (Petrasch vd., 2019).

Çileklerde *B. cinerea* enfeksiyonu, birincil ve ikincil enfeksiyonlar olarak iki farklı şekilde meydana gelebilmektedir (Şekil 2.1). Birincil enfeksiyonlar, bitkinin çiçek açmasının ardından çiçek organlarının enfekte olması ve küfün çiçek tablasına

yayılmasıyla oluşur. Bu enfeksiyonların kaynağı genellikle enfekte komşu bitkilerden gelen konidia ve miselyumlardır. İkincil enfeksiyonlar ise direkt olarak meyveyi etkilemekte ve meyvenin taç yapraklarının enfekte olması veya tarladaki diğer küflenmiş çileklerden kaynaklanmaktadır (Petrasch vd., 2019).

Meyvelerde *B. cinerea* enfeksiyonunu önlemek için geleneksel bir uygulama olarak küf öldürücü tarım ilaçları kullanılmaktadır. Ancak, bu ilaçlara karşı dirençli *B. cinerea* türlerinin çoğalması ve bu ilaçların insan sağlığına olası olumsuz etkileri hakkındaki endişelerin artması nedeniyle, son yıllarda meyvelerin kalitesini ve raf ömrünü uzatacak sentetik tarım ilaçlarına alternatif yenilikçi yöntemler araştırılmaktadır (Sylla vd., 2015). Bu bağlamda esansiyel yağlar ve propolis gibi doğal aktif maddeleri içeren yenilebilir filmler meyvelerde küflenmeyi geciktirmek amacıyla değerlendirilmektedir (Moreno vd., 2020; Oliveira vd., 2024).

2.4 Propolis

Propolis, arılar tarafından kovanlarını korumak amacıyla üretilen reçinemsi doğal bir maddedir (Şekil 2.2). Propolisin bileşimi, coğrafi şartlar, iklim koşulları ve bitki örtüsü gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmekle birlikte, her propolis çeşidi fenolik bileşenler açısından zengindir. Bu fenolik bileşenler, propolise antimikrobiyal, anti-inflamatuar, antikanserojenik ve antioksidan özellikler kazandırmaktadır (Pant vd., 2024; Pu vd., 2023). Propolis bileşiminin büyük bir çoğunluğunu reçine ve balzamlar (%40-70) oluşturmakta olup, geri kalan kısmını balmumu, polen, aromatik bileşenler, esansiyel bileşenler ve mineraller oluşturur (Irigoiti vd., 2021).

Propolis, yapısındaki hidrofobik bileşenler nedeniyle düşük su çözünürlüğüne sahiptir. Bu nedenle, propolisin çözünürlüğünü ve saflığını artırmak için çeşitli çözücüler kullanılarak propolis ekstraktları elde edilmektedir. Propolis ekstraktlarının elde edilmesinde genellikle etanol kullanılmakla birlikte, su, gliserol, eter, aseton, metanol, kloroform ve propilen glikol gibi çözücüler de kullanılmaktadır. Ekstraksiyon işlemi sonrasında elde edilen propolis ekstraktları, fenolik bileşenler açısından zengin olup, balmumu gibi hidrofobik bileşenleri daha az içermektedir. (Irigoiti vd., 2021; Pobiega vd., 2019).

Propolis, sağlığa yararlı etkileri, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri sayesinde son yıllarda gıda, ilaç ve kozmetik sektörlerinde geniş uygulama alanı bulmaktadır. Günümüze dek propolis, et ürünleri, süt ürünleri ve meyve suları gibi çeşitli gıdalarda doğal katkı maddesi olarak kullanılmıştır (Pobiega vd., 2019). Ancak, propolisin kendine özgü keskin kokusu ve tadı, gıdalara doğrudan eklenmesini sınırlamaktadır. Bu nedenle, propolis ekstraktları nanoemülsiyonlar gibi taşıyıcı sistemlere yüklenerek gıdalara eklenmiştir (Seibert vd., 2019). Propolis gıdalara doğrudan eklenmesinin yanı sıra, çeşitli biyobozunur ambalajlara ve yenilebilir kaplamalara antimikrobiyal ve antioksidan ajan olarak eklenmektedir. Bu kapsamda propolis içeren yenilebilir filmler ve kaplamalar, incir (Aparicio-García vd., 2021), çilek (Martínez-González vd., 2020), papaya (Barrera vd., 2015), ahududu (Moreno vd., 2020), üzüm (Pastor vd., 2011) gibi meyvelerin kaplanmasında başarıyla kullanılmıştır.

Propolisin antimikrobiyal aktivitesi, mikroorganizmanın türüne ve propolisin bileşimine bağlı olarak değişir. Propolis, hücre bölünmesini engelleme, nükleik asit ve protein sentezini durdurma, hücre membran geçirgenliğini değiştirme, biyofilm oluşumunu engelleme, bakteriyoliz ve hücrelerde enerji üretiminin engellenmesi gibi mekanizmalarla antimikrobiyal etki göstermektedir. Literatürdeki araştırmalar, propolisin Gram negatif bakterilere kıyasla Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bu durum, Gram negatif bakteriler tarafından salgılanan hidrolitik enzimlerin propolis aktif bileşenleri ile etkileşime girerek direnç göstermesi şeklinde açıklanmıştır (Bouchelaghem, 2022).

Propolis ekstraktı yüklü filmler, polimer matrisinden salınan polifenolik bileşikler sayesinde serbest radikalleri yakalayarak ve metal iyonlarını şelatlayarak antioksidan aktivite sergilemektedir. Kitosan ve nişasta gibi hidrofilik polimer bazlı yenilebilir filmler, ortamdaki ve gıdadaki nem sayesinde kolayca şişerek içerdikleri polifenolik bileşikleri hızla serbest bırakabilirler. Bu sayede salınan polifenolik bileşikler, gıda ve çevresi ile etkileşime girerek antioksidan ve antimikrobiyal etkilerini gösterebilmektedir (Yong & Liu, 2021).

3
MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Propolis ekstraktı Balparmak (Altıparmak Gıda, İstanbul, Türkiye) ve kitosan (ChitoClear 44000-FG95®, deasetilasyon derecesi %95) Primex (İzlanda) tarafından sağlanmıştır. Ayçiçeği lesitini Alfasol (Türkiye) şirketinden satın alınmıştır. Taze çilekler ve ayçiçek yağı Mayıs 2023'te yerel bir satıcıdan temin edilmiştir. Asetik asit (%100 anhidrat), gliserol (%85), sodyum hidroksit (NaOH), sodyum klorür (NaCl), potasyum iyodür, trifloroasetik asit (TFA), metanol ve asetonitril Isolab (İstanbul, Türkiye) şirketinden satın alınmıştır. Sodyum tiyosülfat pentahidrat, hidroklorik asit (HCl), meta-fosforik asit, malt ekstrakt agar (MEA), pepton ve Tween 80 Merck (Darmstadt, Almanya) şirketinden temin edilmiştir. DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil) ve ABTS (2,2′-azino-bis 3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikalleri Sigma Aldrich (Steinheim, Almanya) şirketinden satın alınmıştır.

3.2 Metot

3.2.1 Emülsiyonların Hazırlanması

Propolis emülsiyonunun formülasyonu, en yüksek propolis ekstraktının emülsiyona yüklenebilmesini sağlayan ön çalışmalara dayanmaktadır. Bu amaçla, homojenize bir karışım elde etmek için 1:1 ve 1:5 (a:a) olacak şekilde farklı ayçiçeği lesitini-yağ oranları karıştırılmış ve 1:2.5 ila 1:7.5 (a:a) oranlarındaki propolis ekstraktı bu karışımlara eklendikten sonra 80°C'de 30 dakika boyunca sıcak su banyosunda inkübe edilerek çözülmüştür. Bu işlem sonrasında, dibinde herhangi bir propolis çökeltisi olmayan karışımlara ağırlıkça %60 ve %75 saf su eklenerek emülsiyonlar oluşturulmuştur.

Ön çalışmaların sonunda propolis ekstraktının %8 (a:a) oranında yüklenmesini sağlayan ve bir gece boyunca faz ayrımı göstermeyen emülsiyon formülasyonu, film oluşturucu kitosan çözeltisine eklenmek üzere seçilmiştir. Propolis ekstraktı, lesitin:yağ karışımı (1:3, a:a) içinde 1:3.5 (a:a) oranında 80 °C'deki sıcak su

banyosunda 30 dakika boyunca homojen bir karışım elde edilene kadar çözdürülmüştür. Karışım oda sıcaklığına soğuduktan sonra, saf su eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda 1000 rpm'de bir saat boyunca homojenize edilmiştir. Nihai emülsiyonda propolis ekstraktı, ayçiçeği lesitini, yağ ve su oranı 8:6.5:21:64.5 (a:a:a:a) olmuştur. Boş emülsiyon üretilirken propolis ekstraktı formülasyondan çıkarılarak aynı oranda saf su eklenmiştir.

3.2.2 Emülsiyon Yüklü Filmlerin Üretilmesi

Polimer çözeltisi, kitosanın (%2, a:h) asetik asit çözeltisinde (%2, h:h) manyetik karıştırıcıda 1500 rpm'de bir gece boyunca çözülmesiyle hazırlanmış ve bu çözeltide 1 g gliserol çözülmüştür. Kitosan çözeltisi ile karıştırılmadan önce emülsiyonlar (PE ve BE) su ile seyreltilmiş (1:1, a:a) ve 1:2 (a:a) oranında kitosan çözeltisi ile karıştırılmıştır. Bu karışımın 15 gramı steril polistiren petri kaplarına (90 × 17 mm) dökülmüş ve 16 saat boyunca 35 °C'de etüvde kurumaya bırakılmıştır. Emülsiyonların ve emülsiyon yüklü film çözeltilerinin içeriği Tablo 3.1'de özetlenmiştir.

Tablo 3.1 Örneklerin isimlendirilmesi ve içeriği (%)

Malzemeler (a:a, %)	**BE**	**PE**	**BEF**	**PEF**
Lesitin	6.5	6.5	1.08	1.08
Yağ	21	21	3.5	3.5
Saf su	72.5	64.5	93.44	92.11
Propolis ekstraktı	-	8	-	1.33
Kitosan	-	-	1.32	1.32
Gliserol	-	-	0.66	0.66

BE: boş emülsiyon; PE: propolis emülsiyon; BEF: boş emülsiyon yüklü film; PEF: propolis emülsiyon yüklü film.

3.2.3 Çileklerin Emülsiyon Yüklü Film Çözeltisi ile Kaplanması

Kaplanmadan önce çilekler, toprak ve kir gibi tüm yabancı maddeleri uzaklaştırmak için musluk suyuyla birkaç kez yıkandıktan sonra, bir dakika boyunca sodyum hipoklorit çözeltisine (%2, a:h) batırılmış, sonrasında steril suyla durulanmış ve kurumaya bırakılmıştır. Taze çilekler aşılanmış ve aşılanmamış olmak üzere iki gruba ayrılmıştır ve her grupta 180 çilek kullanılmıştır. Her gruptaki çilekler ise kontrol-kaplanmamış, BEF-kaplanmış ve PEF-kaplanmış çilekler olmak üzere üç sınıfa ayrılmıştır. Kaplanacak çilekler 1 dakika süreyle BEF ve PEF çözeltilerine daldırılmış ve sonrasında 2 saat oda koşullarında kurutulmuştur. İkinci katman için çilekler bir kez daha (1 dakika) film çözeltilerine daldırılmış ve tekrar 2 saat oda koşullarında kurutulmuştur. Sonrasında çilekler polipropilen kaplarda, kapların ağzı kapalı olacak şekilde 4 °C'de 14 gün boyunca depolanmıştır.

3.2.4 Emülsiyonların ve Emülsiyon Yüklü Film Çözeltilerinin Karakterizasyonu

Örneklerin partikül boyutu değerleri, her bir örnek distile su (1:1000, h:h) ile seyreltildikten Sonra Lazer Difraksiyon Partikül Boyutu Analizörü (Mastersizer 2000, Malvern, UK) ile ölçülmüştür. Film çözeltilerinin yapısını görüntülemek için optik mikroskop (Olympus CKX41, Tokyo, Japonya) kullanılmıştır. TFM analizi için Singleton vd. (1999) tarafından uygulanan Folin-Ciocalteu (FC) yöntemi kullanılmış ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/mL olarak verilmiştir. Antioksidan aktivitelerin belirlenmesinde Brand-Williams vd. (1995) tarafından uygulanan DPPH ve Re vd. (1999) tarafından kullanılan ABTS radikal yakalama analizleri uygulanmış ve sonuçlar mg Trolox eşdeğeri (TE)/mL olarak ifade edilmiştir. BE spektrofotometrik analizler için kör numune olarak kullanılmıştır.

Emülsiyonların ve emülsiyon yüklü film çözeltilerinin antifungal aktivitesinin belirlenmesi için Moreno vd. (2020) tarafından kullanılan *B. cinerea* inokülasyonu hazırlama prosedürü uygulanmıştır. Bunun için *B. cinerea* gliserol stok kültürü MEA üzerine aşılandıktan sonra 25°C'de 7 ila 10 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında agar yüzeyine Tween 80 (1 g/L) içeren steril tuzlu su çözeltisi (%0,85 NaCl, a:h) püskürtüldükten sonra, küf sporları steril bir bisturi kullanılarak agardan kazınmış ve iki kat steril gazlı bezden süzülmüştür. Spor konsantrasyonu hemositometre kullanılarak yaklaşık $1x10^5$ spor/mL olacak şekilde ayarlanmıştır.

B. cinerea'nın in vitro miselyal gelişme inhibisyonunu belirlemek için Nascimento vd. (2020) tarafından kullanılan modifiye substrat yöntemi kullanılmıştır. Her bir emülsiyon ve film çözeltisinin belirli konsantrasyonu sterilize edilmiş MEA besiyerine karıştırılmış ve petri kaplarına dökülmüştür. Emülsiyon veya film çözeltisi içeren MEA ortasına 6 mm çapında filtre kâğıdı diskleri yerleştirildikten sonra ve her birine 10 µL *B. cinerea* kültürü ($1x10^5$ spor/mL) inoküle edilmiştir. Negatif kontrol herhangi bir emülsiyon veya film çözeltisi besiyerine eklenmeden hazırlanmıştır. Tüm petri kapları (60 mm), negatif kontrol tamamen misel ile kaplanana kadar 25 °C'de inkübe edilmiştir. Miselyal gelişme çapı 3 günlük inkübasyondan sonra günlük olarak kaydedilmiş ve miselyal gelişme inhibisyonu (MGİ) Eşitlik (3.1) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{MGİ}(\%) = \frac{C - T}{C} \times 100 \qquad (3.1)$$

Eşitlikte C negatif kontrol petrilerindeki koloni çapını gösterirken, T emülsiyon ve film çözeltisi eklenmiş petrilerdeki koloni çapını göstermektedir.

