



Kinoa protein-fenolik filmlerin karakterizasyonu: 4-hidroksibenzoik asit konsantrasyonunun etkisi

Characterization of quinoa protein-phenolic films: Impact of 4-hydroxy benzoic acid concentration

Mehmet Şükrü Karakuş^{1,*} 

¹ Harran Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, 63290, Şanlıurfa, Türkiye

Öz

Bu çalışmada, kinoa protein izolatlarına farklı oranlarda (%1, %2, %3, %4 ve %5) 4-hidroksi benzoik asit (HB) ilave edilerek film oluşturulmuş ve elde edilen filmlerin yapısal, fizikokimyasal ve mekanik özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Protein-fenolik etkileşimleri Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile ortaya konulmuştur. Filmlerin morfolojik yapısı taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile değerlendirilmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda HB ilavesi (%5) filmlerin kalınlık (0.16 mm) ve nem içeriği (%24.67) değerlerini artırmıştır. Buna karşın HB konsantrasyonlarındaki artışa bağlı L değerleri kademeli olarak azalırken, a* ve b* değerleri ise kademeli olarak artış göstermiştir. Yine benzer şekilde opaklık değerleri 2.54'ten 6.22'ye yükselmiştir. En yüksek su buharı geçirgenliği değeri K-HB5 (0.91) filminde tespit edilmiştir. Ayrıca HB ilavesine bağlı olarak filmlerin mekaniksel özellikleri (gerilme direnci ve uzama katsayısı) iyileştirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kinoa proteini, 4-Hidroksibenzoik asit, FTIR, SEM, Film

1 Giriş

Son yıllarda, sentetik ambalaj materyallerinin çevre üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı doğal ambalaj materyallerine bir yönelim söz konusudur [1]. Bu sentetik materyallerin gazlara karşı geçirgen olması ve hazırlanmalarında kullanılan düşük molekül ağırlıklı bazı bileşiklerin gıda maddelerine geçebileceği bildirilmiştir [2]. Bu nedenle son yıllarda sentetik materyaller yerine yenilebilir, toksik olmayan ve biyolojik olarak parçalanabilir ambalaj malzemeleri kullanılmaya başlanmıştır [3]. Yapılan araştırmalarda, proteinler, polisakkaritler ve lipitler yenilebilir/biyolojik olarak parçalanabilir doğal filmlerin potansiyel kaynakları haline gelmişlerdir. Genel olarak protein filmleri iyi bir gaz bariyeri özelliği sergilemekte ve iyi mekanik özelliklere sahip olabilmektedir [4]. Bu bağlamda farklı protein kaynakları (soya, bezelye, nohut, kinoa ve chia) doğal filmler oluşturmak için yaygın olarak kullanılmıştır [5].

Kinoa (*Chenopodium quinoa willd.*) yüksek oranda protein içeriğine (%12-23) ve zengin amino asit (lizin,

Abstract

In this study, films were formed by incorporating 4-hydroxy benzoic acid (HB) at concentrations of 1%, 2%, 3%, 4%, and 5% into quinoa protein isolates. The effects of these varying concentrations on the structural, physicochemical, and mechanical properties of the resulting films were investigated. Protein-phenolic interactions were revealed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The morphological structure of the films was evaluated by scanning electron microscope (SEM). When HB addition was 5%, the film thickness (0.16 mm) and moisture content (24.67%) increased. In contrast, as the HB concentrations increased, L values gradually decreased, while a* and b* values gradually increased. Similarly, the opacity values increased from 2.54 to 6.22. The highest water vapor permeability value was determined in the K-HB5 (0.91) film. Furthermore, the addition of HB enhanced the mechanical properties of the films, specifically the tensile strength and elongation coefficient.

Keywords: Quinoa protein, 4-Hydroxybenzoic acid, FTIR, SEM, Film

metiyonin ve sistein) profiline sahip olmasından dolayı besinsel ve işlevsel özellikler gösteren yalancı bir tahıldır [6]. Kinoa proteini üzerine yapılan çalışmalarda, kinoa tohumlarındaki başlıca proteinlerin globulinler (%37), albüminler (%35) ve düşük oranda prolaminler (%0.5-7.0) olduğu rapor edilmiştir [7]. Ayrıca, kinoa düşük glisemik indeksli bir gıda olup yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asitlerini ve lif içermektedir. Bundan dolayı, laktoz intoleransı ve diyabet gibi rahatsızlıkları olan insanların beslenmesinde faydalanılmaktadır [8].

Proteinlerin hem hidrofilik amino asit hem de hidrofobik kalıntıları içermeleri onların nem bariyeri olarak işlev görme kapasitelerini sınırlandırmaktadır. Bu yüzden, düşük su buharı geçirgenliğine sahip protein bazlı filmler oluşturmak için belirli katkı maddelerinin kullanılması önerilmektedir [2]. Daha iyi özelliklere sahip protein filmleri üretmek amacıyla fenolik bileşikler kullanılmıştır. Bunlar arasında rutin, epikateşin, ferulik asit ve 4-hidroksi benzoik asit bulunmaktadır [9, 10, 11]. Bu fenolik bileşiklerin filmlerin fizikokimyasal, bariyer ve mekanik özelliklerini iyileştirebileceği öne sürülmüştür [12].

