BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ❖ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SUCUK BAHARATI KARIŞIMI UÇUCU YAĞLARI İLE ZENGİNLEŞTİRİLEN POLİ LAKTİK ASİT ESASLI NANO-LİFLERİN ÇÖZELTİ ÜFLEMELİ EĞİRME TEKNİĞİ İLE ÜRETİMİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İklime ÖZCAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

AĞUSTOS 2021

BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ❖ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SUCUK BAHARATI KARIŞIMI UÇUCU YAĞLARI İLE ZENGİNLEŞTİRİLEN POLİ LAKTİK ASİT ESASLI NANO-LİFLERİN ÇÖZELTİ ÜFLEMELİ EĞİRME TEKNİĞİ İLE ÜRETİMİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İklime ÖZCAN
(19278347018)

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Furkan Türker SARICAOĞLU

AĞUSTOS 2021

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Bursa Teknik Üniversitesi'nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere göre uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, Bursa Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi 200Y007 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, 200Y007 numaralı "Sucuk Baharatı Karışımı Uçucu Yağları ile Zenginleştirilen Poli Laktik Asit Esaslı Nano-Liflerin Çözelti Üflemeli Eğirme Tekniği ile Üretimi" projesi ile desteklenmiştir.

İNTİHAL BEYANI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belgelediğimi, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: İklime ÖZCAN

İmzası:

Babamın anısına,

ÖNSÖZ

Tez sürecimin başından sonuna her noktasında sonsuz desteği ve hoşgörüsünü benden esirgemeden bilgi ve deneyimlerini paylaşan çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Furkan Türker SARICAOĞLU'na tüm içtenliğimle teşekkür ederim. Yüksek lisansa başlamama vesile olan, eğitim aldığım süre boyunca ilgi, destek ve anlayışını hep hissettiren manevi desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Aycan CİNAR'a, her türlü katkıları ve desteğinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi A. Fatih DAĞDELEN'e teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmaları sırasında sabrı, desteği ve yardımları için Büşra Nur Aslan'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında yitirdiğim, karakterimi, kişiliğimi, tüm değerlerimi borçlu olduğum canım babam Muhammet ÖZCAN'a, bu süreçte devam etmemi, yılmamamı sağlayan annem Fatma ÖZCAN'a, ablam Deniz KAHRAMAN'a sonsuz teşekkürler.

Bu tez, 200Y007 numaralı "Sucuk Baharatı Karışımı Uçucu Yağları ile Zenginleştirilen Poli Laktik Asit Esaslı Nano-Liflerin Çözelti Üflemeli Eğirme Tekniği ile Üretimi" projesi ile desteklenmiştir. Bursa Teknik Üniversitesi'ne tezin gerçekleştirilmesi için verdiği katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Temmuz,2021 İklime ÖZCAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ..... **vii**
İÇİNDEKİLER ..... **viii**
KISALTMALAR ..... **x**
SEMBOLLER ..... **xi**
ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **xiii**
ÖZET ..... **xiv**
SUMMARY ..... **xvi**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Tezin Amacı 3
1.2 Hipotez 3
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI **4**
2.1 Doğal Aktif Bileşenler 4
2.2 Baharat Karışımına Ait Literatür Araştırması 5
2.2.1 Kimyon 5
2.2.2 Kırmızı Biber 7
2.2.3 Karabiber 9
2.3 Nanoteknoloji 10
2.3.1 Nanoteknolojinin gıda alanında kullanımı 10
2.3.2 Nanomateryallerin sınıflandırılması 11
2.3.3 Nanolifler 11
2.3.4 Nanolif üretim yöntemleri 12
2.4 Çözelti Üflemeli Eğirme Yöntemi 14
2.4.1 Çözelti üflemeli eğirme yöntemini etkileyen parametreler 15
2.4.1.1 Çözelti parametreleri 16
2.4.1.2 Proses parametreleri 18
2.4.1.3 Sistem Parametreleri 19
2.4.2 Çözelti üflemeli eğirme yönteminde kullanılan biyobozunur özellikteki polimerler 19
3. MATERYAL ve YÖNTEM **22**
3.1 Materyal 22
3.2 Yöntem 22
3.2.1 Besleme Çözeltisinin Hazırlanması 22
3.2.2 Çözelti Üflemeli Eğirme Yöntemi 23
3.2.3 Nanoliflerin SEM ile Morfolojik Özellikleri: 24
3.2.4 Nanoliflerin DSC ile Termal Özellikleri: 24
3.2.5 Nanoliflerin TGA ile Termal Özellikleri: 25