3.2.5 Emülsiyon Yüklü Filmlerin Karakterizasyonu

3.2.5.1 Filmlerin Kalınlık, Nem Miktarı, Yüzey Morfolojisi ve Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi

Film kalınlığı dijital mikrometre (HITEC 207-01, Çin) kullanılarak her bir filmin sekiz farklı noktasından ölçülmüştür. Filmlerin nem içeriği, Kızılötesi Nem Analiz Cihazı (Rad-Wag, MA 50-R, Polonya) ile belirlenmiştir. Su aktivitesi ortam sıcaklığında AWSprint TH500 (Novasina, İsviçre) ile ölçülmüştür. Renk ölçümü kromametre (CR-400, Konica Minolta, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Filmlerin yüzey morfolojisi SEM (FEI Quanta 450 FEG, Graz, Avusturya) ile düşük vakum altında 6,5 mm mesafede ve 10 kV hızlandırma voltajında incelenmiştir. SEM ile görüntüleme öncesinde film örnekleri vakum altında ince bir altın-platin tabakası ile püskürtme yöntemiyle kaplanmıştır (Agar Manuel Püskürtme Kaplayıcı B7340, Stansted, İngiltere).

Film örneklerinin mekanik özelliklerinin belirlenmesi için çekme mukavemeti (ÇM) ve uzayabilirlikleri (%U) test edilmiştir. Filmlerin çekme mukavemeti ve uzayabilirliğini analiz etmek için Doku Profili Analiz Sistemi (Stable Micro System, TAXT2Plus, UK) kullanılmıştır. Bunun için film örneklerinden 60 mm × 10 mm boyutlarında dikdörtgen parçalar kesilmiş ve 5 kg'lık bir yük hücresi

kullanılmıştır. %U ve ÇM değerleri Eşitlik (3.2) ve (3.3) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{ÇM (MPa)} = \frac{RE}{T} \times \frac{g}{W} \times 10^{-6} \quad (3.2)$$

$$\text{U}(\%) = \frac{L}{L_0} \times 100 \quad (3.3)$$

Eşitlikte T: film örneklerinin ortalama kalınlığı (m); W: genişlik (m), RE: uzamaya karşı direnç (kg); *g:* yer çekimi ivmesi (9,81 m/s2); L: filmin son uzunluğu (m) ve L0: başlangıç filmin uzunluğudur (m).

3.2.5.2 Filmlerin Su Buharı ve Oksijen Geçirgenliklerinin Belirlenmesi

Filmlerin su buharı geçirgenliğinin (SBG) belirlenmesi için Kurt & Kahyaoglu, (2014) tarafından kullanılan yöntem bazı modifikasyonlarla uygulanmıştır. Deney sırasında %0 bağıl nem ortamının sağlanması için etüvde (Memmert, Almanya) 105°C'de 24 saat boyunca kurutulmuş silika jeller kullanılmıştır. Tüpler 10 g silika jel ile doldurulduktan sonra, tüp ağızları film örnekleri ile kapatılarak tüplerin etrafları sızdırmanın önlenmesi için parafilm ile sarılmıştır. Sonrasında tüpler %100 bağıl neme ayarlanmış iklimlendirme kabininde (NUVE TK 120-252-600, Türkiye) 24 saat bekletilmiştir. Tüp ağırlıklarının tartımları 0, 15, 30 dk, 1, 2, 3, 6, 9, 12 ve 24. saatlerde yapılmıştır. Filmlerin SBG değerleri Eşitlik (3.4) kullanılarak belirlenmiştir.

$$SBG = \frac{w}{t} \times \frac{x}{\Delta PA} \quad (3.4)$$

Eşitlikte A: su buharı transferinin gerçekleştiği film alanı (m^2); x: ortalama film kalınlığı (mm); ΔP: 25°C'deki kısmi basınç farkıdır (Pa). Gradyan değeri (w/t), doğrusal regresyon ile zaman (gün) içinde sistem tarafından emilen ağırlıktan (g) hesaplanmıştır (R^2> 0.99).

Oksijen geçirgenlik analizi için, 15 g ayçiçek yağı ağızları BEF ve PEF ile kapatılmış 50 mL'lik tüplere doldurulmuştur. Hava sızıntısını engellemek için tüplerin etrafına parafilm sarılmıştır. Tüpler daha sonra 60 °C'lik bir etüvde inkübe edilmiş ve 3, 5, 7 ve 10. günlerde üç paralel tüpün her birinde bulunan yağ örneklerinde peroksit analizleri gerçekleştirilmiştir. Peroksit analizi için AOCS,

(1997) yöntemi kullanılmış ve sonuçlar milieşdeğer peroksit/kg ayçiçek yağı olarak ifade edilmiştir.

3.2.5.3 Filmlerin Termal Özellikleri ve FTIR Spektrumunun İncelenmesi

Film örneklerinin termal özellikleri TA Q100 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) (Thermo DSC Q2, New Castle, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Bunun için 5-8 mg film örneği alüminyum hermetik kaplara tartılmış ve 20 mL/dk azot gazı akış hızı altında 10 °C/dk hızla 20 ila 500 °C arasında ısıtılmıştır.

FTIR spektrofotometresi (Bruker Tensor 27, Karlsruhe, Almanya) filmlerin, propolis ekstraktının, kitosanın, gliserolün, lesitinin ve yağın kızılötesi spektrumlarını ölçmek için kullanılmıştır. Tüm spektrumlar 4000-600 cm^{-1} dalga boyu aralığında 4 cm^{-1} çözünürlükle absorpsiyon modunda kaydedilmiştir.

3.2.6 Çileklerin Karakterizasyonu

3.2.6.1 Çileklerin Toplam Çözünür Katı Madde (%), Titre Edilebilir Asidite (%), Ağırlık kaybı (%) ve Sertliklerinin Belirlenmesi

Toplam çözünür katı madde (%TÇKM), pH ve titre edilebilir asitlik (%TA) analizleri, kaplanmış ve kaplanmamış çileklerin her birinden dörder adet çileğin havanda ezilmesiyle elde edilen çilek homojenatları kullanılarak üç tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. %TÇKM ölçümü refraktometre (ABBE, ATAGO Co Ltd., Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Homojenizatların pH değerleri pH-metre (Mettler Toledo S-220-K SevenCompactTM, Ohio, ABD) ile ölçülmüştür. %TA ölçülmesi için 10 mL çilek homojenatına 40 mL distile su eklenmiş ve karışım pH = 8.1 olana kadar 0.1 N NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Çileklerin ağırlık kaybının belirlenmesi için 14 gün boyunca çilekler belirli günlerde tartılmış ve ağırlık kaybı ilk ve son ağırlıklara göre yüzde cinsinden ifade edilmiştir.

Kaplanmış ve kaplanmamış çileklerin sertliği Jiang vd. (2019) tarafından kullanılan yönteme göre 5 kg'lık yük hücresi ve 2 mm'lik silindir probu olan Doku Profili Analiz Sistemi (TA, HD Plus, Stable Micro System, UK) kullanılarak belirlenmiştir. Deney sırasında cihaz probu meyveye doğru 1,5 mm/s hızla hareket etmiş, meyve yüzeyinden 5 mm içeri girmiş ve ardından 10 mm/s hızla ayrılmıştır.

3.2.6.2 Çileklerde Toplam Antosiyanin, Toplam Fenolik, Askorbik Asit Miktarlarının ve Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

TAM, TFC, AsA ve AA analizleri için kullanılan çilek ekstraktları Wang vd. (2019) tarafından kullanılan yönteme göre hazırlanmıştır. TAM, TFM ve AA analizlerinin ekstraktlarının hazırlanmasında çözücü olarak metanol: HCl (99:1, h:h) çözeltisi kullanılmıştır. AsA ekstraksiyonu için ise saf su: meta-fosforik asit: asetik asit (89:3:8, h:h:h) karışımı kullanılmıştır. Çilek homojenizatları ekstraksiyon çözücüsü (1:10, a:h) ile yüksek hızlı homojenizatör (IKA T-18, Almanya) kullanılarak 10.000 rpm'de 1 dakika boyunca homojenize edilmiş ve ekstraksiyona 4±1 °C'de karanlıkta 30 dakika (AsA) ve 1 saat (TAM, TFM, AA) sürelerle devam edilmiştir. Karışım daha sonra 4 °C'de 10 dakika boyunca 5000 g'de santrifüj edilmiş ve 0,45 µm filtreden süzülen süpernatantlar analizler için -80°C'de depolanmıştır. TFM ve AA analizlerinin sonuçları sırasıyla GAE/ 100 g çilek ve mg TE/g çilek olarak verilmiştir. TAM, Giusti & Wrolstad (2001) tarafından uygulanan pH diferansiyel yöntemi kullanılarak ölçülmüş ve sonuçlar mg siyanidin 3-glukozit eşdeğeri (SGE)/100 g meyve olarak ifade edilmiştir.

HPLC yöntemiyle TAM ve AsA tayininde ise sırasıyla Ozcan vd. (2023) ve J. Wang vd. (2019) tarafından kullanılan yöntemler kullanılmış ve sonuçlar mg SGE/100 g ve mg AsA/100 g çilek şeklinde ifade edilmiştir.

3.2.6.3 Çileklerde *Botrytis cinerea* Gelişiminin Belirlenmesi

Taze çilekler, Başlık 3.2.3'de açıklandığı gibi emülsiyon yüklü film çözeltileri ile kaplanmak üzere hazırlanmıştır. Film çözeltileriyle kaplamadan önce her bir çilek 2 dakika boyunca *B. cinerea* spor süspansiyonuna ($1x10^5$ spor/mL) (Başlık 3.2.4) daldırılmış ve oda koşullarında kurutulmuştur. Kaplanmamış çilekler kontrol grubu olarak kullanılmıştır ve her grup için (kontrol, BEF ve PEF kaplı) toplam 12 çilek kullanılmıştır. Tüm örnekler 4±1 °C'de 14 gün boyunca depolanmış ve kaplamaların antifungal etkisi 4, 7, 10 ve 14. günlerde Robledo vd. (2018) tarafından uygulanan yöntem kullanılarak değerlendirilmiştir. Bunun için her kutudan alınan çilek örnekleri steril bir torbada ezilmiş ve 10 g örnek 90 mL steril peptonlu su (%0,1 pepton ve %0,85 NaCl, a:h) ve Tween 80 (1 g/L) içinde süspanse edilmiştir. İki dakika homojenizasyondan sonra, (Seward 400, Londra, Birleşik Krallık) homojenizatlar hedef konsantrasyona kadar seri olarak seyreltilmiş ve

yayma plaka yöntemiyle MEA üzerine ekilmiştir. 25°C'de 5 günlük inkübasyondan sonra küf kolonileri sayılmış ve sonuçlar log CFU/g olarak ifade edilmiştir.

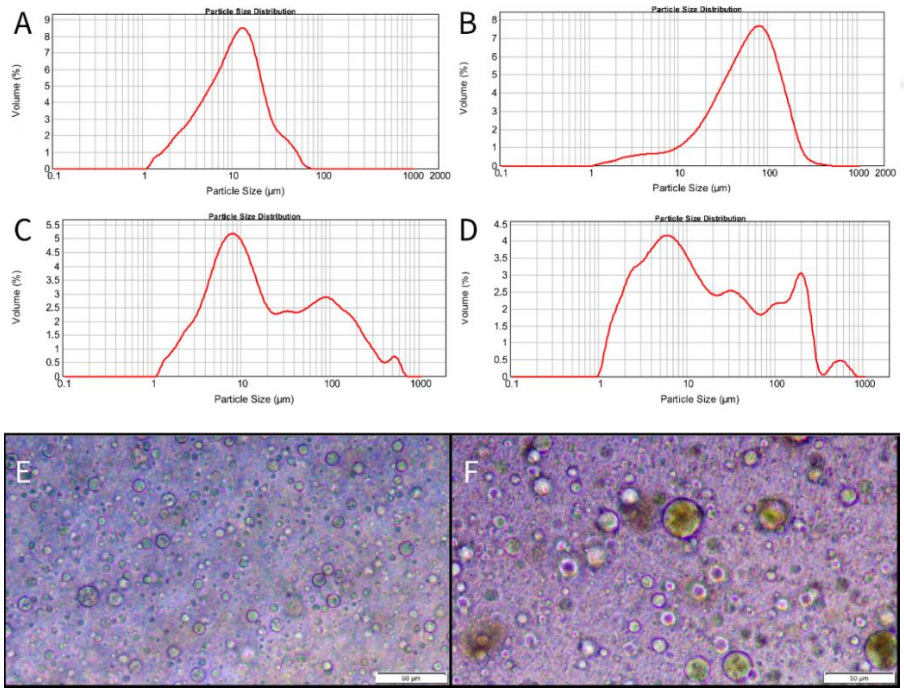
3.2.7 İstatistiksel Analizler

Tüm uygulamalar ve analizler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar SPSS (IBM versiyon 28, Armonk, NY) kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) olarak sunulmuş ve anlamlı farklılıklar ($p \leq 0,05$) Tukey's post hoc ve bağımsız t testi kullanılarak verilmiştir. Şekiller Origin 9.0 (OriginLab Co., ABD) kullanılarak çizilmiştir.

4
BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Emülsiyon Yüklü Filmlerin Karakterizasyonu

BE, PE ve bu emülsiyonların yüklü olduğu film çözeltilerinin (BEF ve PEF) partikül boyutu dağılım grafikleri Şekil 4.1'de ve partikül boyutu değerleri ($d_{4,3}$, $d_{3,2}$ ve Span) Tablo 4.1'de verilmiştir. Sonuçlara göre, boş emülsiyona propolis ekstraktının eklenmesi, hacimsel ağırlıklı ortalama çapı ($d_{4,3}$) ve yüzey alanı ağırlıklı ortalama çapı ($d_{3,2}$) değerlerine göre damlacıkların partikül boyutunu önemli ölçüde artırmış ($p<0.05$), ancak partikül boyutu dağılımının genişliğini ifade eden Span değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmamıştır ($p>0.05$). Emülsiyonların Span değerleri tek modlu bir damlacık boyutu dağılımı gösterirken, bu emülsiyonların kitosan çözeltisine eklenmesi çok büyük Span değerleri (> 10) vermiştir.