* Sorumlu yazar / Corresponding author, e-posta / e-mail: sukrukarakus@harran.edu.tr (M. Ş. Karakuş)
Geliş / Received: 27.11.2024 Kabul / Accepted: 15.12.2024 Yayınlanma / Published: 15.01.2025
doi: 10.28948/ngumuh.1592182

Bu çalışmada kullanılan 4-hidroksibenzoik asit (HB) çeşitli farmakolojik özelliklere ve çok çeşitli endüstriyel uygulamalara sahip değerli bir kimyasal olan fenolkarboksilik asit olarak bilinmektedir. HB'nin antioksidan, antibakteriyel, oraklanma önleyici, kardiyoprotektif, antidiyabetik, antikanser gibi çok sayıda tıbbi özelliği bulunmaktadır. Ayrıca, HB, ilaç, kozmetik ve gıda gibi çeşitli endüstrilerde yaygın uygulama alanlarına sahiptir [13].

Tüm bu veriler ışığında bu çalışmanın amacı farklı oranlarda HB içeren kinoa protein bazlı filmlerin özelliklerini ortaya koymaktır. Bu bağlamda, protein filmlerine farklı konsantrasyonlarda HB ilave edilerek oluşturulan filmlerin yapısal, morfolojik, fizikokimyasal, bariyer ve mekanik özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

2 Materyal ve metot

2.1 Materyal

Bu çalışmada protein üretiminde kullanılan kinoa tohumları yerel bir firmadan (Şanlıurfa, Türkiye) satın alınmıştır. HB ise Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan diğer tüm kimyasallar aksi belirtilmedikçe analitik saflıkta olup Sigma ve Merck firmalarından tedarik edilmiştir.

2.2 Kinoa proteinlerinin üretimi

Kinoa proteinlerinin üretimi daha önce yapılmış bir çalışmada bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir [5]. Homojen parçacık boyutuna (0.3-0.75 mm) sahip kinoa tozu 1:10 (w/v) oranında distile su ile karıştırılmıştır. Protein solüsyonunun pH değeri 9.5'a (0.1N NaOH) ayarlanarak manyetik karıştırıcıda 2 s karıştırılmıştır (40 °C). Daha sonra bu solüsyon 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj (Nüve, NF 1200R, Türkiye) edilmiş ve süpernatantlar toplanmıştır. Süpernatantların pH değeri 4.5'e (0.1N HCl) ayarlandıktan sonra proteinler çöktürülmüştür. Çöken proteinler tekrar santrifüj işlemine (4000 rpm'de 10 dk.) tabi tutulmuş ve üst faz uzaklaştırılmıştır. Elde edilen protein peletleri liyofilize edilerek (CoolerMed, Türkiye) toz forma (Özütleme verimi: %75.5; protein saflığı: 71.3 g/100g; nem içeriği: %5.7) dönüştürülmüştür. Elde edilen kinoa proteinleri film üretiminde kullanılmıştır.

2.3 Protein-fenolik filmlerin oluşturulması

Protein-fenolik film komplekslerinin oluşturulması önceki bir çalışmada bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir [14]. Film üretimi için, 3.5 g kinoa proteini (%7 w/w), ağırlıkça %30 gliserol (protein ağırlığı) 45 mL distile su içerisinde çözündürülmüştür. Çözelti sürekli karıştırılarak 60 °C'de 30 dk. ısıtılıp tabi tutulmuştur. Diğer yandan, HB (%1, %2, %3, %4 ve %5 protein ağırlığı) 5 mL distile suda tamamen çözünene kadar karıştırılmıştır. Aynı ayrı hazırlanan iki çözeltinin pH değeri 7.0 (0.1N NaOH) ayarlandıktan sonra karıştırılmış ve 60 °C'de 30 dk. daha ısıtılmıştır. Film çözeltileri (10 mL) plastik petrilere aktarılmış ve 25 °C'de 24 s kurumaya bırakılmıştır. Filmler sırasıyla %0 (yalnızca kinoa proteini), %1, %2, %3, %4 ve %5-HB konsantrasyonu için K-HB0, K-HB1, K-HB2, K-HB3, K-HB4 ve K-HB5 olarak isimlendirilmiştir.

2.4 Film analizleri

2.4.1 FTIR

Kinoa proteini ve film örneklerindeki karakteristik grupları belirlemek için Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi (IRTracer-100, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) kullanılmıştır. Analiz 1 cm⁻¹ çözünürlükte ve 400-4000 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir [15].

2.4.2 SEM

Protein-fenolik filmlerin yüzey morfolojik yapısı SEM (ZEISS Sigma 300 Alan Emisyon SEM, Oberkochen, Almanya) ile belirlenmiştir. Analizden önce filmler vakum altında paladyum ile kaplanmıştır [16]. Ayrıca filmlerin gerçek görüntüleri bir kamera yardımıyla elde edilmiştir.

2.4.3 Fizikokimyasal analizler

Film örneklerinin kalınlık değeri dijital bir mikrometre (D&W measuring) kullanılarak farklı yerlerden alınan kalınlık değerlerinin ortalaması alınarak hesaplanmıştır [17].

Nem içeriği, örneklerin 105 °C'de etüv fırınında (Nüve FN400, Türkiye) 24 s kurutulmasıyla gravimetrik olarak hesaplanmıştır [18].

Filmlerin *L*, *a** ve *b** renk değerleri bir kolorimetre cihazı (Color Quest® XE, ABD) kullanılarak ölçülmüştür [19].

Film örneklerinin opaklık değeri filmin 600 nm'deki absorpsiyonunun film kalınlığına (mm) bölünmesiyle hesaplanmıştır. Bu amaçla filmler belirli oranlarda (2x2 cm²) kesilmiş ve spektrofotometre küvetinin çeperine tutturularak 600 nm'deki absorpsiyon değeri okunmuştur. Boş küvet ise kontrol olarak kullanılmıştır [20].