3.2.6 Nanoliflerin AFM Analizi:.....25
3.2.7 Nanoliflerin Suda Çözünürlük Analizi.....25
3.2.8 Nanoliflerin Antioksidan kapasitesi:.....25
3.2.9 İstatiksel Analizler 26
4. BULGULAR.....27
4.1 Nanoliflerin SEM ile Morfolojik Özellikleri:.....27
4.2 Nanoliflerin DSC ile Termal Özellikleri 30
4.3 Nanoliflerin TGA ile Termal Özellikleri.....33
4.4 Nanoliflerin AFM Analizi 36
4.5 Nanoliflerin Suda Çözünürlük Analizi.....38
4.6 Nanoliflerin Antioksidan Aktivite Özellikleri.....38
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 41
KAYNAKÇA 43
ÖZGEÇMİŞ.....49

KISALTMALAR

DPPH : 2,2, difenil 1-pikri hidrazil
PLA : Poli laktik asit
EY : Esansiyel yağ
DSC : Diferansiyel taramalı kalorimetre
TGA : Termo-gravimetrik analiz
AFM : Atomik kuvvet mikroskobu
MİK : Minimum inhibisyon konsantrasyonu
PEO : Polietilen oksit

SEMBOLLER

%AA	: Antioksidan Aktivite
$\mathbf{A_{kontrol}}$	: Nanolif içermeyen DPPH çözeltisinin absorbans değeri
$\mathbf{A_{örnek}}$	: Nanolif içeren DPPH çözeltisinin absorbans değeri
$\mathbf{T_g}$	: Camsı geçiş sıcaklığı (°C)
ΔH	: Camsı geçişe ait entalpi (J/g)
$\mathbf{T_c}$	: Kristalizasyon sıcaklığı (°C)
$\mathbf{\Delta H_c}$	: Kristalizayona ait entalpi (J/g)
$\mathbf{T_e}$	: Erime sıcaklığı (°C)
$\mathbf{\Delta H_e}$	: Erimeye ait entalpi (J/g)
$\mathbf{X_c}$ **(%)**	: Kristalizasyon derecesi
$\mathbf{W_0}$	: Nanoliflerin ilk ağırlığı
$\mathbf{W_1}$	: Nanoliflerin kurutulmuş ağırlığı
$\mathbf{T_{d1}}$ **başlangıç**	: Birinci Isıl degredasyonun başlangıç sıcaklığı (°C)
$\mathbf{T_{d2}}$ **başlangıç**	: İkinci Isıl degredasyonun başlangıç sıcaklığı (°C)
$\mathbf{\Delta W_1}$	: Birinci ısıl degredasyon sonucu kütle kaybı (%)
$\mathbf{\Delta W_2}$	: İkinci ısıl degredasyon sonucu kütle kaybı (%**)**

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Kimyon tohumlarının uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri (Haşimi ve diğ., 2014). **6**
Çizelge 2.2 : En yaygın kullanılan nano-lif üretim teknikleri ve bazı özellikleri(Büyüknalçacı, 2018)..... **12**
Çizelge 2.3 : Çözelti üflemeli eğirme yöntemini etkileyen parametreler (Büyüknalçacı, 2018). **15**
Çizelge 3.1 : Baharat karışımı bileşimi..... **22**
Çizelge 4.1 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflerin DSC analiz sonuçları. **32**
Çizelge 4.2 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflerin TGA analiz sonuçları. **35**
Çizelge 4.3 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflerin sudaki çözünürlükleri. **38**
Çizelge 4.4 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflerin antioksidan aktivite analiz sonuçları. **39**