Şekil 4.1 Emülsiyonların ve film çözeltilerinin partikül boyut dağılımı (A-D). Film çözeltilerinin optik mikroskop görüntüleri (E-F). A: BE (boş emülsiyon); B: PE (propolis emülsiyon); C/E: BEF (boş emülsiyon yüklü film çözeltisi); D/F: PEF (propolis emülsiyon yüklü film çözeltisi).

BE'nin kitosan çözeltisine eklenmesiyle, damlacıkların $d_{4,3}$ değerleri 13,31'den 53,91 μm'ye yükselmiştir. Bu durum çözeltide büyük partiküllerin ve kümeleşmiş yağ damlacıklarının artmasıyla açıklanabilir. Katyonik polisakkarit olan kitosan çözeltisine anyonik lesitin ile emülsifiye edilmiş Y/S emülsiyonlarına eklendiğinde, kitosan moleküllerinin birden fazla yağ damlacığının yüzeyine adsorbe olarak yağ damlacıklarının flokülasyonuna yol açması mümkün olabilmektedir (Aoki vd., 2005). Emülsiyonların formülasyonu için yapılan ön çalışmalar sırasında propolis ekstraktı yağ ve lesitin karışımında çözdürüldüğünde, propolisin lesitine olan afinitesinin yağa kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür. Önceki çalışmalarda ise propolisin soya lesitini ile üretilen lipozomların yüzeyleri ile etkileşime girdiği gözlemlenmiştir (Karakas vd., 2023; Saroglu & Karadag, 2024). Bu nedenle, PE yapısında propolisin bir kısmının Y/S ara yüzeyinde ve sürekli fazda biriktiği varsayılabilir. Bu durum BE'nin aksine, kitosan çözeltisine PE ilavesi sonrasında damlacıkların ortalama boyutundaki azalmanın nedeni olabilir.

BEF ve PEF çözeltilerinin optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Propolisin kendine özgü kahverengi-sarı rengi hem damlacıkların içinde hem de sürekli fazda bazı kümeler halinde gözlenebilmektedir. Propolis ekstraktının polimer fazı içindeki dağılımı, polimer zincirleri ile propolis flavonoidleri ve fenolik asitleri gibi polifenoller arasında etkileşimlere neden olabilir (Moreno vd., 2020). Özellikle, kitosandaki -NH2 ve -OH grupları gibi hidrofilik gruplar, propolis polifenollerindeki polar gruplarla etkileşime girmektedir (De Carli vd., 2022). Boyut ölçümlerinin sonuçlarının da gösterdiği üzere, optik mikroskop görsellerinde BEF'e kıyasla PEF çözeltisinde daha büyük yağ damlacıkları görülmektedir (Şekil 4.1).

Emülsiyonların ve emülsiyon yüklü film çözeltilerinin TFM ve AA değerleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir. BE ve BEF çözeltisi herhangi bir fenolik bileşen içermemesine rağmen, TFM analizinde kullanılan FC reaktifinin amino asitler ve protein kalıntıları ve redoks aktif metal iyonları gibi fenolik olmayan birçok bileşik tarafından indirgenebileceği bilinmektedir. Beklendiği gibi, PEF çözeltisinin yüksek TFM ve AA değerleri, propolisin fenolik bileşiklerinin varlığından kaynaklanmıştır. Bu çalışmada kullanılan propolis ekstraktının fenolik bileşimi daha önce yapılan bir çalışmada belirlenmiştir. Bu çalışmaya göre, Avrupa propolisinde tipik olarak kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinnamik asit, fenil

ester (CAPE) gibi fenolik asitler; kuersetin, pinobanksin, galangin, kaempferol gibi flavonoller; apigenin, krisin, luteolin gibi flavonlar ve naringenin ve pinokembrin gibi flavanonlar bulunmaktadır. Propolis ekstraktında tanımlanan fenolik bileşiklerin toplam miktarı 97.56 mg/g olup, başlıca fenolikler pinocembrin (18.64 ± 0.54 mg/g), pinobanksin (14.06 ± 0.98 mg/g), galangin (14.36 ± 1.48 mg/g), CAPE (12.66 ± 0.74 mg/g) ve chrysin (9.31 ± 1.08 mg/g) olarak bulunmuştur (Saroglu & Karadag, 2024).

B. cinerea çok çeşitli meyve ve sebzeleri enfekte ederek dünya çapında ekonomik kayıplara neden olan bir küftür (Gao vd., 2020). PE ve PEF çözeltisinin beş farklı konsantrasyondaki (0.0625 - 1 mg/mL) MGİ kapasitesi, inkübasyonun 3. gününde değerlendirilmiştir (Tablo 4.2). PE (1 mg/mL) %52,8 - 64,4 aralığında inhibisyon sağlarken, aynı konsantrasyondaki PEF 5. günün sonuna kadar %100 inhibisyon sağlamıştır. Beklendiği gibi, propolis konsantrasyonu azaldığında inhibisyonda da bir azalma gözlenmiş ve bu azalma oranı inkübasyon süresi uzadıkça artmıştır. Literatürde propolisin özellikle *B. cinerea*'ya karşı antifungal aktivitesi olduğu bildirilmiş ve bu aktivite özellikle propolisin yapısında bulunan fenolik asitler ve flavonoidlerle ilişkilendirilmiştir (Moreno vd., 2020). PE ile karşılaştırıldığında, PEF çözeltisinin *B. cinerea* inhibisyonu üzerindeki etkisinin daha belirgin olduğu görülmektedir. Kitosanın antimikrobiyal aktivitesinin, yapısındaki amino gruplarının küf hücrelerinin yüzeyleriyle etkileşime girerek bu hücrelerin membran geçirgenliğini etkilemesi ve bunun sonucunda hücre içeriğinin dışarı sızması ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Abdalla vd., 2023). Torlak & Sert (2013) tarafından yapılan çalışmada kitosan filmlerine propolis etanolik ekstraktının eklenmesi, filmlerin antibakteriyel özelliklerini arttırmış ve bu olay propolis ve kitosanın potansiyel sinerjik etkisiyle ilişkilendirilmiştir.

İnkübasyonun 5. gününde miselyal gelişimin %50 inhibisyonunu sağlayan konsantrasyon olan EC_{50} değeri 0,5 mg/mL olarak bulunmuştur (Tablo 4.2). Propolis ekstraktının *B. cinerea* inhibisyonu için EC_{50} değeri daha önceki çalışmada 0,05 mg/mL olarak bildirilmiştir. Ancak, önceki çalışmada EC_{50} değerini belirlemek için etanolik propolis ekstraktı tek başına kullanılmıştır ve ekstraktların antifungal etkisinin propolisin kimyasal bileşimine göre değişebileceği göz önüne alınmalıdır (Moreno vd., 2020).

Tablo 4.1 Emülsiyonların ve emülsiyon yüklü film çözeltilerinin partikül boyutu, toplam fenolik madde fmiktarı ve antioksidan aktivitesi.

Örnek	Boyut			Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktivite		
	d_{43} (µm)	d_{32} (µm)	Span	TFM (mg GAE/mL)	DDPH (mg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
BE	13.31 ± 0.60^{d}	7.27 ± 0.21^{c}	2.12 ± 0.08^{c}	4.63 ± 0.48^{b}	*B*	*B*
PE	72.48 ± 2.39^{a}	26.10 ± 1.20^{a}	2.20 ± 0.03^{c}	23.17 ± 0.73^{a}	*B*	*B*
BEF	53.91 ± 1.87^{c}	6.62 ± 0.51^{c}	13.85 ± 0.77^{a}	1.14 ± 0.07^{a}	0.30 ± 0.04^{a}	1.13 ± 0.15^{a}
PEF	57.57 ± 2.95^{b}	9.16 ± 0.72^{b}	10.71 ± 0.82^{b}	5.31 ± 0.06^{b}	6.38 ± 0.76^{b}	7.07 ± 0.2^{b}

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Aynı sütunda farklı harfli değerler istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$). BE: boş emülsiyon; PE: propolis emülsiyon; BEF: BE yüklü film çözeltisi; PEF: PE yüklü film çözeltisi; d_{43}: hacimsel ağırlıklı ortalama partikül çapı; d_{32}: yüzey alanı ağırlıklı ortalama partikül çapı; TFM: toplam fenolik miktarı; GAE: gallik asit eşdeğeri; TE: Trolox eşdeğeri; DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil antioksidan aktivitesi; ABTS: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin)-6-sülfonik asit diamonyum tuzu antioksidan aktivitesi ve *B*: belirlenmedi.

Tablo 4.2 Propolis emülsiyonu (PE) ve PE yüklü film (PEF) çözeltisindeki propolis konsantrasyonlarının miselyal gelişim inhibisyonu üzerindeki etkisi (%).

Propolis konsantrasyonu (mg/mL)	İnkübasyon süresi (gün)					
	3		4		5	
	PE	PEF	PE	PEF	PE	PEF
1	64.4 ± 1.5	100.0 ± 0.0	57.8 ± 1.8	100.0 ± 00	52.8 ± 0.8	100.0 ± 0.0
0.5	62.8 ± 0.7	63.8 ± 1.6	57.0 ± 2.8	60.7 ± 5.5	50.0 ± 2.4	52.8 ± 2.8
0.25	60.2 ± 3.0	47.6 ± 1.5	51.9 ± 2.1	46.7 ± 1.8	46.7 ± 0.0	41.1 ± 3.9
0.125	58.6 ± 3.0	43.4 ± 5.1	45.2 ± 1.0	43.7 ± 2.8	40.6 ± 0.8	37.2 ± 0.8
0.0625	56.0 ± 2.6	37.1 ± 5.1	37.8 ± 0.0	34.8 ± 2.8	33.9 ± 0.8	31.1 ± 0.8

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. PE: propolis yüklü emülsiyon; PEF: propolis emülsiyon yüklü film çözeltisi.

4.2 Emülsiyon Yüklü Filmlerin Karakterizasyonu

4.2.1 Filmlerin Kalınlık, Nem Miktarı, Yüzey Morfolojisi ve Mekanik Özellikleri

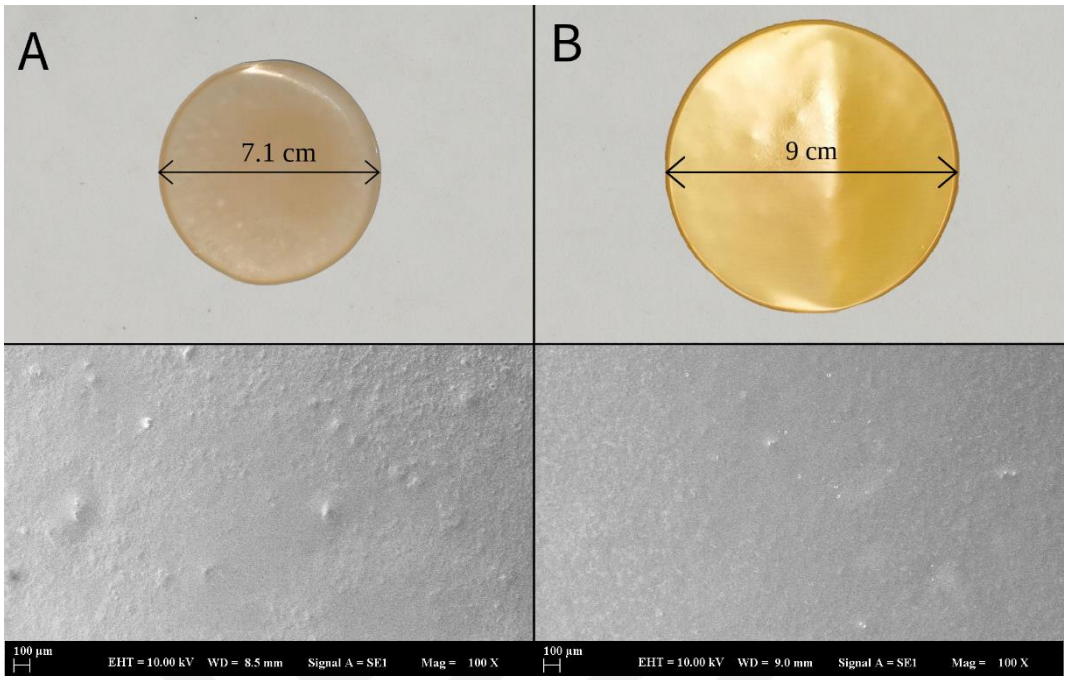
Film örneklerinin kalınlıkları kıyaslandığında, PEF'in daha yüksek kuru madde içeriği nedeniyle BEF'e göre daha kalın olduğu görülmüştür ($p<0.05$) (Tablo 4.3). Benzer şekilde, propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş pullulan yenilebilir filmlerinin kalınlığı, filme yüklenen ekstrakt miktarı ile orantılı bir artış göstermiştir (Gniewosz vd., 2022). Her iki film de aynı koşullar altında kurutulmasına rağmen, BEF örneğinin nem içeriğinin (%14,11 ± 0,58) PEF örneğine kıyasla (%11,03 ± 0,72) daha yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Propolis ekstraktındaki reçinenin ve polifenollerin hidrofobik yapısı, PEF'in daha düşük nem içeriğinin nedeni olabilir. Daha önceki bir çalışmada, kitosan-zein filmlerine farklı polifenol ekstraktları eklendiğinde, propolisli filmler en düşük nem içeriğine sahip olmuştur (Xue vd., 2021). BEF ve PEF'in su aktiviteleri arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir ($p<0.05$). PEF'in düşük parlaklık (L*), daha yüksek a* (kırmızılık) ve b* (sarılık) değerleri (Tablo 4.3), bu filmlerin daha koyu ve daha opak görünüme sahip olduğunu göstermiştir ve bu durum propolis polifenollerinin rengine bağlanmıştır (Ulloa vd., 2019).