Örneklerin su buharı geçirgenliği (WVP), Alexandre ve ark. [21]'nin uyguladığı gravimetrik yöntemle tespit edilmiştir.

2.4.4 Filmlerin mekanik özellikleri

Protein-fenolik kompleks filmlerinin mekanik davranışı, ASTM D882-0217 prosedürüne göre bir TA-XT Tekstür Analiz cihazı (TA-XT32, Stable Micro System, Godalming, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir. Çekme çene problemleri arasına film örnekleri yerleştirilerek numuneler kopana kadar gerilmiştir. Cihaz yazılımı aracılığıyla gerilme direnci (GD (MPa)) ve uzama katsayısı (UK (%)) değerleri belirlenmiştir.

2.5 İstatistiksel analizler

Tüm üretimler ve analizler üç kez gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Grafikler OriginPro 2021b (Origin Lab Inc.) kullanılarak oluşturulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklar, Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak %95 (p<0.05) güven düzeyinde tanımlanmıştır. İstatistiksel farklılıklar SPSS 22 paket programı (Windows için sürüm 22.0, SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) ile gerçekleştirilmiştir.

3 Bulgular ve tartışma

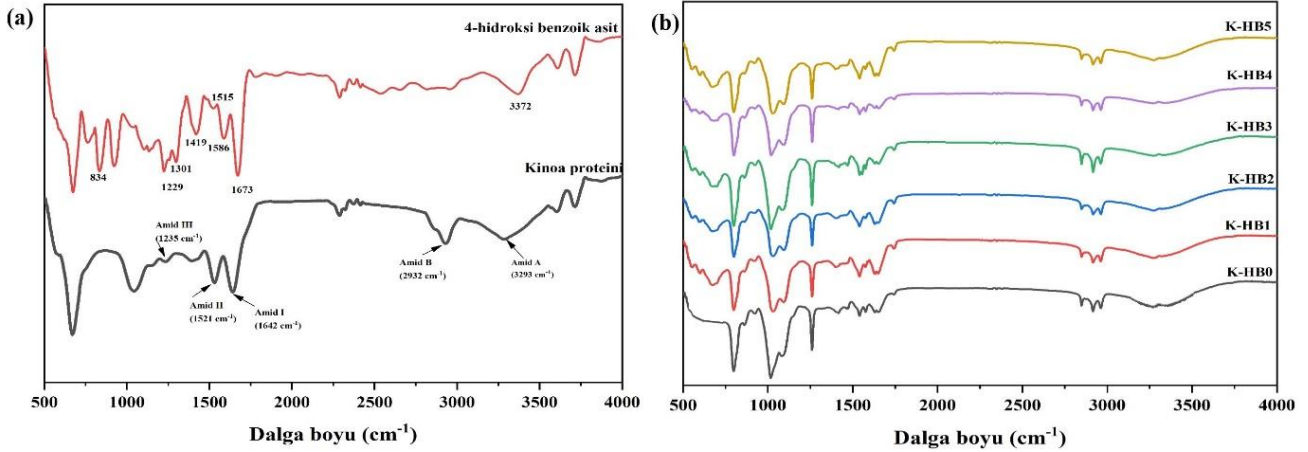
3.1 FTIR

FTIR spektroskopisi, polimerlerdeki molekül içi/moleküller arası bağları tanımlamak için kullanılan bir yöntemdir [16]. Bu analiz, moleküler karakterizasyon ve polimerler arasındaki etkileşimleri ortaya koymak için yapılmıştır. Kinoa proteini, HB asit ve protein-fenolik filmlerin karakteristik bantları Şekil 1a ve 1b'de sunulmuştur. Proteinlerin absorpsiyon bantları esas olarak amid I, amid II ve amid III'ten oluşmaktadır ve sırasıyla 1600-1700 cm^{-1} , 1500-1600 cm^{-1} ve 1200-1300 cm^{-1} dalga boylarına karşılık gelmektedir (Şekil 1a). Amid I bandı C=O gerilmesinden, amid II N-H bükülmeleri ve C-N gerilmelerine, amid III bandı ise C-N gerilmelerine, N-H bükülmelerine ve C-C gerilmelerinden ortaya çıkmaktadır. Ayrıca amid A (3200-3300 cm^{-1}) N-H ve amid B (2900-3000 cm^{-1}) ise =CH ve -NH₃ titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [22]. HB için ise 3372 cm^{-1} (OH) hidroksil grubu, 1673 cm^{-1} (C=O) karbonil grubu, 1586 cm^{-1} aromatik halka C=C çift bağını, 1419 cm^{-1} karboksilik asit, 1301 cm^{-1} karboksilik asit ve fenolik grubunu, 1229 cm^{-1} C-O bağını, 834 cm^{-1} aromatik halkadaki C-H bağlarını temsil etmektedir (Şekil 1a) [23]. Ayrıca 1000-1100 cm^{-1} arasındaki spektrum gliserolün (plastikleştirici) varlığından kaynaklanmaktadır.