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Aktif Ambalajlardan gıdaya biyoaktif maddelerin geçişi (Han ve diğ, 2018). **4**
Şekil.2.2 : *Cuminum cyminum* bitkisi ve tohumları (Köhler,1887). **5**
Şekil 2.3 : *Capsicum annuum* bitkisi ve tohumları (Köhler,1887). **8**
Şekil 2.4 : *Piper nigrum* bitkisi ve tohumları (Köhler,1887). **9**
Şekil 2.5 : Hacim ve sayı dağılımlarına göre nano materyal tanımları arasındaki farkın şematik gösterimi(Baumung ve diğ, 2016). **10**
Şekil 2.6 : (A)Eş merkezli nozul sisteminin şematik gösterimi. (B) Genel bir döner toplayıcılı çözelti üflemeli eğirme proses düzeneği. Daristotle ve diğ,(2016) kaynağından düzenlenmiştir. **14**
Şekil 2.7 : Çözelti üflemeli eğirme yönteminde kullanılan biyobozunur özellikteki polimerler. **21**
Şekil 3.1 : Çözelti üflemeli eğirme yöntemi düzeneği şeması (Medeiros ve diğ, 2009). **23**
Şekil 3.2 : Püskürtme düzeniğinin detaylı görüntüsü (Medeiros ve diğ, 2009). **24**
Şekil 4.1 : PLA bazlı nanolife ait SEM görüntüsü (20.00 KX). **28**
Şekil 4.2 : Esansiyel yağ oranı artışı ile ortalama lif çapı (nm) arasındaki değişim. **28**
Şekil 4.3 : %5 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (a), %10 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (b), %15 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (c), %20 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (d); %25 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (e) %30 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (e) ait SEM görüntüleri (20.00 Kx). **29**
Şekil 4.4 : Farklı oranlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflerin DSC termogramı. **31**
Şekil 4.5 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflere ait TGA termogramı. **34**
Şekil 4.6 : PLA esaslı nanolife ait AFM görüntüsü. **37**
Şekil 4.7 : %5 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (a), %10 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (b), %15 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (c), %20 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (d); %25 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (e) %30 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (e) ait AFM görüntüsü. **37**
Şekil 4.8 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflere ait DPPH inhibisyon grafiği. **40**
Şekil 4.9 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflere ait antioksidan aktivite grafiği. **40**

SUCUK BAHARATI KARIŞIMI UÇUCU YAĞLARI İLE ZENGİNLEŞTİRİLEN POLİ LAKTİK ASİT ESASLI NANO-LİFLERİN ÇÖZELTİ ÜFLEMELİ EĞİRME TEKNİĞİ İLE ÜRETİMİ