Kitosan filmlerine esansiyel yağlar gibi yağ bazlı bileşenlerin eklendiği çalışmalarda, yağ damlacıklarının kümelenmesi nedeniyle film yüzeylerinin pürüzlü ve homojen olmayan bir hale geldiği gözlemlenmiştir (Abdalla vd., 2023). Her iki film de tamamen pürüzsüz ve homojen bir yüzeye sahip olmamasına rağmen, SEM görüntülerinde (Şekil 4.2) görüldüğü üzere, BEF'in yüzeyinde daha fazla kümelenmiş yağ damlacıkları görülmektedir.

Tablo 4.3 Filmlerin kalınlık, nem miktarı (%), su aktivitesi, renk, mekanik özellikler ve su buharı geçirgenliği değerleri.

Film örnekleri	**Kalınlık (mm)**	**Nem miktarı (%)**	**a_w**	**Renk**			**Mekanik Özellikler**		**SGB**
				L*	a*	b*	Uzayabilirlik (%)	Çekme Mukavemeti (MPa)	(gmm/m^2.d.Pa)
BEF	0.13	14.11	0.47	77.75	-0.91	15.61	37.82	0.03	0.18
	±0.01^a	*±0.58^a*	*± 0.02^a*	*±0.63^a*	*±0.07^a*	*±0.59^a*	*±0.87^a*	*±0.01^a*	*±0.004^a*
PEF	0.19	11.03	0.48	67.95	1.46	48.82	69.85	0.38	0.22
	±0.01^b	*±0.72^b*	*± 0.03^a*	*±1.82^b*	*±0.87^b*	*±0.78^b*	*±3.82^b*	*±0.02^b*	*±0.005^b*

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Aynı sütunda farklı harfli değerler istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$).; BEF: boş emülsiyon yüklü film; PEF: propolis emülsiyon yüklü film; a_w: su aktivitesi; L*: aydınlık, a*: kırmızılık, b*: sarılık; SGB: su buharı geçirgenliği.



Şekil 4.2 Film görselleri ve SEM görüntüleri. A-C: BEF (boş emülsiyon yüklü film); B-D: PEF (propolis emülsiyon yüklü film).

Yenilebilir filmler, olası dış etkenlere karşı dayanıklı bir mekanik mukavemete sahip olmalıdır. Çekme mukavemeti (ÇM) filmin dayanabileceği maksimum çekme gerilimini ifade eder ve uzayabilirlik (%U) kırılmadan önce filmlerin uzunluğundaki maksimum değişimle orantılıdır. Filmler PE ile yüklendiğinde, %U ve ÇM değerleri BE ile yüklü filmlere kıyasla önemli ölçüde yükselmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.3). Kitosanın hidrofilik grupları ile propolisin polar özellikli polifenolleri arasındaki artan zincirler arası etkileşimler filmlerin mekanik gücünü artırabilmektedir (De Carli vd., 2022). Bu etkileşimler, kitosan molekülleri ve propolis arasında daha güçlü adezyona neden olabilir ve polimer yapısındaki zincirler arası etkileşimleri sıkılaştırarak mekanik strese karşı daha etkili bir direnç sağlayabilir (Siripatrawan & Vitchayakitti, 2016). Daha yüksek ÇM genellikle daha düşük uzayabilirliğe karşılık gelir, ancak ilginç bir şekilde PE ilavesi filmlerin %U değerini de yükseltmiştir. Önceki çalışmalarda bildirildiği üzere, propolis ekstraktının kitosan (Siripatrawan & Vitchayakitti, 2016) ve kitosan/zein (Xue vd., 2021) filmlerine yüklenmesi hem daha yüksek %U hem de ÇM değerleri vermiştir. Daha önceki bir çalışma, filmlerin yapısındaki düzensizliklerin filmlerin mekanik özelliklerini negatif yönde etkileyebileceğini ve propolis ekstraktı ilavesinin

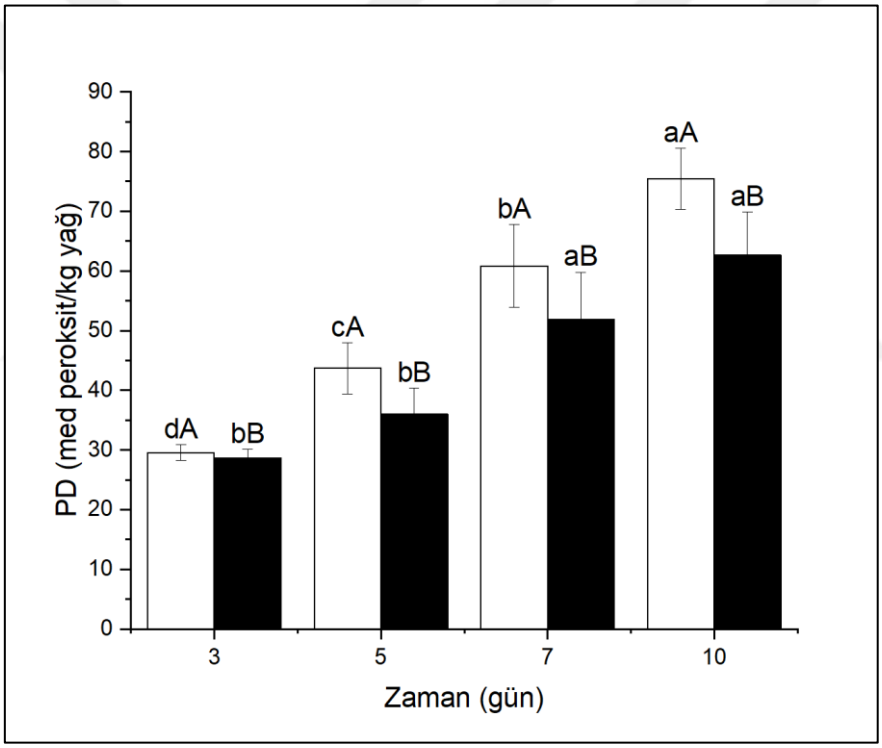
kitosan film yüzeyini daha homojen hale getirdiğini göstermiştir (Correa-Pacheco vd., 2019). Bu nedenle, BEF örneklerinde kurutma işlemi sonrasında meydana gelen yağ kümeleşmesi ve böylece kitosan matrisinde meydana gelen düzensizlikler, daha düşük ÇM ve %U değerlerinin nedeni olabilir.

4.2.2 Filmlerin Su Buharı ve Oksijen Geçirgenlikleri

Yenilebilir filmlerin SBG'si gıda ve çevresi arasındaki nem transferini kontrol etmede önemli bir faktördür. Saf kitosan filmlerin SBG değerlerinin 0,65 gmm/m^2.d.Pa (Siripatrawan & Vitchayakitti, 2016) ve 0,403 gmm/m^2.d.Pa (Valenzuela vd., 2013) olduğu ve filmlere propolis ekstraktı eklenmesinin propolisin hidrofobik doğası nedeniyle SBG değerlerini azalttığı bildirilmiştir (Xue vd., 2021). Ancak şaşırtıcı bir şekilde, PEF örneği (0.22 gmm/m^2.d.Pa), BEF'e (0.18 gmm/m^2.d.Pa) kıyasla önemli ölçüde daha yüksek SBG sergilemiştir (Tablo 4.3). Bu durum emülsiyon ve lipid katkılı filmlerin kurutulması sırasında meydana gelen yağ agregasyon ile ilişkili olabilir (Zúñiga vd., 2012). Emülsiyon bazlı filmlerde, su buharının büyük bir çoğunluğu hidrofilik polimer matrisi boyunca hareket etmektedir, bu nedenle film matrisindeki yağ damlacıklarının dağılımı ve filmlerin mikroyapısı SBG'yi büyük ölçüde etkilemektedir. Filmlerin yüzeyi kuruduktan sonra daha fazla hidrofobik fraksiyona sahip olursa, neme karşı daha yüksek bariyer özelliği sağlanmaktadır (Morillon vd., 2002). Film çözeltisinin kurutulması sırasında suyun buharlaşması sürekli fazın viskozitesini artırırken emülsiyon tabakasının başlangıçtaki kalınlığını azaltır. Kurumanın sonraki aşamasında, sürekli faz katılaşıp küçüldükçe deformasyon kuvvetleri nedeniyle yağ damlacıkları üzerinde basınç artarak damlalarının birleşmesine ve agregasyona yol açar (Zúñiga vd., 2012).

Aynı miktarlardaki film çözeltileri aynı boyutlardaki petri kaplarına dökülmesine rağmen, BEF örneğinin kuruduktan sonra PEF örneğine kıyasla daha fazla büzüştüğü gözlenmiştir (Şekil 4.2). BEF ve PEF'in toplam kuru madde miktarı sırasıyla %10,5 ve %13,7 (a:a) olmakla birlikte aradaki fark propolis ekstraktından kaynaklanmaktadır. Propolisin farklı polimer çözeltilerinin yüzey gerilimini azalttığı bildirilmiştir, bu nedenle PE ilavesi polisakkarit bazlı filmlerde genellikle kuruma sonrası gözlenen büzülmeyi azaltabilmektedir (de Figueiredo vd., 2022). BEF ile karşılaştırıldığında, yağ damlacıklarının etrafında propolis bulunması, PEF'in yüzeyinde yağ damlacıklarının kümelenmesini önlemiş olabilir. Filmlerin

kuruması sırasında yağ damlacıklarının agregasyonunun polimer matrisinde kesintilere neden olmasının, bu filmlerin yüzey pürüzlülüğünü artırması beklenmektedir (Zúñiga vd., 2012). Bu nedenle, PEF örneğinde kitosanın hidrofilik matrisi daha fazla korunmuş ve bu durum daha yüksek SBG ile sonuçlanmış olabilir. Şekil 4.2'de BEF örneğinin yüzeyinde yağ kümeleri SEM görüntülerinde de görülebilmektedir. Dolayısıyla BEF'in daha hidrofobik karaktere sahip yüzeyi daha yüksek nem bariyeri sağlamış olabilir. Ayrıca yağ damlacıklarının boyutunun da emülsiyonla yüklü filmlerin SBG'sini etkilediği bildirilmiştir. Oliveira Filho vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada nişasta bazlı filmlerde mikrometrik damlacıklara kıyasla nanometrik damlacıklara sahip emülsiyonların filmlere eklenmesiyle daha düşük bir SBG gözlemlemiştir.



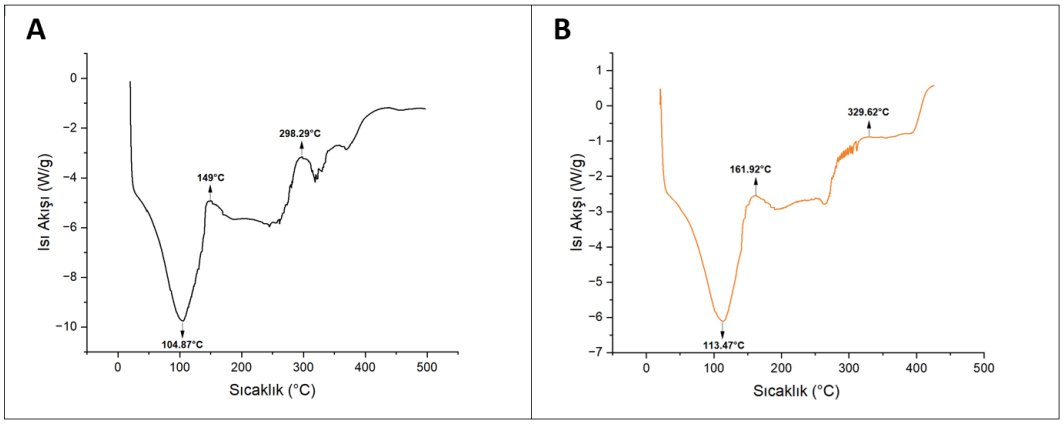
Şekil 4.3 Filmlerin oksijen geçirgenliği analizi peroksit değerleri. Farklı küçük ve büyük harfli değerler istatistiksel olarak farklıdır ($p<0,05$). Küçük harfler aynı filmin farklı depolama günleri arasındaki farkları, büyük harfler ise aynı depolama gününde BEF ile PEF arasındaki farkı göstermektedir. Beyaz sütunlar: BEF (boş emülsiyon yüklü film); siyah sütunlar: PEF (propolis emülsiyonu yüklü film).

Ağzı BEF ile kapatılmış tüplerde bulunan yağ örneklerinin peroksit değeri (PD), 10 günlük depolama süresince her zaman PEF'den daha yüksek olmuştur ($p<0.05$). BEF'de depolama ile 29,53 ± 1,33 ila 75,47 ± 5,12 med peroksit/kg arasında artarken, PEF'de 28,67 ± 1,42 ila 62,67 ± 7,16 med peroksit/kg arasında değişmiştir

(Şekil 4.3). Depolamanın her gününde PEF'in daha yüksek oksijen bariyeri özelliği, propolis fenolikleri tarafından filmden difüze olan oksijenin tüketilmesi ile açıklanabilir. Bu durum ayçiçek yağının oksidasyonunu engelleyebilir ve BEF ile kaplanmış yağ örneğine kıyasla PD'yi düşürebilir. Propolis ekstraktı yüklü kitosan filmlerde oksijen geçirgenliğinin azaldığı daha önce de bildirilmiştir. Gaz geçirgenliği filmin mikroyapısına, polimer yapısındaki boşluk hacmine ve polimer zincirinin düzenine bağlıdır (Siripatrawan & Vitchayakitti, 2016). BE'nin kitosan matrisine dahil edilmesiyle karşılaştırıldığında, PE'nin varlığı muhtemelen polimer zincir-zincir etkileşimini sıkılaştırmış, serbest hacmi ve polimerin moleküler hareketliliğini azaltmış, dolayısıyla daha iyi oksijen bariyer özellikleri sağlamıştır.