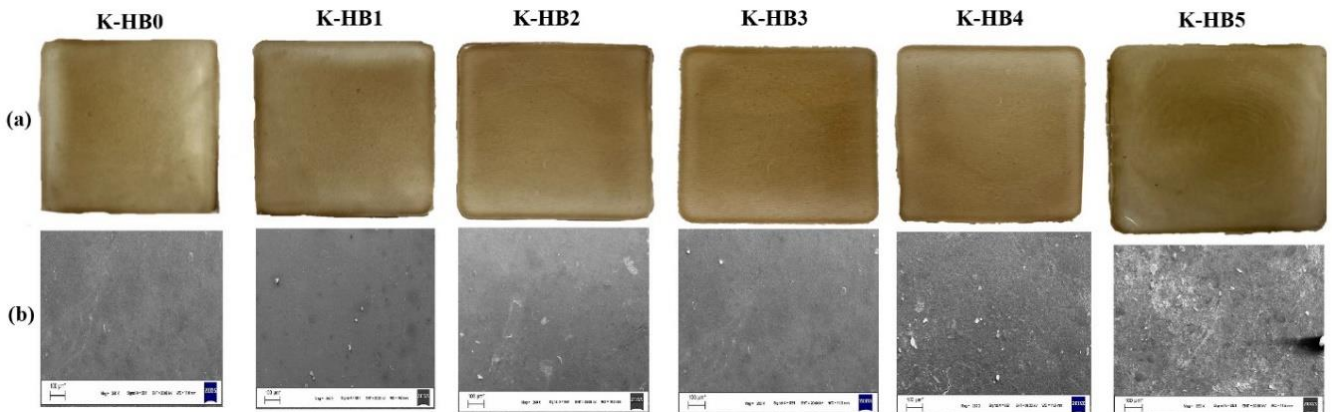
Filmlerin FTIR spektrumuna ait pikler incelendiğinde 3280-3350 cm^{-1} aralığında OH gerilmesine karşılık gelen bir tepe belirlenmiştir (Şekil 1b). HB katkılı filmlerin 3300 cm^{-1} bölgesindeki yoğunluğunun yalnız kinoa ile üretilen filmde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Kinoa filmine (K-HBO) kıyasla amid-I bölgesinde (1636 cm^{-1}) 4-hidroksi benzoik asit ilaveli filmlerin yoğunluğunda bir artış meydana gelmiş ve bu durum C=O bağlarının artan varlığına atfedilmiştir [24]. Her iki durumda da filmlerde meydana gelen değişimler hidrojen bağlarının oluşumuna bağlanmıştır [25]. Daha önceki çalışmalarda da benzer FTIR sonuçları bildirilmiştir [24, 26]. FTIR spektrum sonuçları HB'nin kinoa proteinine başarılı bir şekilde dahil edildiğini göstermiştir.

3.2 Filmlerin gerçek ve SEM görüntüleri

Protein-fenolik film formülasyonlarına ait gerçek ve SEM görüntüleri Şekil 2'de gösterilmiştir. Filmler görsel olarak değerlendirilmiş ve kurutmadan sonra herhangi bir kırılma veya kopma tespit edilmemiştir. Tüm filmlerin gerçek görüntüleri incelendiğinde yüzeyde pürüzsüz bir görüntü %3 HB katkısına kadar devam etmiştir. Buna karşın yüksek oranda HB katkısı (%4-5) yüzeyde kümelenmiş ve birikmiş olarak görülmüştür.



Şekil 1. FTIR spektrumları; a) Kinoa proteini ve HB spektrumu; b) Protein-fenolik filmlerine ait spektrumlar



Şekil 2. Protein-fenolik filmlerine ait gerçek (a) ve SEM görüntüleri (b)

Protein-fenolik film sistemlerinin mikro yapısı üzerinde hidroksi benzoik asidin etkisini incelemek için filmlerin yüzey morfolojisi SEM analizi ile değerlendirilmiştir. K-HB0, K-HB1, K-HB2, K-HB3 filmlerinde katmanlaşma görülmezken, K-HB4 ve K-HB5 filmlerinde ise katmanlaşma eğilimi olduğu tespit edilmiştir. Başka bir ifadeyle, belirli bir konsantrasyona kadar (%3'e kadar) filmlerin yüzeyi düzgün bir yapı sergilerken artan HB konsantrasyonu giderek daha pürüzlü bir yapı oluşturduğu görülmüştür. Benzer sonuçlar bezelye proteini-kumarik asit filmlerinde de gözlemlenmiştir. Artan kumarik asit oranlarına bağlı morfolojik yapıda büyük dalgalanmalar olduğu bildirilmiştir [26]. Bu gözlem, proteinler ve polifenoller arasındaki benzersiz etkileşime atfedilebilmektedir. Başka bir deyişle, artan çapraz bağlama derecesi, çapraz bağlı kompleksin polifenollerin filmlerin yüzeyine yapışmasına izin vereceği şeklinde rapor edilmiştir [27].

3.3 Filmlerin fizikokimyasal özellikleri

Kalınlık, film oluşturan sıvının hacmi veya yayılma alanının boyutu ile ilgili olan filmlerin fiziksel özelliklerinin önemli bir göstergesidir [28]. Filmlerin kalınlık değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Film örneklerine ilave edilen HB oranı %3'e kadar film kalınlık değerleri üzerinde önemsiz bir etkiye sahipken ($p>0.05$), oran artmasıyla kalınlık değerlerinde gözle görülür bir artış meydana gelmiştir. Başka bir ifadeyle en yüksek kalınlık değeri K-HB5 örneğinde tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bu durumun artan HB konsantrasyonlara bağlı birikme/kümelenme ve moleküler birleşmelerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer durum önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir. Fenolik konsantrasyonundaki artış ile fenolik ve protein moleküllerinin birleşmesine bağlı düzenli yapıların oluşumu engellenmiş ve film kalınlığında artış meydana geldiği belirtilmiştir [29, 30]. Çalışmada elde edilen sonuçlar önceki çalışmalarla benzerlik sergilemektedir.