ÖZET

Gıda kaynaklı atıkların azaltılmasında; gıdaların bozulmasının yavaşlatılması ve raf ömrünün uzatılması amacıyla geliştirilen yenilikçi ambalajlama teknolojileri büyük önem arz etmektedir. Nanoteknoloji de sıklıkla gıda ambalalajlarının geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Nanoteknolojik yöntemler ile geliştirilen ambalajlara entegre edilebilen biyobozunur özellikler sayesinde petro-kimyevi esaslı ambalajlara göre çevreye verilen zarar azaltılabilmektedir. Dizayn edilen ambalajların ve sistemlerin fonksiyonel olması, endüstride kullanılabilmesi için de ekonomik ve kolay üretilebilir bir yönteme sahip olması gerekmektedir. Nanolif üretiminde çözelti üflemeli eğirme yöntemi sanayide uygulanabilirliğinin kolay olması, düşük maliyet, biyobozunur özellikteki maddeler ile üretilebilir olması açısından umut vaat etmektedir. Bu çalışmada biyobozunur özelliğe sahip olan polilaktik asit (PLA) içerikli biyoaktif bileşen katkılı nanoliflerin çözelti üflemeli eğirme yöntemi ile üretilmesi ve karakterizasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Biyoaktif bileşen olarak Kırmızıbiber, kimyon ve karabiberden oluşan baharat karışımından clavenger düzeneği ile baharat karışımı esansiyel yağı elde edilmiş ve kullanılmıştır. Elde edilen esansiyel yağ nanolif üretiminde kullanılacak olan PLA çözeltisine PLA miktarı üzerinden %5, %10, %15, %20, %25 %30 oranlarında eklenerek nanolifler üretilmiştir. Nanolifler üretildikten sonra SEM analizi ile morfolojik karakteri hakkında bilgi edinmek amacıyla esansiyel yağ katkılı olan ve sadece PLA içeren nanoliflerin ortalama lif çapları ölçülmüştür. Esasiyel yağın nanolif yapısında homojen olarak disperse olduğu, pürüzsüz bir yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir. Ortalama lif çapı PLA bazlı nanolifte 71,15 nm, esansiyel yağ ilaveli olan nanoliflerde ise 58,17-107,35 nm arasında bulunmuştur. AFM analizi ile nanoliflerin yüzey pürüzlülükleri analiz edilmiş SEM analizi ile benzer sonuçlar gözlenmiştir. Üretilen nanoliflerin termal özelliklerini belirlemek için öncelikle DSC analizi ile nanoliflerin camsı geçiş, kristalizasyon ve erime sıcaklıkları belirlenmiştir. Esansiyel yağ konsantrasyonunun artışı ile kristalizasyon sıcaklığının düştüğü tespit edilmiştir. Diğer litaratür çalışmalarında da tespit edildiği üzere esansiyel yağ ilavesinin nanolifin termal stabilizasyonunu arttırdığı TGA analizi sonuçları tespit edilmiştir. Nanoliflerin suda çözünürlükleri analiz edilmiş olup, esansiyel yağ ilavesi ile nanoliflerin sudaki çözünürlüklerinin 4-18 mg/L arasında arttığı tespit edilmiştir. DPPH indirgeme yöntemi ile yapılan antioksidan aktivite analizlerinde esansiyel yağın artan konsantrasyonlarına göre nanoliflerde %26 ile %40 arasında değişen antioktioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. PLA esaslı nanolifin %4 antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak yapılan çalışma göstermiştir ki, PLA içerikli nanoliflere baharat esansiyel yağının ilave edilmesi nanolif

yapısına iyi disperse olabilmektedir. Nanolifler esansiyel yağ içeriği sayesinde de antioksidan aktivite sergilemiştir.

Anahtar kelimeler: Çözelti üflemeli eğirme yöntemi, PLA, esansiyel yağ, nanolif, antioksidan aktivite.

PRODUCTION OF POLY LACTIC ACID BASED NANOFIBERS ENRICHED WITH ESSENTIAL OILS OF SUJUK SPICE MIXTURE BY SOLUTION BLOW SPINNING METHOD