4.2.3 Filmlerin Termal Özellikleri ve FTIR Spektrumunun İncelenmesi

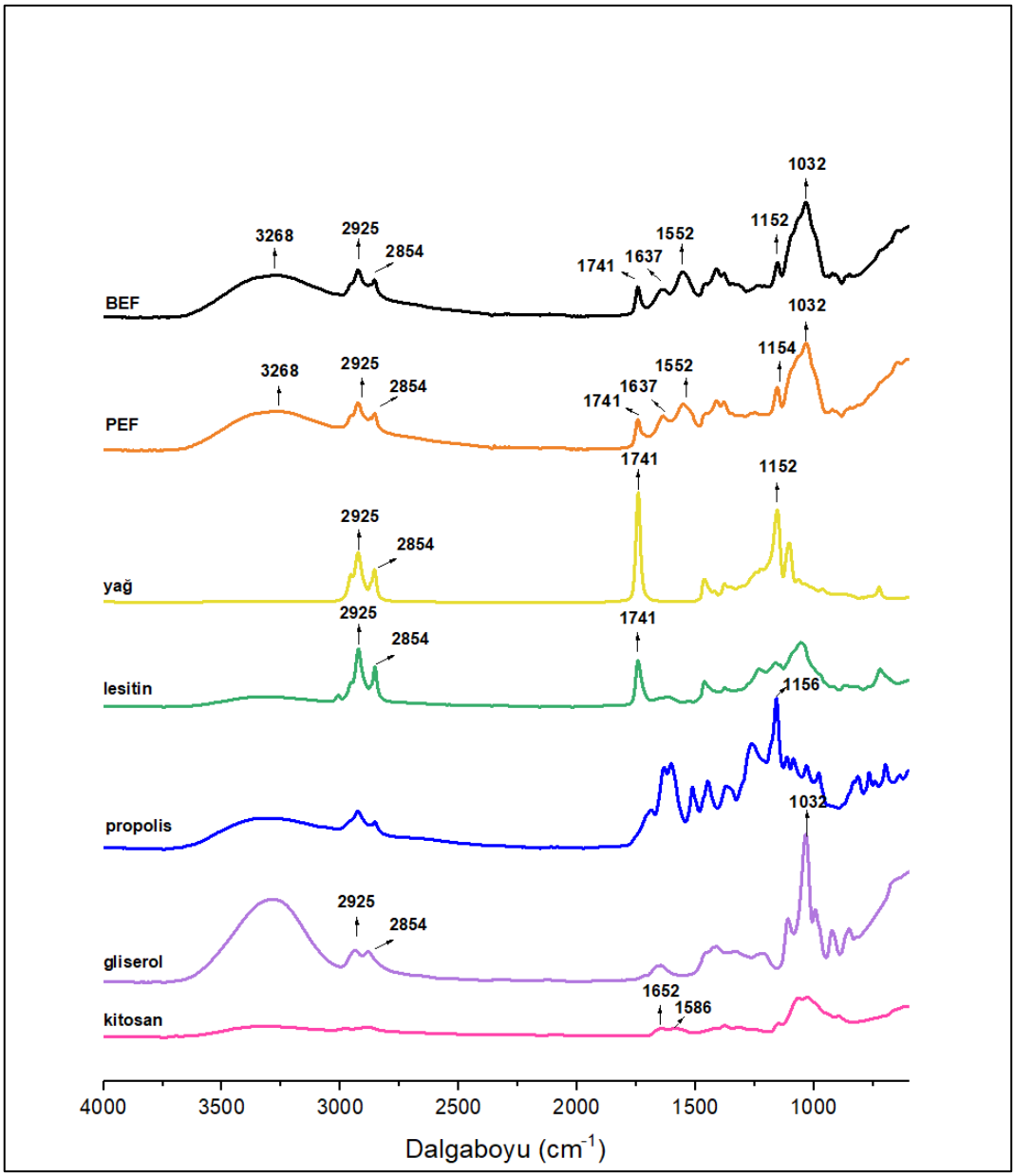
Filmlerin termal özelliklerini değerlendirmek için DSC kullanılmıştır (Şekil 4.4). Grafiklere göre, BEF 104,87 °C'de endotermik bir pik sergilemiştir. Bu pik PEF'de 113,43 °C'ye kaymıştır, bu da daha kompakt yapı ve daha düşük nem içeriği nedeniyle suyun uzaklaştırılmasının zorlaştığını göstermektedir (Xue vd., 2021). BEF'de 149 °C'deki ekzotermik pik, PEF'de 161 °C gibi daha yüksek bir sıcaklığa kaymıştır. Propolis polifenollerin polimer zincirleri arasında olası çapraz bağlanma etkisi daha kristal bir yapının oluşmasına yol açabilir (De Carli vd., 2022). Bu nedenle, PEF'in daha yüksek termal stabilitesi, polimer zincirleri arasında daha güçlü etkileşimlerle ilişkilendirilebilir. BEF ve PEF termogramlarında sırasıyla 261 ve 264 °C'de gözlenen endotermik pikler gliserolün buharlaşmasından kaynaklanabilir. Saf gliserolün buharlaşması (296 °C), plastikleştirici ajan olarak PVA/kitosan filmlerine eklendiğinde daha düşük sıcaklıklara kaymıştır (Liang vd., 2009). BEF ve PEF termogramlarında sırasıyla 296 ve 329 °C'deki ekzotermik pikler ise, kitosanın termal bozunmasını göstermektedir (Sutharsan vd., 2022).



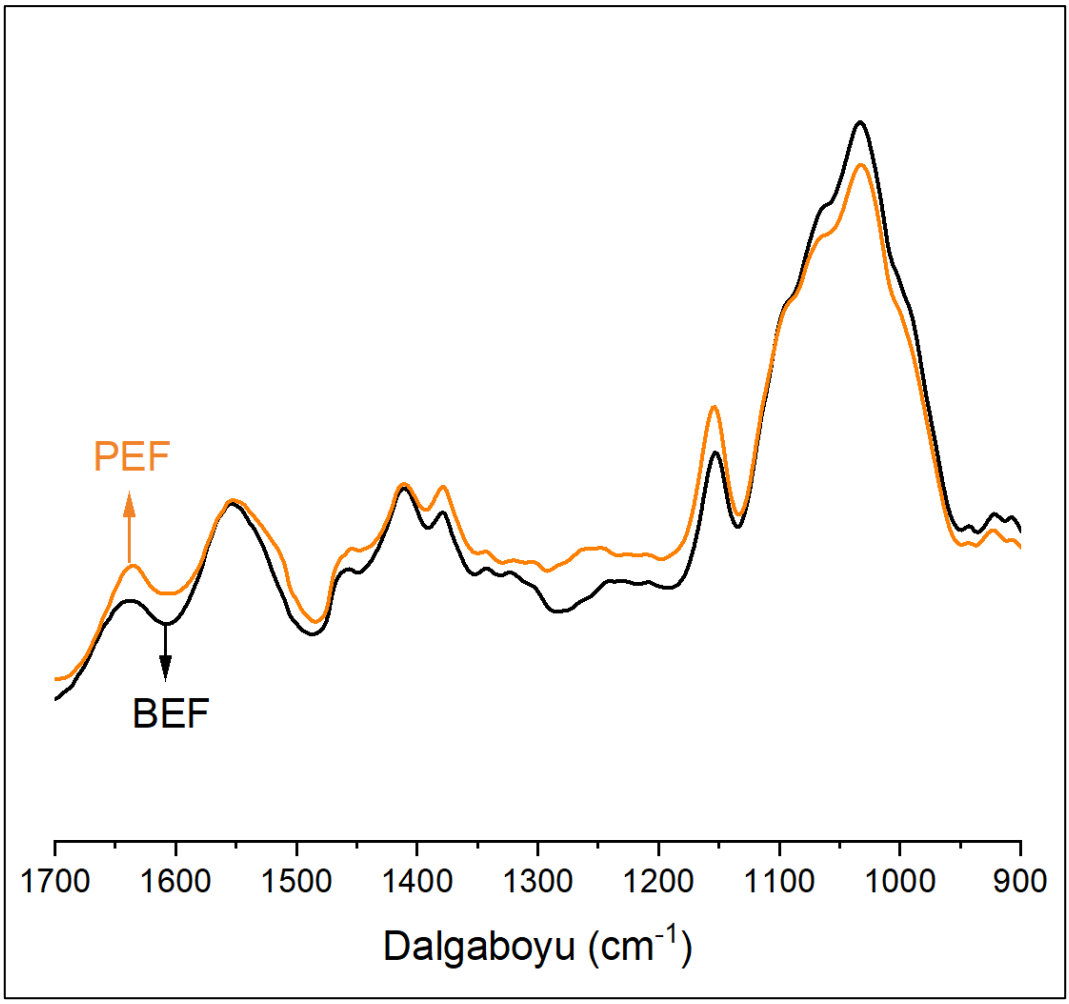
Şekil 4.4 Film örneklerinin DSC termogramları BEF (A) ve PEF (B). BEF: boş emülsiyon yüklü film; PEF: propolis emülsiyonu yüklü film.

BEF ve PEF ile propolis ekstraktı, ayçiçeği lesitini, yağ, kitosan ve gliserolün FTIR spektrumları Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Her iki filmde de (BEF ve PEF) 3268 cm^{-1} bandında gözlenen pik, bağlı ve bağlı olmayan hidroksil (-OH) gruplarının gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. 2925 ve 2854 cm^{-1}'deki bantlar propolis ekstraktı, lesitin ve yağda gözlenen asimetrik ve simetrik C-H germe titreşimleri ile ilişkilendirilmiştir. Propolis ekstraktının spektrumundaki bu absorpsiyon bantları yapısındaki balmumu kalıntılarıyla ilişkili olabilir. Lesitin ve yağın spektrumunda 1741 cm^{-1}'de güçlü bir pik gözlenmiştir; bu pik her iki filmde de yağ asitlerinin simetrik C=O ester titreşimiyle ilişkilidir. Kitosan spektrumundaki 1652 ve 1586 cm^{-1}'deki bantlar amid karbonil gerilmesini (amid I bandı) ve N-H (amid II) bükülme titr-şimlerini göstermektedir ve gliserolün ilavesiyle her iki filmde de bu bantlar 1637 ve 1552 cm^{-1}'e kaymıştır. Gliserolün -OH grupları ile kitosanın -NH grupları arasındaki hidrojen bağı etkileşimleri ve bunun sonucunda ortaya çıkan plastikleştirme etkisi daha önceki çalışmalarda da belirtilmiştir (Scott vd., 2024). Gliserol spektrumunda CO gerilme titreşimlerine karşılık gelen 1032 cm^{-1}'deki bant, filmlerde genişleyen bir pik olarak ortaya çıkmıştır. Propolis ekstraktının spektrumunda, 1700-1600 cm^{-1}'deki pikler, flavonoidlerin C=C ve C=O gerilme titreşimlerine ek olarak amino asitlerin N-H asimetrik gerilmesini göstermektedir. 1260-1100 cm^{-1} arasındaki pikler, alifatik asitlerin C-O asimetrik germe ester titreşimine karşılık gelir ve maksimum absorpsiyon 1156 cm^{-1}'de tespit edilmiştir (Laaroussi vd., 2021). Filmlerin FTIR spektrumları incelendiğinde her iki filmin IR spektrumları çok benzer olduğu görülmektedir. Yalnızca PEF örneğindeki propolis ekstraktının etkisiyle bazı piklerin yoğunluğu artmış ve daha yüksek bir dalga

boyuna kaymıştır. Örneğin, yağda 1152 cm^{-1}'de yağ asitlerinin C-O-C bağ gerilme titreşimlerine atfedilen bir pik, PEF'te 1154 cm^{-1}'de, BEF'e kıyasla daha yüksek bir dalgaboyunda görülmüştür (Şekil 4.6)



Şekil 4.5 BEF, PEF ve film bileşenlerinin FTIR spektrumları. BEF: boş emülsiyon yüklü film; PEF: propolis emülsiyonu yüklü film.



Şekil 4.6 BEF ve PEF örneklerinin FTIR spektrumları. BEF: boş emülsiyon yüklü film; PEF: propolis emülsiyonu yüklü film.

4.3 Çileklerin Karakterizasyonu

4.3.1 Çileklerde Toplam Çözünür Katı Madde (%), Titre Edilebilir Asidite (%), Ağırlık kaybı (%) ve Sertlik

Depolama sırasında hem BEF ve PEF kaplı hem de kaplanmamış kontrol çileklerin TÇKM% değerlerinde hafif bir düşüş gözlenmiştir (Tablo 4.4). Bununla birlikte, başlangıç değerleriyle karşılaştırıldığında, fark sadece 14. günde kaplanmamış ve BEF kaplanmış örneklerde anlamlı hale gelmiş, ancak PEF kaplanmış çileklerde anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir ($p>0,05$). Bunun nedeni PEF'in oksijene karşı daha üstün bir bariyer sağlayarak oksidatif bozulma reaksiyonlarını yavaşlatması olabilir. Depolama sonunda organik asit içeriğindeki azalmanın da başlangıç seviyelerine kıyasla kaplanmamış ve BEF kaplanmış örneklerde daha belirgin olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Depolanan çileklerin titre edilebilir asitliği

%1,28 ile %1,58 arasında değişmiş ve bu değerlerin literatürde verilen değerlerle uygun olduğu saptanmıştır (%0,6 ile %2,3) (Velickova vd., 2013). Meyvelerdeki solunum, depolama sırasında meyvelerde metabolik aktivitelerin sürdürülebilmesi için çözünür katı maddelerin ve organik asitlerin tüketilmesiyle sonuçlanmaktadır (Jiang vd., 2019). Başlangıç seviyelerine kıyasla, kaplanmamış ve BEF kaplanmış çileklerin pH'ı depolama sonunda artmıştır ($p<0.05$). Buna karşılık, PEF kaplı çileklerdeki pH değişikliğinin istatiksel olarak önemli olmaması, hasat sonrası depolama sırasında hem metabolik aktivitenin hem de mikrobiyal faaliyetin azalmasıyla ilişkili olabilir (Perdones vd., 2014).