Örneklerin nem içeriği değerleri incelendiğinde en yüksek değer K-HB5 filminde (%24.67) tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla K-HB4 (%22.67), K-HB0 (%22.15), K-HB1 (%20.97), K-HB2 (%18.22) ve K-HB3 (%15.71) takip etmiştir (Tablo 1). Yine benzer şekilde belirli bir orana kadar HB ilavesi nem içeriğini azaltmasına rağmen artan HB konsantrasyonlarında nem içeriği artış göstermiştir. Benzer

bulgular soya proteini-kateşin filmlerinde de tespit edilmiştir. Kateşin miktarının artmasına bağlı nem içeriğinde artış olduğu tespit edilmiştir. Bu durum fenolik konsantrasyonundaki artışa bağlı polifenollerin ve protein filminin çapraz bağlanmasıyla oluşan ağ yapısının tahrip olmasına atfedilmiştir [30]. Başka bir neden ise kalınlık değerindeki artış olabilir. Kalınlık değerindeki artışa bağlı olarak daha çok su tutulacağından dolayı nem içeriğinin arttığı düşünülmektedir. Ayrıca yapılan korelasyon analizi sonucunda kalınlık ile nem içeriği arasında pozitif yönde önemli bir ilişki tespit edilmiştir ($r=0.774$, $p=0.003$). Başka bir ifadeyle, kalınlık değeri arttıkça nem içeriği de artış göstermiştir.

Protein-fenolik filmlere ait L , a^* ve b^* renk değerleri Tablo 1'de verilmiştir. HB içeren tüm film örnekleri yalnız kinoa proteini içeren K-HB0 filminden daha düşük L değerine sahipti. Bu durum, HB konsantrasyonuna bağlı filmlerin daha koyu görünmesine neden olduğunu göstermiştir. Başka bir ifadeyle fenolik ilavesi filmlerin parlaklık değerini kademeli olarak azaltmıştır. Benzer sonuçlar önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir [1, 30]. Buna karşın a^* ve b^* değerleri HB ilavesiyle kademeli bir şekilde artış göstermiştir. Bu fenomen, proteinlerin polifenollerle etkileşimi sonucunda oksijen moleküllerinin polifenolün hidroksil grubunu okside etmesine bağlı bir kinon oluşumuna ve bunun sonucunda renkte değişimler olmasına atfedilmiştir [31].

Opaklık değeri, filmin homojenlik derecesiyle ilgilidir ve bu nedenle filmin formülasyonuna ve üretim prosedürlerine bağlı bir parametredir [32]. Film örneklerine ait opaklık değerleri Tablo 1'de sunulmuştur. HB içeren filmlerin yalnız kinoa proteini içeren filme kıyasla daha yüksek opaklık değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. En yüksek opaklık değeri %5 HB içeren K-HB5 filminde belirlenmiştir. Bu durum kümeleşme ve çözünmemiş parçacıklara bağlı daha büyük parçacıkların oluşumuna ve sonuçta ışık iletimini engellemesine bağlanmıştır [33]. Bir diğer neden ise daha sızdırmaz bir matris oluşturan protein-fenolik etkileşimlerdeki artışa atfedilmiştir [9]. Benzer eğilimler önceki çalışmalarda da ifade edilmiştir [26, 30]. Artan opaklık değerinin, gıda muhafazası için ışığa duyarlı gıda ürünlerinin ambalajlanmasında potansiyel faydalarını ortaya koymaktadır.

Tablo 1. Protein-fenolik filmlerine ait fizikokimyasal özellikler

Örnek	Kalınlık (mm)	Nem içeriği (%)	L	a^*	b^*	Opaklık (A_{600}/mm)
K-HB0	0.11±0.01 ^c	22.15±0.21 ^c	77.78±0.03 ^a	-1.78±0.04 ^e	27.98±0.11 ^d	2.54±0.03 ^f
K-HB1	0.11±0.01 ^c	20.97±0.10 ^d	76.26±0.11 ^b	-1.32±0.04 ^d	30.10±0.21 ^c	2.76±0.02 ^e
K-HB2	0.11±0.01 ^c	18.22±0.10 ^e	73.74±0.04 ^c	-0.81±0.03 ^c	32.91±0.13 ^b	3.04±0.04 ^d
K-HB3	0.10±0.01 ^c	15.71±0.08 ^f	73.10±0.06 ^d	-0.56±0.02 ^b	33.01±0.13 ^b	3.26±0.04 ^c
K-HB4	0.13±0.01 ^b	22.67±0.08 ^b	72.37±0.08 ^e	-0.23±0.01 ^a	37.15±0.18 ^a	5.47±0.06 ^b
K-HB5	0.16±0.01 ^a	24.67±0.18 ^a	72.41±0.07 ^e	-0.21±0.01 ^a	37.16±0.06 ^a	6.22±0.13 ^a

Aynı sütundaki farklı küçük harfler (a-f) örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı belirtmektedir ($p<0.05$). K-HB0: HB içermeyen kinoa proteinli film; K-HB1: %1 oranında HB içeren film; K-HB2: %2 oranında HB içeren film; K-HB3: %3 oranında HB içeren film; K-HB4: %4 oranında HB içeren film; K-HB5: %5 oranında HB içeren film