SUMMARY

Innovative packaging technologies developed to extend shelf life of food and slowing down the food spoilage are great importance in reducing food-borne waste. Nanotechnology is also often used in the development of food packaging. Thanks to biodegradable properties that can be integrated into packaging developed by nanotechnological methods, environmental damage can be reduced compared to petro-chemical-based packaging. Designed packages and systems are should be functional and have an economical and easy-to-produce method to be used in industry. Nanofiber fabrication by solution blowing spinning method is promising in terms of its easy applicability in industry, low cost, biodegradable materials. In this study, it was aimed to determine the fabrication and characterization of bioactive components in polylactic acid (PLA) based nanofiber that have biodegradable properties by the SBS method. Essential oil of the spice mixture that consisting of red pepper, cumin and pepper as the bioactive components was gained from the spice mixture by clevenger system. PLA-based polymer solution that was added to the gained essential oil with different concentrations from %5 to %30 was used for fabrication of nanofiber. After the fiber was fabricated, the average fiber diameters of the nanofiber that contains essential oil and contain only PLA were measured to examine their morphological character by SEM analysis. It has been found that the essential oil is homogeneously dispersed in nanofiber structure and it has a smooth structure. The average fiber diameter was found 71.15 nm in PLA-based nanofiber and 58.17-107.35 nm in nanofiber with essential oil added. Surface roughness of nanofibers was analyzed by AFM analysis and similar results were observed by SEM analysis. Primarily, glass transition, crystallization and melting temperatures of nanofibers were determined to define thermal characterization by DSC analysis. It has been found that the crystallization temperature is decreased with an increase in the concentration of essential oil. It has been observed that the addition of essential oil increases the thermal stabilization of the nanofiber by TGA analysis. Antioxidant activity in nanofiber is been found variable range from 26% to 40% according to increased concentrations of essential oil by antioxidant activity analyses performed by DPPH inhibition method. Antioxidant activity of PLA-based nanofiber has been found as 4%. As a result, the study showed that adding spice essential oil to nanofiber with PLA content can be well dispersed to the nanofiber structure. Thanks to its essential oil content, nanofibers also showed antioxidant activity.

Keywords: Solution blow spinning method, PLA, essential oil, nanofiber, antioxidant activity.

1. GİRİŞ

Dünya'da yenilikçi ve çevreci ambalajlama teknikleri olarak; petrol kaynaklı plastikler yerine biyo-bozunur polimerlerin kullanılması ve yaygınlaştırılması, doğal aktif koruyucu bileşenlerin ambalaj materyalleri ile birlikte kullanılarak yapay koruyucu kullanımının azaltılması ve nano-teknolojik ambalaj malzemelerin geliştirilerek çok daha etkin bir koruyucu yapının kazandırılması üzerine çalışmalar sürdürülmektedir. Nanomateryallerin gıda ambalajlama uygulamalarında kullanılması yenilikçi uygulamalar arasında yer almaktadır. Farklı özellikteki polimerler nano boyuta getirilerek yeni özellikler kazandırılabilmektedir (Echegoyen ve diğ, 2016). Kullanılan polimerler biyobozunur özellikte olabilmektedir, bu sayede ambalaj kaynaklı çevre kirliliği açısından iyi bir alternatif oluşturmaktadır. Nanolif üretiminde biyobozunur özelliğe sahip olan birçok polimer tercih edilmektedir. Bunlardan en çok tercih edileni doğal kaynaklardan kolaylıkla üretilebilmesi, toprakta kısa sürede çözünebilmesi, üstün mekanik ve termal özelliklerine sahip olmasından dolayı poli laktik asittir (PLA) (Hazer, 2011).

Nanolif üretiminde kullanılan en yaygın yöntem elektro-eğirme yöntemidir. Üretilen nanolif miktarının daha az olması ve üretim maliyetinin yüksek olması nedeniyle literatürde birçok araştırma bulunmasına rağmen, endüstriyel olarak kısıtlı kullanım alanı bulmuştur. Çözelti üflemeli eğirme yöntemi polimer çözeltisinden nanolif üretmek için kullanılan yeni bir yöntemdir. Basit bir üretim düzeneğinin olması, nanolif üretim miktarının yüksek ve en önemlisi üretim maliyetinin düşük olması nedeniyle elektro-eğirme yöntemine iyi bir alternatif oluşturmaktadır.

Çözelti üflemeli eğirme yönteminde polimer çözeltisine nanolifi daha fonksiyonel hale getirmek adına biyoaktif bileşenler ilave edilebilmektedir. Elektro-eğirme ve çözelti üflemeli eğirme yöntemi ile biyoaktif bileşenler ilave edilerek üretilen nanolifler hakkında birçok çalışma bulunmaktadır.