Ağırlık kaybı, meyvelerde terleme ve solunum gibi mekanizmaların bir sonucudur (Nasrin vd., 2023). 14 günlük depolama süresince kaplanmış ve kaplanmamış tüm çileklerde sürekli bir ağırlık kaybı görülmüştür. Depolama süresinin sonunda, elde edilen ağırlık kaybı (%) tüm örneklerde benzer olmasına rağmen (Tablo 4.4), depolama sırasında kontrol çileklerdeki ağırlık kaybının daha yüksek bir oranda arttığı gözlemlenmiştir. PEF kaplama BEF'e kıyasla çileklerin ağırlık kaybı (%) açısından herhangi bir üstünlük göstermemiştir. Bu durum BEF kaplamalarının daha iyi su buharı bariyeri özelliği göstermesinden kaynaklanıyor olabilir. Martínez-González vd. (2020) propolis nanopartikülleri yüklü kitosan film ile kaplanmış çilekleri 8 gün boyunca 4 °C'de depolamıştır. Kontrol meyvelerindeki ağırlık kaybı oranı depolama sırasında daha yüksek olurken, sadece kitosan film ile kaplanan çilekler kontrole kıyasla biraz daha düşük ağırlık kaybı göstermiş, propolis nanopartikülleri içeren kitosan film ise depolama sırasında meyvelerin nem içeriğini daha iyi korumuştur ($p<0.05$). Öte yandan, Aparicio-García vd. (2021) 12 günlük soğukta depolama süresince incirlerde ağırlık kaybını azaltmada saf kitosan filminin, propolis ekstraktı yüklü kitosan filmine kıyasla daha iyi performans gösterdiğini bildirilmiştir.

Depolama süresi boyunca hem kaplanmamış hem de kaplanmış tüm çilek örneklerinde yumuşama görülmüştür (Tablo 4.4). Çileklerin hasat sonrasında sertliklerini kaybetmeleri, hücre duvarlarındaki pektinin çözünürlüğünün artması, pektinin moleküler kütlesinin azalması ve toplam hemiselüloz miktarının azalması gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Hernández-Muñoz vd., 2008). Yenilebilir kaplamalar genellikle depolama sırasında yumuşamayı azaltmaktadır, ancak PEF ve BEF bu özelliği sağlamamıştır. Bunun nedeni, film formülasyonlarındaki yüksek

yağ ve lesitin konsantrasyonu olabilir. Bu yağ bazlı bileşenler potansiyel olarak çilek yüzeylerindeki kütikül tabakası gibi mumsu bileşenlerle etkileşime girerek polisakkarit ağının zayıflamasına neden olmuş olabilir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, limon esansiyel yağı yüklü kitosan, pektin ve pektin/kitosan filmleri ile kaplanan çilekler, kaplanmamış çileklerle yaklaşık aynı miktarda kütle ve sertlik kaybetmiştir (Abdalla vd., 2023). Bu çalışmada, PE kitosan çözeltisine yüklendiğinde, en yüksek PE oranının yüklenmesi hedeflenmiştir. PEF çözeltisinde propolis ekstraktı/ lesitin/yağ/kitosan ağırlık oranı yaklaşık olarak 1,33/1,08/3,5/1,32 civarındadır (Tablo 2.1), bu da polimer ağırlığı başına yüksek miktarda yağ ve lesitin karışımı olduğunu göstermektedir. Gelecekteki bir çalışmada, propolisin antifungal özelliklerini hala sağlayan daha düşük miktarda PE'nin film polimerine dahil edilmesi, kaplanmış çileklerin ağırlık ve sertlik kaybının da olumlu yönde etkilenmesi için değerlendirilebilir.

Tablo 4.4 Depolama süresince çileklerin toplam çözünür katı madde (%), titre edilebilir asitlik (%), pH, ağırlık kaybı (%) ve sertlik değerleri.

Depolama süresi (gün)	TÇKM (%)			TA (%)			pH			Ağırlık kaybı (%)			Sertlik (N)		
	K	BEF	PEF	K	BEF	PEF	K	BEF	PEF	K	BEF	PEF	K	BEF	PEF
0	7.08 ± *0.14^{aA}*	7.22 ± *0.38^{aA}*	7.25 ± *0.00^{aA}*	1.65 ± *0.11^{abcA}*	1.94 ± *0.22^{aA}*	1.89 ± *0.03^{aA}*	3.52 ± *0.09^{bA}*	3.55 ± *0.04^{cA}*	3.64 ± *0.07^{aB}*	0.00	0.00	0.00	0.30 ± *0.05^{bA}*	0.31 ± *0.03^{bA}*	0.30 ± *0.04^{bcA}*
4	6.92 ± *0.14^{aA}*	6.92 ± *0.14^{abA}*	7.42 ± *0.52^{aA}*	1.88 ± *0.16^{abA}*	1.63 ± *0.08^{abA}*	1.61 ± *0.13^{aA}*	3.60 ± *0.06^{bB}*	3.69 ± *0.04^{bAB}*	3.80 ± *0.04^{aA}*	1.01 ± *0.41^{cA}*	0.66 ± *0.29^{cA}*	0.97 ± *0.38^{cA}*	0.48 ± *0.08^{aA}*	0.46 ± *0.06^{aA}*	0.45 ± *0.08^{aA}*
7	6.83 ± *0.14^{aA}*	7.00 ± *0.50^{abA}*	7.04 ± *0.07^{aA}*	1.99 ± *0.19^{aA}*	1.80 ± *0.07^{aA}*	1.86 ± *0.15^{aA}*	3.48 ± *0.03^{bB}*	3.72 ± *0.03^{bA}*	3.78 ± *0.02^{aA}*	1.39 ± *0.29^{cA}*	1.13 ± *0.26^{bA}*	1.28 ± *0.53^{bcA}*	0.41 ± *0.06^{aA}*	0.37 ± *0.07^{bA}*	0.39 ± *0.08^{abA}*
10	6.13 ± *0.87^{aA}*	6.65 ± *0.40^{abA}*	6.69 ± *0.49^{aA}*	1.55 ± *0.02^{bcC}*	1.92 ± *0.05^{aA}*	1.78 ± *0.02^{aB}*	3.78 ± *0.01^{aA}*	3.64 ± *0.04^{bcB}*	3.61 ± *0.06^{bB}*	1.93 ± *0.38^{bA}*	1.41 ± *0.49^{bA}*	1.79 ± *0.52^{abA}*	0.29 ± *0.07^{bA}*	0.29 ± *0.06^{bA}*	0.27 ± *0.05^{cA}*
14	6.08 ± *0.14^{aB}*	6.23 ± *0.04^{bB}*	6.58 ± *0.14^{aA}*	1.28 ± *0.05^{cB}*	1.34 ± *0.05^{bB}*	1.58 ± *0.07^{aA}*	3.83 ± *0.01^{aA}*	3.83 ± *0.01^{aA}*	3.69 ± *0.01^{abB}*	2.44 ± *0.36^{aA}*	2.35 ± *0.52^{aA}*	2.31 ± *0.39^{aA}*	0.18 ± *0.01^{cA}*	0.21 ± *0.02^{cA}*	0.21 ± *0.04^{cA}*

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen değerler ile aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$). K: kaplanmamış kontrol; BEF: boş emülsiyon film kaplı çilekler; PEF: propolis emülsiyon film kaplı çilekler; TÇKM: toplam çözünür katı madde (%); TA: titre edilebilir asitlik N: Newton.

4.3.2 Toplam Antosiyanin, Toplam Fenolik, Askorbik Asit Miktarları ve Antioksidan Aktivite

PEF kaplı çileklerin depolamanın ilk gününde diğer örneklere göre daha yüksek TFM değerlerine sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca hem BEF hem de PEF kaplı çilekler kontrol çileklere göre daha yüksek DPPH ve ABTS radikal yakalama aktiviteleri göstermiştir (Tablo 4.5). Depolama sırasında, TFM'deki değişim kontrol ve kaplı meyveler için farklı olmuştur. Kontrol çileklerde depolamanın 7. gününde TFM'de 2.47'den 4.00 mg GAE/g'a bir artış ve 14. günde 3.56 mg GAE/g'a hafif bir düşüş göstermiştir. BEF kaplı örneklerde en yüksek konsantrasyon 14. günde (3.38 mg GAE/g) gözlenirken, PEF kaplı örneklerde depolama sırasında önemli bir değişiklik olmamıştır (3.86-4.04 mg GAE/g). Depolama süresinin sonunda, örneklerin DPPH ve ABTS radikal yakalama aktivitelerinin uygulamalar arasında önemli ölçüde farklı olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

Çileklerin 0 °C'den daha yüksek sıcaklıklarda depolandıklarında yüksek AA, TAM ve TFM değerlerine sahip olduğu ve bu artışların büyüklüğünün depolama sıcaklığı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (S. Y. Wang & Gao, 2013). Meyvelerde aşırı olgunlaşma ve çürümeye yol açan oksidasyon ve mikrobiyal bozulma reaksiyonları nedeniyle, bu bileşikler daha uzun depolama sürelerinde azalmaya başlamıştır. Kaplanmış çilekler, depolama sonuna kadar kontrol örneklerinde gözlenen TAM ve TFM düşüşünü göstermemiş ve PEF kaplı çilekler depolama süresinin sonunda daha yüksek fenolik ve antosiyanin içeriğini korumuştur.

Depolama süresi boyunca, kaplanmış ve kaplanmamış çilekler arasında AsA içeriğinde kayda değer bir azalma olmuştur (Tablo 4.6), ancak bu azalma kaplanmış çileklerde daha düşük olmuştur. 14 günlük depolamadan sonra, başlangıçtaki AsA içeriği (63,58 mg/100 g çilek) kontrol çilek örneklerinde 36,52 mg/100 g'a düşmüştür. AsA'nın degradasyonu kaplama ile geciktirilirken, depolama sonunda AsA miktarları BEF ve PEF kaplı çileklerde sırasıyla 53,30 ve 56,82 mg/100g olarak ölçülmüştür. Kontrol çileklerde AsA sentezi ve kaybı ile kaplanmış çileklerde buzdolabında depolama sırasında AsA değişimindeki gecikme daha önceki çalışmalarda da bildirilmiştir. Kaplanmış çileklerdeki daha düşük oksijen difüzyonu, enzimlerin aktivitesini düşürerek oksidasyonunu önleyebilmektedir (Petriccione vd., 2015).

Tablo 4.5 Depolama süresince çileklerin toplam fenolik miktarı ve antioksidan aktivitesi.

	0. gün			**7. gün**			**14. gün**		
	K	BEF	PEF	K	BEF	PEF	K	BEF	PEF
TFM (mg GAE/g)	2.47 ± *0.26^{bB}*	2.88 ± *0.3^{bB}*	3.86 ± *0.55^{aA}*	4.00 ± *0.51^{aA}*	3.08 ± *0.08^{abB}*	3.29 ± *0.57^{aB}*	3.56 ± *0.05^{aB}*	3.38 ± *0.09^{aC}*	4.04 ± *0.04^{aA}*
DDPH (mg TE/g)	13.93 ± *0.79^{aB}*	15.02 ± *0.67^{aAB}*	15.41 ± *0.36^{aA}*	15.64 ± *0.94^{aA}*	15.35 ± *0.27^{aA}*	15.55 ± *0.44^{aA}*	15.39 ± *0.03^{aA}*	15.73 ± *0.33^{aA}*	15.74 ± *0.07^{aA}*
ABTS (mg TE/g)	4.13 ± *0.06^{bC}*	5.83 ± *0.29^{aB}*	6.46 ± *0.23^{aA}*	6.20 ± *0.26^{aA}*	5.27 ± *0.14^{bB}*	5.28 ± *0.18^{bB}*	5.93 ± *0.08^{aAB}*	5.86 ± *0.08^{aB}*	6.23 ± *0.07^{aA}*

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Farklı büyük harfli değerler uygulamalar arasında, farklı küçük harfli değerler ise depolama günleri arasında istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$). K: kontrol-kaplanmamış çilekler; BEF: boş emülsiyon film kaplı çilekler; PEF: propolis emülsiyon film kaplı çilekler; TFM: toplam fenolik miktarı; DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil antioksidan aktivite analizi; ABTS: ABTS 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin)-6-sülfonik asit diamonyum tuzu antioksidan aktivite analizi; GAE: gallik asit eşdeğeri; TE: Trolox eşdeğeri.

Tablo 4.6 Depolama süresince çileklerin toplam antosiyanin miktarı ve askorbik asit miktarı.

	0. gün			**7. gün**			**14. gün**		
	K	BEF	PEF	K	BEF	PEF	K	BEF	PEF
TAM[1] (mg SGE/100 g)	44.09 ± *3.79^{abA}*	44.09 ± *3.79^{aA}*	44.09 ± *3.79^{bA}*	38.41 ± *2.36^{bA}*	52.99 ± *3.80^{aA}*	55.61 ± *2.13^{aA}*	50.10 ± *1.89^{aA}*	53.43 ± *1.89^{aA}*	57.67 ± *0.77^{aA}*
TAM[2] (mg SGE/100 g)	73.23 ± *2.93^{bA}*	73.23 ± *2.93^{bA}*	73.23 ± *2.93^{bA}*	99.08 ± *2.04^{aA}*	85.93 ± *4.53^{aB}*	103.13 ± *4.21^{aA}*	59.00 ± *2.26^{cB}*	81.7 ± *4.29^{abA}*	92.65 ± *3.32^{aA}*
AsA (mg AsA/100 g)	63.58 ± *3.57^{aA}*	63.58 ± *3.57^{aA}*	63.58 ± *3.57^{aA}*	34.73 ± *0.25^{bB}*	42.63 ± *1.40^{cA}*	43.64 ± *0.34^{bA}*	36.23 ± *1.53^{bB}*	53.30 ± *0.7^{bA}*	56.82 ± *0.11^{aA}*

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Farklı büyük harfli değerler uygulamalar arasında, farklı küçük harfli değerler ise depolama günleri arasında istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$). K: kontrol-kaplanmamış çilekler; BEF: boş emülsiyon film kaplı çilekler; PEF: propolis emülsiyon film kaplı çilekler; TAM[1]: pH diferansiyel yöntemiyle belirlenen toplam antosiyanin miktarı; TAM[2]: HPLC yöntemiyle belirlenen toplam antosiyanin miktarı; AsA: askorbik asit ; SGE: siyanidin-3-O-glukozit eşdeğeri.