Su buharı geçirgenliği (SBG), filmin bariyer özellikleriyle ilgili bir parametredir. HB ilavesinin filmlerin SBG değeri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Başka bir ifadeyle, en yüksek su buharı geçirgenliği K-HB5, en düşük ise K-HB3 filminde tespit edilmiştir (Tablo 2). Literatürde bu değer ile ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Başka bir deyişle, soya proteine artan konsantrasyonlarda kateşin ilavesinin SBG değerini arttırdığı bildirilmiştir. Bu durumun kateşin ve soya filmlerinin arayüz etkileşimi, proteinler ve su arasındaki etkileşimde bir azalmaya neden olarak su moleküllerinin filmde serbestçe geçmesinden kaynaklanmaktadır [30]. Buna karşın yapılan başka bir çalışmada ise soya proteinine rutin ilavesiyle SBG değerinin azaldığı rapor edilmiştir. Bu fenomen soya proteini polimerinin zincirler arası boşluğunun azalmasına neden olarak film matrisindeki su moleküllerinin hareketliliğinin azalmasına ve dolayısıyla film boyunca su göçünün sınırlandırılacağına bağlanmıştır [9].

Tablo 2. Film örneklerin su buharı geçirgenliği ve mekanik özellikleri

Örnek	Su buharı geçirgenliği (SBG)	Gerilme direnci (GD) (MPa)	Uzama katsayısı (UK) (%)
K-HBO	0.53±0.00 ^c	5.25±0.03 ^c	114.84±0.40 ^c
K-HB1	0.54±0.00 ^c	4.19±0.04 ^d	114.38±0.39 ^c
K-HB2	0.52±0.00 ^d	5.39±0.04 ^b	115.68±0.60 ^c
K-HB3	0.51±0.01 ^e	6.79±0.05 ^a	142.85±0.38 ^a
K-HB4	0.70±0.00 ^b	5.28±0.05 ^c	127.72±0.86 ^b
K-HB5	0.91±0.00 ^a	3.58±0.03 ^e	110.79±0.47 ^d

Aynı sütündeki farklı küçük harfler (a-f) örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı belirtmektedir ($p < 0.05$). K-HBO: HB içermeyen kinoa proteinli film; K-HB1: %1 oranında HB içeren film; K-HB2: %2 oranında HB içeren film; K-HB3: %3 oranında HB içeren film; K-HB4: %4 oranında HB içeren film; K-HB5: %5 oranında HB içeren film

3.4 Mekanik özellikler

Gerilme direnci (GD), bir filmin kopmadan önce şeklini koruyabileceği maksimum gerilimi temsil ederken, uzama katsayısı (UK) ise filmin kopmadan önceki deformasyonunu belirtmektedir [26]. Protein-fenolik filmlerine ait mekaniksel özellikler Tablo 2’de sunulmuştur. Gerilme direnci ve uzama katsayısı değerleri incelendiğinde en yüksek değer K-HB3, en düşük değer ise K-HB5 örneğinde belirlenmiştir. Protein bazlı filmlerin oluşumu, protein molekülleri arasındaki kovalent ve kovalent olmayan kuvvetlerin bir sonucudur. Bu nedenle, bu kuvvetleri artıran herhangi bir işlem filmin mekaniksel özelliklerini iyileştirebilir. Başka bir ifadeyle, protein molekülleri arasındaki yüksek etkileşimler film oluşumuna katkıda bulunmasına rağmen, kümelenmeden kaynaklanan büyük parçacıkların film mekanik özelliklerini olumsuz etkilemiş olabileceği rapor edilmiştir [26]. Literatürde bu sonuçlarla ilgili çelişkili bulgular sunulmuştur. Yapılan bir çalışmada kitosan ve kitosan-gallik asit film kompleksleri oluşturulmuş ve mekaniksel özellikleri kıyaslanmıştır. Kitosan-gallik asit filmi yüksek gerilme direnci göstermesine rağmen uzama katsayısı değeri daha düşük bulunmuştur [24]. Yapılan başka bir çalışmada ise gerilme direnci değeri artan kateşin konsantrasyonları ile önce artmış, ardında azalmıştır. Bu durum kateşin ve film oluşturan matris arasında güçlü bir kovalent çapraz

bağlanma meydana getirmiştir. Kateşin konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak filmlerde heterojen bir yapı oluşabilir ve bu da moleküler etkileşimleri etkileyerek gerilme direnci değerini azaltabilmektedir [30]. Başka bir fenomen ise fenoliklerin proteine bağlanma eşdeğerinin artması sonucunda çözeltideki serbest fenolik proteinle reaksiyona girememekte ve bunun sonucunda filmde bir boşluk oluşmakta ve gerilme direnci değeri düşmektedir [34].

4 Sonuçlar

Doğal ve yenilebilir bitkisel protein bazlı film sistemleri tasarlamak mümkündür. Buna karşın bu filmlerin karakteristik özelliklerinden gıda koruma davranışına kadar birçok sorun bulunmaktadır. Bu sorunların üstesinden gelmenin bir yolu proteinler ve fenolikler arasında kompleksler oluşturmaktır. Bu çalışma, protein-fenolik film komplekslerinin gelişmiş özellikler oluşturabileceğini göstermiştir. Protein-fenolik arasındaki bağlanmalar FTIR analizi ile ortaya konulmuştur. Protein bazlı filmlere belirli bir orana kadar HB ilavesi film özellikleri üzerinde olumlu etkiler göstermiştir. Başka bir ifadeyle belirli bir orana kadar HB ilavesi (%3’e kadar) daha iyi su buharı geçirgenliği ve mekaniksel özellikler sergilemiştir. Artan HB konsantrasyonun film özellikleri üzerinde olumsuz etkiler ortaya koyduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları sürdürülebilir gıda paketleme uygulamaları için fenolik protein bazlı filmler geliştirmek için potansiyel bir yaklaşım olduğunu ortaya koymuştur. Bu film komplekslerinin gıdaların paketlenmesi ve korunmasına yönelik etkilerini değerlendirmek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Ayrıca yapılacak çalışmalarda bu filmlerin antioksidan/antimikrobiyal aktiviteleri ve model gıdalarda kaplama materyali olarak kullanım özellikleri de araştırılmalıdır.