Yapılan bir çalışmada, kitosan ve poli etilen oksit karışımından üretilen nano-lifler nar kabuğu ekstraktı ile zenginleştirilmiş ve et dilimlerinin raf ömrü üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla et dilimleri 3.60 log kob/g *E. coli* O157:H7 kültürü içeren çözeltilere daldırıldıktan sonra üretilen nanolifler ile sarılmış ve farklı sıcaklıklarda (4 ve 25 ºC) depolanarak mikroorganizma faaliyeti gözlemlenmiştir. 4 ºC'de 10 gün depolanan örneklerde nanolif ile kaplama bakteri sayısını 2.96 log kob/g düzeyine indirirken, kaplanmamış kontrol örneklerinde bu sayının 6.60 log kob/g düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. 25 ºC'de 7 gün depolanan kaplanmış ve kaplanmamış örneklerde bakteri sayısı sırasıyla 5.80 ve 9.22 log kob/g düzeyine yükselmiştir. Araştırıcılar, aktif bileşen (nar kabuğu ekstraktı) içeren nano-liflerin etlerin raf ömrünü geliştirebileceğini ortaya koymuşlardır (Surendhiran ve diğ, 2020).

Liu ve diğ. (2019) yaptıkları çalışmada poli laktik asit/karbon nano-tüp/kitosan karışımından elektro-eğirme yöntemiyle üretilen nanoliflerin çileklerin raf ömrü üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırıcılar, %7 kitosan içeren nanoliflerle muhafaza edilen çileklerin fiziksel ve mikrobiyolojik yönden nanolif içermeyen kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu, çileklerin raf ömrünün uzadığını ve bu tür ambalajlama işleminin meyve-sebzelerin raf ömrünü geliştirme amacıyla kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

Sığır etlerinde *Listeria monocytogenes* gelişmesini önlemek amacıyla poli-lisin ile zenginleştirilen jelatin nanoliflerinin kullanıldığı bir çalışmada, et örneklerinin 4 ºC'de 10 gün ve 12 ºC'de 7 gün boyunca etin yüzey renginde ve duyusal özelliklerinde herhangi ir değişikliğe yol açmadan depolanabileceği belirlenmiştir. Ayrıca, depolama sürecinde *L. monocytogenes* bakterisine karşı antibakteriyel aktivite gözlemlendiği bildirilmiştir. Araştırıcılar, jelatin-poli lisin nanoliflerinin etlerin raf ömrünü geliştiren potansiyel ambalaj malzemesi olarak kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır (Lin ve diğ, 2018[a]).

Kanatlı etlerindeki *Campylobacter jejuni* bulaşmasını ve gelişmesini önlemek amacıyla kekik uçucu yağı içeren jelatin nanoliflerinin kullanıldığı başka bir çalışmada, 10^4-10^5 kob/g bakteri içeren çözelti içerisine tavuk etleri daldırıldıktan sonra nanolifler ile kaplanmış ve farklı sıcaklıklarda (4 ve 25 ºC) depolanarak mikroorganizma faaliyeti gözlemlenmiştir. 25 ºC'de 5 gün depolanan örneklerde bakteri sayısı başlangıç miktarına kıyasla 1.38 log kob/g azalma göstermiş, buna karşın, 4 ºC'de 7 gün depolanan örneklerin

azalması daha belirgin olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada tavuk örneklerinin nanolifler ile kaplanması ürün rengini, lipit oksidasyonunu, tekstürel ve duyusal özelliklerini önemli ölçüde muhafaza etmiş ve sonuç olarak tavuk etlerinin raf ömrünün geliştiği bildirilmiştir (Lin ve diğ, 2018[b]).