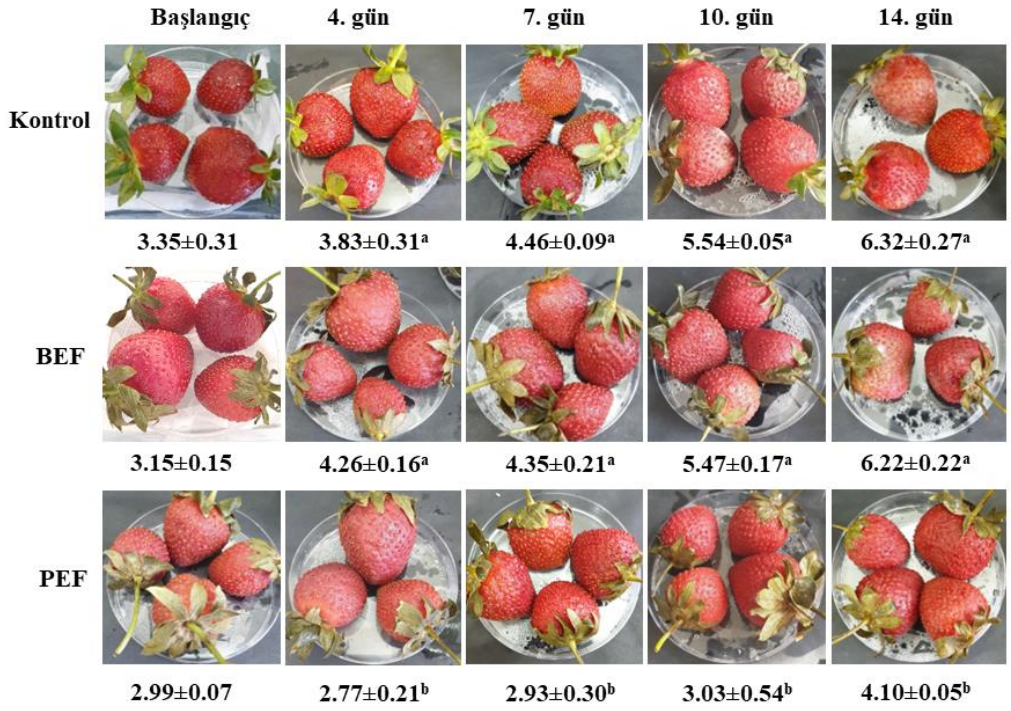
4.3.3 Çileklerde *Botrytis cinerea* Gelişimi

B. cinerea'nın neden olduğu gri küf, dünya çapında en yaygın tüketilen meyvelerden biri olan çileklerde yaygın bir sorundur. Bu bitki patojeni tarla, depolama, nakliye ve marketler dahil olmak üzere tüm üretim zinciri boyunca kayıplara neden olmaktadır. Gri küfün varlığı, yetiştiriciler, nakliyeciler ve tüketiciler tarafından meyvelerin atılmasındaki en yaygın nedenlerden biridir ve önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Petrasch vd., 2019).

Depolamanın ilk 7 günü boyunca kontrol ve BEF kaplanmış çilek gruplarının yüzeyinde gözle görülür bir küf oluşumu gözlenmezken, sonraki günlerde küf oluşumu görünür hale gelmiştir. PEF kaplı meyvelerde ise 14 günlük depolama süresi boyunca gözle görülür bir küflenme görülmemiştir (Şekil 4.5). Kontrol ve BEF kaplanmış çileklerle karşılaştırıldığında, PEF kaplama 4 °C'deki depolama süresinin her gününde çileklerde daha büyük bir antifungal etki sağlamıştır ($p<0.05$). Depolamanın başlangıcında küf sayısı tüm örneklerde yaklaşık 3 log CFU/g iken, kontrol ve BEF kaplanmış çilekler depolamanın sonunda (14. gün) en az 3 log CFU/g artış göstermiştir. PEF kaplı çileklerde ise yalnızca 1 log CFU/g artış tespit edilmiştir. Depolamanın 4. gününden itibaren, PEF kaplama diğer örneklere kıyasla istatistiksel bir fark göstermiş ve depolama sonuna kadar küf sayımlarında en az 2 log CFU/g fark gözlenmiştir ($p<0,05$).

Önceki çalışmalar propolisin yenilebilir filmlere yüklenmesinin antifungal bir etki sağladığını göstermiştir. Örneğin, Moreno vd. (2020) zein ve jelatinden yapılan yenilebilir filmlerin propolis ekstraktı içermemesi durumunda, 5 °C'de 11 gün boyunca depolanan tüm kaplanmış ahududularda çürüme oranının %90 civarında olduğunu bildirmiştir. Aparicio-García vd. (2021) yaralanmış ve *Aspergillus flavus* ile inoküle edilmiş incir meyvelerini propolis yüklü kitosan filmlerle kaplamış ve 4 °C'de 12 gün boyunca depolamıştır. Saf kitosan kaplı meyvelerle karşılaştırıldığında, filmler propolis ve propolis nanopartikülleri ile yüklendiğinde çürüme oranı (%) yaklaşık %30 daha düşük olmuştur. Ayrıca, depolama sonunda, propolis yüklü filmlerle kaplanmış incir meyvelerindeki aflatoksin içeriğinin (yaklaşık 25 ppb) yalnızca kitosan kaplı incirlerdeki aflatoksin miktarının yaklaşık yarısı kadar olduğunu bildirmiştir.

Torlak ve Sert'in (2013) çalışmasında, kitosan-propolis kaplı polipropilen filmleri, 24 saatlik maruz kalma süresi boyunca kontrol filmine kıyasla patojenlerin sayısını 3,87 log ile 5,58 log arasında değişen oranlarda azaltmıştır. (De Carli vd., 2022) ve (Siripatrawan & Vitchayakitti, 2016) saf kitosan filmlerin özellikle gram-negatif bakterilere ve küflere karşı inhibisyon göstermediğini, ancak filmler propolis ile zenginleştirildiğinde test edilen tüm mikroorganizmalara karşı etkili olduğunu bildirmiştir. Saf veya aktif bileşik yüklü kitosan filmlerin antibakteriyel etkinlik gösterebilmeleri için hem kitosan moleküllerinin hem de yüklü bileşiklerin filmlerden salınması ve yayılması gerekmektedir (Torlak & Sert, 2013). Düşük su içeriğine sahip gıdalar bile kitosan filmleriyle kaplandığında, gıdalarki suyun filmlere geçmesi kitosan moleküllerinin ve antimikrobiyal aktivite sağlayan propolisin fenolik bileşiklerinin serbest bırakılması için yeterli olmaktadır (Torlak & Sert, 2013; Uzel vd., 2005). Bu nedenle, PEF kaplama depolama sırasında *B. cinerea* gelişimini engelleyerek çileklerin raf ömrünü uzatmaya yardımcı olabilir. de Castro vd. (2013) propolisin metakaspaz ve Ras sinyali aracılığı ile indüklenen hücre ölümünün antifungal aktivitesi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Propoliste bulunan başta CAPE dahil olmak üzere kafeik asit, sinnamik asit ve türevlerinin antifungal özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Korošec vd., 2014) ve bu çalışmada kullanılan propolis ekstraktında da bu bileşenler tespit edilmiştir (Saroglu & Karadag, 2024).



Şekil 4.7 Yenilebilir kaplamaların Botrytis cinerea gelişimi üzerindeki etkisi (log CFU/g). Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfli değerler istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$). C: kaplanmamış/kontrol çilekler; BEF: boş emülsiyon yüklü film kaplı çilekler; PEF: propolis emülsiyonu yüklü film kaplı çilekler.

5
SONUÇ

Bu çalışma, hidrofobik bir bileşik olan propolisin, herhangi bir sentetik yüzey aktif madde veya organik çözücü kullanılmaksızın, geleneksel bir Y/S emülsiyonu ile hidrofilik yenilebilir film matrislerine başarıyla yüklenebileceğini göstermiştir. PEF, BEF'e kıyasla daha düşük su buharı bariyer özelliğine sahip olmasına rağmen, üstün oksijen bariyeri, termal stabilite, mekanik özellik, antioksidan ve antifungal aktivite sergilemiştir. BEF kurutma sırasında yağ damlacıklarının agregasyonu gözlemlenirken, PEF daha homojen bir yüzey morfolojisi göstermiş ve kurutma işlemi sonrasında büzüşme yaşanmamıştır. Taze çileklerin buzdolabında depolanması sırasında, PEF kaplama organik asit ve TÇKM'de önemli ölçüde daha düşük azalma ve diğer örneklere göre daha yüksek TFM sağlamıştır. Kaplanmamış çileklerle karşılaştırıldığında hem PEF hem de BEF kaplanmış meyveler daha yüksek TAM ve AsA seviyelerine sahip olmuştur. Bu çalışmada geliştirilen emülsiyon bazlı yenilebilir kaplama, ağırlık kaybı ve sertlik açısından istenen etkileri göstermemiştir. Bu nedenle gelecekteki çalışmalar, PE üretimi için kullanılan farklı emülgatörlerin nihai film özellikleri üzerindeki etkisini de araştırabilir. PEF kaplama, depolamanın her gününde *B. cinerea* ile aşılanmış çilekler üzerinde daha yüksek bir antifungal etki sağlamıştır. PEF'in gelişmiş antifungal özellikleri, yapısındaki propolisin fenolik bakımından zengin bileşimiyle ilişkilendirilebilir. Bu çalışmanın bulguları, PE yüklü kitosan filmlerinin çileklerdeki bozulmayı azaltarak raf ömrünü uzatmada etkili bir alternatif sunduğunu ve bu sayede diğer bozulabilir meyvelerin korunmasında da potansiyel faydalar sağlayabileceğini göstermektedir.

KAYNAKÇA

Abdalla, G., Mussagy, C. U., Sant'Ana Pegorin Brasil, G., Scontri, M., da Silva Sasaki, J. C., Su, Y., Bebber, C., Rocha, R. R., de Sousa Abreu, A. P., Goncalves, R. P., Burd, B. S., Pacheco, M. F., Romeira, K. M., Picheli, F. P., Guerra, N. B., Farhadi, N., Floriano, J. F., Forster, S., He, S Herculano, R. D. (2023). Eco-sustainable coatings based on chitosan, pectin, and lemon essential oil nanoemulsion and their effect on strawberry preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, *249*, 126016. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126016

AbuQamar, S., Moustafa, K., & Tran, L. S. (2017). Mechanisms and strategies of plant defense against *Botrytis cinerea*. *Critical Reviews in Biotechnology*, *37*(2), 262-274. https://doi.org/10.1080/07388551.2016.1271767

AOCS. (1997). *Official methods and recommended practices of analysis of association of official chemist* (5. bs).

Aoki, T., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2005). Influence of environmental stresses on stability of O/W emulsions containing droplets stabilized by multilayered membranes produced by a layer-by-layer electrostatic deposition technique. *Food Hydrocolloids*, *19*(2), 209-220. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.05.006

Aparicio-García, P. F., Ventura-Aguilar, R. I., del Río-García, J. C., Hernández-López, M., Guillén-Sánchez, D., Salazar-Piña, D. A., Ramos-García, M. de L., & Bautista-Baños, S. (2021). Edible Chitosan/Propolis Coatings and Their Effect on Ripening, Development of Aspergillus flavus, and Sensory Quality in Fig Fruit, during Controlled Storage. *Plants*, *10*(1), Article 1. https://doi.org/10.3390/plants10010112

Barrera, E., Gil, J., Restrepo, A., Mosquera, K., & Durango, D. (2015). A coating of chitosan and propolis extract for the postharvest treatment of papaya (Carica papaya L. cv. Hawaiiana). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, *68*(2), 7667-7678. https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n2.50982

Basu, A., Nguyen, A., Betts, N. M., & Lyons, T. J. (2014). Strawberry As a Functional Food: An Evidence-Based Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *54*(6), 790-806. https://doi.org/10.1080/10408398.2011.608174

Bouchelaghem, S. (2022). Propolis characterization and antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *29*(4), 1936-1946. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.063

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25-30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., Ramos-García, M. de L., Martínez-González, M. del C., & Hernández-Romano, J. (2019). Physicochemical characterization and antimicrobial activity of edible propolis-chitosan nanoparticle films. *Progress in Organic Coatings*, *137*, 105326. https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.105326

De Carli, C., Aylanc, V., Mouffok, K. M., Santamaria-Echart, A., Barreiro, F., Tomás, A., Pereira, C., Rodrigues, P., Vilas-Boas, M., & Falcão, S. I. (2022). Production of chitosan-based biodegradable active films using bio-waste enriched with polyphenol propolis extract envisaging food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *213*, 486-497. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.155

de Castro, P. A., Bom, V. L. P., Brown, N. A., de Almeida, R. S. C., Ramalho, L. N. Z., Savoldi, M., Goldman, M. H. S., Berretta, A. A., & Goldman, G. H. (2013). Identification of the cell targets important for propolis-induced cell death in Candida albicans. *Fungal Genetics and Biology: FG & B*, *60*, 74-86. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2013.07.001

de Figueiredo, A. C., Anaya-Mancipe, J. M., de Barros, A. O. da S., Santos-Oliveira, R., Dias, M. L., & Thiré, R. M. da S. M. (2022). Nanostructured Electrospun Polycaprolactone—Propolis Mats Composed of Different Morphologies for Potential Use in Wound Healing. *Molecules*, *27*(16), Article 16. https://doi.org/10.3390/molecules27165351

Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C*, *33*(4), 1819-1841. https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010

Galus, S., & Kadzińska, J. (2015). Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology*, *45*(2), 273-283. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.011

Gao, M., Zhang, N., & Liang, W. (2020). Systematic Analysis of Lysine Lactylation in the Plant Fungal Pathogen Botrytis cinerea. *Frontiers in Microbiology*, *11*. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.594743

Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., & Battino, M. (2012). The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, *28*(1), 9-19. https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.08.009

Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, *00*(1), F1.2.1-F1.2.13. https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00

Gniewosz, M., Pobiega, K., Kraśniewska, K., Synowiec, A., Chaberek, M., & Galus, S. (2022). Characterization and Antifungal Activity of Pullulan Edible Films Enriched with Propolis Extract for Active Packaging. *Foods (Basel, Switzerland)*, *11*(15), 2319. https://doi.org/10.3390/foods11152319

Gol, N. B., Patel, P. R., & Rao, T. V. R. (2013). Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, *85*, 185-195. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.008

Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Valle, V. D., Velez, D., & Gavara, R. (2008). Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (Fragaria×ananassa) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*, *110*(2), 428-435. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.020

Hiremani, V. D., Khanapure, S., Gasti, T., Goudar, N., Vootla, S. K., Masti, S. P., Malabadi, R. B., Mudigoudra, B. S., & Chougale, R. B. (2021). Preparation and physicochemical assessment of bioactive films based on chitosan and starchy powder of white turmeric rhizomes (Curcuma Zedoaria) for green packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *193*, 2192-2201. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.050