Çıkar çatışması

Yazar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Benzerlik oranı (iThenticate): % 11

Kaynaklar

- [1] S. Kocakulak, G. Sumnu, and S. Sahin, Chickpea flour-based biofilms containing gallic acid to be used as active edible films. *Journal of Applied Polymer Science*, 136 (26), 47704, 2019. <https://doi:10.1002/app.47704>.
- [2] W. Zhang, Y. Zhang, J. Cao, and W. Jiang, Improving the performance of edible food packaging films by using nanocellulose as an additive. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 288–296, 2021. <https://doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.10.185>.
- [3] J. Gómez-Estaca, P. Montero, F. Fernández-Martín, A. Alemán, and M. C. Gómez-Guillén, Physical and chemical properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films with added aqueous oregano and rosemary extracts. *Food Hydrocolloids*, 23 (5), 1334–1341, 2009. <https://doi:10.1016/j.foodhyd.2008.09.013>.
- [4] A. Arabestani, M. Kadivar, M. Shahedi, S. A. H. Goli, and R. Porta, Properties of a new protein film from

- bitter vetch (*Vicia ervilia*) and effect of CaCl₂ on its hydrophobicity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 57, 118–123, 2013. <https://doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.02.020>.
- [5] N. A. Mir, C. S. Riar, and S. Singh, Effect of film forming solution pH on antibacterial, antioxidant and structural characteristics of edible films from modified quinoa protein. *Food Hydrocolloids*, 135, 108190, 2023. <https://doi:10.1016/j.foodhyd.2022.108190>.
- [6] S. Dakhili, L. Abdolalazadeh, S. M. Hosseini, S. Shojaee-Aliabadi, and L. Mirmoghtadaie, Quinoa protein: Composition, structure and functional properties. *Food Chemistry*, 299, 125161, 2019. <https://doi:10.1016/j.foodchem.2019.125161>.
- [7] L. E. Abugoch, N. Romero, C. A. Tapia, J. Silva, and M. Rivera, Study of Some Physicochemical and Functional Properties of Quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd*) Protein Isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (12), 4745–4750, 2008. <https://doi:10.1021/jf703689u>.
- [8] R. Vilcacundo and B. Hernández-Ledesma, Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*). *Current Opinion in Food Science*, 14, 1–6, 2017. <https://doi:10.1016/j.cofs.2016.11.007>.
- [9] K. Friesen, C. Chang, and M. Nickerson, Incorporation of phenolic compounds, rutin and epicatechin, into soy protein isolate films: Mechanical, barrier and cross-linking properties. *Food Chemistry*, 172, 18–23, 2015. <https://doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.128>.
- [10] M. M. Alves, M. P. Gonçalves, and C. M. R. Rocha, Effect of ferulic acid on the performance of soy protein isolate-based edible coatings applied to fresh-cut apples. *LWT-Food Science and Technology*, 80, 409–415, 2017. <https://doi:10.1016/j.lwt.2017.03.013>.
- [11] J. Liu, S. Liu, Y. Chen, L. Zhang, J. Kan, and C. Jin, Physical, mechanical and antioxidant properties of chitosan films grafted with different hydroxybenzoic acids. *Food Hydrocolloids*, 71, 176–186, 2017. <https://doi:10.1016/j.foodhyd.2017.05.019>.
- [12] D. Günal-Köroğlu and E. Capanoglu, Plant protein-based edible films and the effect of phenolic additives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–21, 2024. <https://doi:10.1080/10408398.2024.2328181>.
- [13] A. N. Joshi, A. K. Chandrakar, and K. L. Wasewar, Efficacy of natural oils and conventional chemicals in the physical extraction of 4-hydroxybenzoic acid from aqueous solution. *Journal of the Indian Chemical Society*, 99 (8), 100636, 2022. <https://doi:10.1016/j.jics.2022.100636>.
- [14] P. Rani, P. K. Yadav, A. K. Singh, S. Nayak, K. D. Kumar, and R. Kumar, Structural, material and antibacterial properties of quercetin incorporated soy protein isolate films and its binding behavior through molecular docking. *Biopolymers*, 115 (2), 2024. <https://doi:10.1002/bip.23569>.
- [15] Y. Zhao, Z. Ren, L. Shi, and W. Weng, Effect of W/O pre-emulsion prepared with different emulsifiers on the physicochemical properties of soy protein isolate-based emulsion films. *Food Hydrocolloids*, 139, 108440, 2023. <https://doi:10.1016/j.foodhyd.2022.108440>.
- [16] H. Chen, C. Wu, X. Feng, M. He, X. Zhu, Y. Li, and F. Teng, Effects of two fatty acids on soy protein isolate/sodium alginate edible films: Structures and properties. *LWT- Food Science and Technology*, 159, 113221, 2022. <https://doi:10.1016/j.lwt.2022.113221>.
- [17] Q. Li, Q. Ma, Y. Wu, Y. Li, B. Li, X. Luo, and S. Liu, Oleogel Films Through the Pickering Effect of Bacterial Cellulose Nanofibrils Featuring Interfacial Network Stabilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68 (34), 9150–9157, 2020. <https://doi:10.1021/acs.jafc.0c03214>.
- [18] A. Kurt and T. Kahyaoglu, Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan. *Carbohydrate Polymers*, 104, 50–58, 2014. <https://doi:10.1016/j.carbpol.2014.01.003>.
- [19] Y. Liu, Y. Zhang, M. Zhen, Y. Wu, M. Ma, Y. Cheng, and Y. Jin, Effect of catechin and tannins on the structural and functional properties of sodium alginate/gelatin/ poly (vinylalcohol) blend films. *Food Hydrocolloids*, 135, 108141, 2023. <https://doi:10.1016/j.foodhyd.2022.108141>.
- [20] J. Cheng, J. Wang, Z. Li, B. Chen, and L. Cui, Improving the mechanical and water-resistance properties of pea protein-based edible film via wet-heating Maillard reaction: Insights into the simultaneous effect of heating and Maillard reaction. *Food Packaging and Shelf Life*, 35, 101024, 2023. <https://doi:10.1016/j.fpsl.2023.101024>.
- [21] E. M. C. Alexandre, R. V. Lourenço, A. M. Q. B. Bittante, I. C. F. Moraes, and P. J. do A. Sobral, Gelatin-based films reinforced with montmorillonite and activated with nanoemulsion of ginger essential oil for food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 10, 87–96, 2016. <https://doi:10.1016/j.fpsl.2016.10.004>.
- [22] J. Kong and S. Yu, Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 39 (8), 549–559, 2007. <https://doi:10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x>.
- [23] S. Alfei, D. Caviglia, S. Penco, G. Zuccari, and F. Gosetti, 4-Hydroxybenzoic Acid as an Antiviral Product from Alkaline Autoxidation of Catechinic Acid: A Fact to Be Reviewed. *Plants*, 11 (14), 1822, 2022. <https://doi:10.3390/plants11141822>.
- [24] C. R. Lee, S. J. Lee, T. I. Kim, K. Chathuranga, J. S. Lee, S. Kim...and W. H. Park, Chitosan-gallic acid conjugate edible coating film for perishable fruits. *Food Chemistry*, 463, 141322, 2025. <https://doi:10.1016/j.foodchem.2024.141322>.
- [25] T. Nisar, Z.-C. Wang, X. Yang, Y. Tian, M. Iqbal, and Y. Guo, Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 670–680, 2018. <https://doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.08.068>.

- [26] X. Gong, H. Choi, J. Cheng, J. S. R. V. Winfred, and L. Cui, "Pea protein-p-coumaric acid conjugate-based antioxidant film: The relationship between protein structure and film properties after covalent bonding. *International Journal of Biological Macromolecules*, 282, 137271, 2024. [https://doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.137271](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137271).
- [27] Y. Li, C. Zhong, H. Zhang, Y. Zhao, M. Shu, and G. Wu, Effectiveness of bacteriophage JN01 incorporated in gelatin film with protocatechuic acid on biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7 in beef. *International Journal of Food Science & Technology*, 57 (6), 3503–3514, 2022. [https://doi: 10.1111/ijfs.15673](https://doi.org/10.1111/ijfs.15673).
- [28] L. Wang, M. A. E. Auty, and J. P. Kerry, Physical assessment of composite biodegradable films manufactured using whey protein isolate, gelatin and sodium alginate. *Journal of Food Engineering*, 96 (2), 199–207, 2010. [https://doi: 10.1016/j.jfoodeng.2009.07.025](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.07.025).
- [29] H. Kang, Z. Wang, W. Zhang, J. Li, and S. Zhang, Physico-chemical properties improvement of soy protein isolate films through caffeic acid incorporation and tri-functional aziridine hybridization. *Food Hydrocolloids*, 61, 923–932, 2016. [https://doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.07.009](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.07.009).
- [30] X. Wang, W. Wang, S. Luo, N. Wang, L. Wang, N. Zhang, and D. Yu, Evaluation of ohmic heating modified soybean protein isolate structure and antioxidant film under different catechin concentrations. *LWT-Food Science and Technology*, 186, 115224, 2023. [https://doi: 10.1016/j.lwt.2023.115224](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115224).
- [31] T. Prodpran, S. Benjakul, and S. Phatcharat, Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51 (5), 774–782, 2012. [https://doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.07.010](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.07.010).
- [32] N. Gontard, S. Guilbert, and J. Cuq, Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. *Journal of Food Science*, 57 (1), 190–195, 1992. [https://doi: 10.1111/j.1365-2621.1992.tb05453.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1992.tb05453.x).
- [33] J. Cheng and L. Cui, Effects of high-intensity ultrasound on the structural, optical, mechanical and physicochemical properties of pea protein isolate-based edible film. *Ultrasonics Sonochemistry*, 80, 105809, 2021. [https://doi: 10.1016/j.ultsonch.2021.105809](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105809).
- [34] C. Martins, F. Vilarinho, A. S. Silva, M. Andrade, A. V. Machado, M. C. Castilho..... and F. Ramos, Active polylactic acid film incorporated with green tea extract: Development, characterization and effectiveness. *Industrial crops and products*, 123, 100–110, 2018. [https://doi: 10.1016/j.indcrop.2018.06.056](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.056).