Irigoiti, Y., Navarro, A., Yamul, D., Libonatti, C., Tabera, A., & Basualdo, M. (2021). The use of propolis as a functional food ingredient: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *115*, 297-306. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.041

Jiang, Y., Yu, L., Hu, Y., Zhu, Z., Zhuang, C., Zhao, Y., & Zhong, Y. (2019). Electrostatic spraying of chitosan coating with different deacetylation degree for strawberry preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, *139*, 1232-1238. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.113

Karakas, C. Y., Ustundag, C. B., Sahin, A., & Karadag, A. (2023). Co-axial electrospinning of liposomal propolis loaded gelatin-zein fibers as a potential wound healing material. *Journal of Applied Polymer Science*, *140*(46), e54683. https://doi.org/10.1002/app.54683

Kerch, G. (2015). Chitosan films and coatings prevent losses of fresh fruit nutritional quality: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *46*(2, Part A), 159-166. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.010

Korošec, B., Sova, M., Turk, S., Kraševec, N., Novak, M., Lah, L., Stojan, J., Podobnik, B., Berne, S., Zupanec, N., Bunc, M., Gobec, S., & Komel, R. (2014). Antifungal activity of cinnamic acid derivatives involves inhibition of benzoate 4-hydroxylase (CYP53). *Journal of Applied Microbiology*, *116*(4), 955-966. https://doi.org/10.1111/jam.12417

Kurt, A., & Kahyaoglu, T. (2014). Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan. *Carbohydrate Polymers*, *104*, 50-58. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.003

Laaroussi, H., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., Bakour, M., Ousaaid, D., Teixeira, J. A., & Lyoussi, B. (2021). Unraveling the chemical composition, antioxidant, α-amylase and α-glucosidase inhibition of Moroccan propolis. *Food Bioscience*, *42*, 101160. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101160

Liang, S., Huang, Q., Liu, L., & Yam, K. L. (2009). Microstructure and Molecular Interaction in Glycerol Plasticized Chitosan/Poly(vinyl alcohol) Blending Films. *Macromolecular Chemistry and Physics*, *210*(10), 832-839. https://doi.org/10.1002/macp.200900053

Martínez-González, M. D. C., Bautista-Baños, S., Correa-Pacheco, Z. N., Corona-Rangel, M. L., Ventura-Aguilar, R. I., Del Río-García, J. C., & Ramos-

García, M. D. L. (2020). Effect of Nanostructured Chitosan/Propolis Coatings on the Quality and Antioxidant Capacity of Strawberries During Storage. *Coatings, 10*(2), 90. https://doi.org/10.3390/coatings10020090

Moreno, M. A., Vallejo, A. M., Ballester, A.-R., Zampini, C., Isla, M. I., López-Rubio, A., & Fabra, M. J. (2020). Antifungal edible coatings containing Argentinian propolis extract and their application in raspberries. *Food Hydrocolloids*, *107*, 105973. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105973

Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G., Capelle, M., & Voilley, A. (2002). Factors Affecting the Moisture Permeability of Lipid-Based Edible Films: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *42*(1), 67-89. https://doi.org/10.1080/10408690290825466

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. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.109

Nair, M. S., Tomar, M., Punia, S., Kukula-Koch, W., & Kumar, M. (2020). Enhancing the functionality of chitosan- and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A review. *International Journal of Biological Macromolecules, 164*, 304-320. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.083

Nascimento, J. I. G., Stamford, T. C. M., Melo, N. F. C. B., Nunes, I. dos S., Lima, M. A. B., Pintado, M. M. E., Stamford-Arnaud, T. M., Stamford, N. P., & Stamford, T. L. M. (2020). Chitosan–citric acid edible coating to control Colletotrichum gloeosporioides and maintain quality parameters of fresh-cut guava. *International Journal of Biological Macromolecules, 163*, 1127-1135. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.067

Nasrin, T. A. A., Arfin, M. S., Rahman, Md. A., Molla, M. M., Sabuz, A. A., & Matin, M. A. (2023). Influence of novel coconut oil and beeswax edible coating and MAP on postharvest shelf life and quality attributes of lemon at low temperature. *Measurement: Food*, *10*, 100084. https://doi.org/10.1016/j.meafoo.2023.100084

Oliveira Filho, J. G. de, Bezerra, C. C. de O. N., Albiero, B. R., Oldoni, F. C. A., Miranda, M., Egea, M. B., Azeredo, H. M. C. de, & Ferreira, M. D. (2020). New approach in the development of edible films: The use of carnauba wax micro- or nanoemulsions in arrowroot starch-based films. *Food Packaging and Shelf Life, 26*, 100589. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100589

Oliveira, J., Silva, P. P. M., Parisi, M. C. M., Baggio, J. S., Gloria, E. M., & Spoto, M. H. F. (2024). Effect of carboxymethylcellulose-based edible coatings incorporating essential oil on *Botrytis cinerea* and strawberry attributes. *Scientia Horticulturae*, *330*, 113024. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113024

Ozcan, B. E., Saroglu, O., Karakas, C. Y., & Karadag, A. (2023). Encapsulation of purple basil leaf extract by electrospraying in double emulsion (W/O/W) filled alginate-carrageenan beads to improve the bioaccessibility of

anthocyanins. *International Journal of Biological Macromolecules*, *250*, 126207. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126207

Pagliarulo, C., Sansone, F., Moccia, S., Russo, G. L., Aquino, R. P., Salvatore, P., Di Stasio, M., & Volpe, M. G. (2016). Preservation of Strawberries with an Antifungal Edible Coating Using Peony Extracts in Chitosan. *Food and Bioprocess Technology*, *9*(11), 1951-1960. https://doi.org/10.1007/s11947-016-1779-x

Pant, K., Sharma, A., Chopra, H. K., & Nanda, V. (2024). Impact of biodiversification on propolis composition, functionality, and application in foods as natural preservative: A review. *Food Control*, *155*, 110097. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110097

Pastor, C., Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2010). Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. *Carbohydrate Polymers*, *82*(4), 1174-1183. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.051

Pastor, C., Sánchez-González, L., Marcilla, A., Chiralt, A., Cháfer, M., & González-Martínez, C. (2011). Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. *Postharvest Biology and Technology*, *60*(1), 64-70. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.11.003

Perdones, Á., Vargas, M., Atarés, L., & Chiralt, A. (2014). Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan–cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. *Food Hydrocolloids*, *36*, 256-264. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.10.003

Petrasch, S., Knapp, S. J., van Kan, J. A. L., & Blanco-Ulate, B. (2019). Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen Botrytis cinerea. *Molecular Plant Pathology*, *20*(6), 877-892. https://doi.org/10.1111/mpp.12794

Petriccione, M., Mastrobuoni, F., Pasquariello, M. S., Zampella, L., Nobis, E., Capriolo, G., & Scortichini, M. (2015). Effect of Chitosan Coating on the Postharvest Quality and Antioxidant Enzyme System Response of Strawberry Fruit during Cold Storage. *Foods*, *4*(4), Article 4. https://doi.org/10.3390/foods4040501

Pobiega, K., Kraśniewska, K., & Gniewosz, M. (2019). Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review. *Trends in Food Science & Technology*, *83*, 53-62. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.007

Pu, Y., Jiang, H., Zhang, Y., Cao, J., & Jiang, W. (2023). Advances in propolis and propolis functionalized coatings and films for fruits and vegetables preservation. *Food Chemistry*, *414*, 135662. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135662

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*(9), 1231-1237. https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3

Reis, C. A., Gomes, A., & do Amaral Sobral, P. J. (2023). Films Based on Biopolymers Incorporated with Active Compounds Encapsulated in Emulsions: Properties and Potential Applications—A Review. *Foods*, *12*(19), Article 19. https://doi.org/10.3390/foods12193602

Robledo, N., Vera, P., López, L., Yazdani-Pedram, M., Tapia, C., & Abugoch, L. (2018). Thymol nanoemulsions incorporated in quinoa protein/chitosan edible films; antifungal effect in cherry tomatoes. *Food Chemistry*, *246*, 211-219. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.032

Saroglu, O., & Karadag, A. (2024). Propolis-loaded liposomes: Characterization and evaluation of the in vitro bioaccessibility of phenolic compounds. *ADMET and DMPK*, *12*(1), 209-224. https://doi.org/10.5599/admet.2204

Scott, H. R., Pearson, C. J., Ealley, L. C., Boardman, B. M., & Peters, G. M. (2024). Tuning glycerol plasticization of chitosan with boric acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, *258*, 129304. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129304

Seibert, J. B., Bautista-Silva, J. P., Amparo, T. R., Petit, A., Pervier, P., dos Santos Almeida, J. C., Azevedo, M. C., Silveira, B. M., Brandão, G. C., de Souza, G. H. B., de Medeiros Teixeira, L. F., & dos Santos, O. D. H. (2019). Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. *Food Chemistry*, *287*, 61-67. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.078

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. İçinde *Methods in Enzymology* (C. 299, ss. 152-178). Academic Press. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

Siripatrawan, U., & Vitchayakitti, W. (2016). Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food Hydrocolloids*, *61*, 695-702. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.001

Stanicka, K., Dobrucka, R., Woźniak, M., Sip, A., Majka, J., Kozak, W., & Ratajczak, I. (2021). The Effect of Chitosan Type on Biological and Physicochemical Properties of Films with Propolis Extract. *Polymers*, *13*(22), Article 22. https://doi.org/10.3390/polym13223888

Suriyatem, R., Auras, R. A., Rachtanapun, C., & Rachtanapun, P. (2018). Biodegradable Rice Starch/Carboxymethyl Chitosan Films with Added Propolis Extract for Potential Use as Active Food Packaging. *Polymers*, *10*(9), 954. https://doi.org/10.3390/polym10090954

Sutharsan, J., Boyer, C. A., & Zhao, J. (2022). Physicochemical properties of chitosan edible films incorporated with different classes of flavonoids. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, *4*, 100232. https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100232

Sylla, J., Alsanius, B. W., Krüger, E., & Wohanka, W. (2015). Control of Botrytis cinerea in strawberries by biological control agents applied as single or combined treatments. *European Journal of Plant Pathology*, *143*(3), 461-471. https://doi.org/10.1007/s10658-015-0698-4

Tan, C., & McClements, D. J. (2021). Application of Advanced Emulsion Technology in the Food Industry: A Review and Critical Evaluation. *Foods*, *10*(4), Article 4. https://doi.org/10.3390/foods10040812

Torlak, E., & Sert, D. (2013). Antibacterial effectiveness of chitosan–propolis coated polypropylene films against foodborne pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*, *60*, 52-55. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.05.013

Ulloa, P. A., Vidal, J., Lopéz de Dicastillo, C., Rodriguez, F., Guarda, A., Cruz, R. M. S., & Galotto, M. J. (2019). Development of poly(lactic acid) films with propolis as a source of active compounds: Biodegradability, physical, and functional properties. *Journal of Applied Polymer Science*, *136*(8), 47090. https://doi.org/10.1002/app.47090

Uzel, A., Sorkun, K., Önçağ, Ö., Çoğulu, D., Gençay, Ö., & Sali˙h, B. (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological Research*, *160*(2), 189-195. https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.01.002

Valenzuela, C., Abugoch, L., & Tapia, C. (2013). Quinoa protein–chitosan–sunflower oil edible film: Mechanical, barrier and structural properties. *LWT - Food Science and Technology*, *50*(2), 531-537. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.010

Velickova, E., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Alves, V. D., & Moldão-Martins, M. (2013). Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. *LWT - Food Science and Technology*, *52*(2), 80-92. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.004

Wang, J., Wang, J., Ye, J., Vanga, S. K., & Raghavan, V. (2019). Influence of high-intensity ultrasound on bioactive compounds of strawberry juice: Profiles of ascorbic acid, phenolics, antioxidant activity and microstructure. *Food Control*, *96*, 128-136. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.007

Wang, S. Y., & Gao, H. (2013). Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria* x *aranassa* Duch.). *LWT - Food Science and Technology*, *52*(2), 71-79. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.003

Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. a. L. (2007). Botrytis cinerea: The cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, *8*(5), 561-580. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x

Xue, F., Zhao, M., Liu, X., Chu, R., Qiao, Z., Li, C., & Adhikari, B. (2021). Physicochemical properties of chitosan/zein/essential oil emulsion-based active films functionalized by polyphenols. *Future Foods*, *3*, 100033. https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100033

Yan, J., Luo, Z., Ban, Z., Lu, H., Li, D., Yang, D., Aghdam, M. S., & Li, L. (2019). The effect of the layer-by-layer (LBL) edible coating on strawberry quality and metabolites during storage. *Postharvest Biology and Technology*, *147*, 29-38. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.002

Yong, H., & Liu, J. (2021). Active packaging films and edible coatings based on polyphenol-rich propolis extract: A review. *Comprehensive Reviews in*

Food Science and Food Safety, *20*(2), 2106-2145. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12697

Zúñiga, R. N., Skurtys, O., Osorio, F., Aguilera, J. M., & Pedreschi, F. (2012). Physical properties of emulsion-based hydroxypropyl methylcellulose films: Effect of their microstructure. *Carbohydrate Polymers*, *90*(2), 1147-1158. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.066

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Akkuzu, N., Karakas, C. Y., Devecioglu, D., Karbancioglu-Guler, F., Sagdic, O., & Karadag, A. "Application of Propolis Emulsion-Loaded Chitosan Edible Films to Extend Strawberry Shelf Life" International Food Innovation and Sustainability Congress, 16-18 May, 2024, Istanbul, Turkey, oral presentation, p.p. 122.

Makaleler

1. Akkuzu, N., Karakas, C. Y., Devecioglu, D., Guler, F. K., Sagdic, O., & Karadag, A. (2024). Emulsion-based edible chitosan film containing propolis extract to extend the shelf life of strawberries. *International Journal of Biological Macromolecules,* 133108.

Projeler

1. "Propolis Yüklü Yenilebilir Emülsifiye Kitosan Film Üretimi, Karakterizasyonu ve Çilek Raf Ömrünün Uzatılmasında Uygulanması", Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü Yükseklisans Tez Projesi, Yürütücü: Ayşe KARADAĞ, Araştırmacı: Nisa AKKUZU, FYL-2024-6193.