Yapılan araştırmaların ışığında biyoaktif bileşenler içeren nanoliflerin gıdaların yüzeyinde bozulmaya neden olan mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğu ve gıdaların duyusal özelliklerini değiştirmeyerek raf ömrünü geliştirdiği tespit edilmiştir. Bu bağlamda gıdaların korunmasında nanoteknolojik yöntemlerin kullanımı sınırlı olsa da umut vaat eden gelişmeler bulunmaktadır.

1.1 Tezin Amacı

Bu çalışmada, baharat karışımından elde edilen esansiyel yağların farklı konsantrasyonları ile zenginleştirilmiş PLA çözeltisinden çözelti üflemeli eğirme yöntemi ile nanolif elde etmek, üretilen nanoliflerin morfolojik, termal ve yüzey özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.2 Hipotez

Baharat karışımından elde edilen esansiyel yağlar ile zenginleştirilen nanoliflerin lif morfolojisi esansiyel yağ ilavesi ile bozulmamalı, boncuk oluşumu gözlenmemeli, esansiyel yağ lif yapısında iyi bir şekilde disperse olmalıdır. Nanolif yapısında topaklanma oluşmamalı ve esansiyel yağ katkılı nanolifler antioksidan aktivite göstermelidir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1 Doğal Aktif Bileşenler

Gıdaları bozulmaktan korumak amacıyla günümüzde yaygın olarak koruyucu katkı malzemeleri kullanılmaktadır. Yenilikçi gıda koruma yönelimi ise doğal aktif bileşenler kullanarak gıdayı korumak yönündedir. Bu anlamda literatürde antimikrobiyal özellikteki koruyucu katkılar olarak organik asitler (sorbik, benzoik, propiyonik, asetik, laktik, malik gibi), bakteriosinler (nisin, pediosin, laktisin gibi), fungusitler (benomil, imazalil gibi), parabenler (propilparaben, etilparaben), şelat ajanları (EDTA), inorganik gazlar (sülfür ve klorindioksit), metaller (gümüş, çinko oksit gibi), amino asit bazlı yapılar (Lauril-l-arginate ethyl ester gibi), kitosan, halojen bazlı yapılar (n-halamin, triclosan gibi), kuaterner amonyum tuzları, enzimler (lizozim, glikoz oksidaz gibi) ve bitkisel ekstraktlar (uçucu yağlar, likopen, karoten, lutein gibi) kullanılmaktadır (Yücel Şengün ve Öztürk, 2018).

Antimikrobiyal maddelerin gıda yüzeyine salınımı konusunda birkaç yöntem tercih edilmektedir. Doğal aktif bileşenlerin gıdayı çevreleyen ve koruyan ambalajın bileşiminde kullanılarak gıda ambalajından gıdanın dış yüzeyine kontrollü salınımının sağlanması yolu ile gıdanın dış yüzeyinin mikrobiyal bozulmalardan korunması çok tercih edilen yöntemlerden birisidir. Şekil 2.1'de ambalajdan gıdaya biyoaktif bileşenlerin geçiş mekanizması gösterilmiştir.



Şekil 2.1 : Aktif Ambalajlardan gıdaya biyoaktif maddelerin geçişi (Han ve diğ, 2018).

2.2 Baharat Karışımına Ait Literatür Araştırması

Bu çalışmada nanolif üretiminde biyoaktif bileşen olarak ilave edilen baharat karışımından elde edilen esansiyel yağ kullanılmıştır. Kullanılan baharat karışımının temelini; %46,88'ini kimyon, %46,87'sini kırmızı biber, %6,25'ini karabiber oluşturmaktadır. Bu araştırmada bu baharat karışımının tercih edilmesinin nedeni sucuk baharat karışımlarının temelinin bu baharatlardan oluşmasıdır. Elde edilen esansiyel yağ ile zenginleştirilmiş PLA bazlı nanoliflerin sucuk ve diğer fermente et ürünlerinin yüzey kısmına bariyer olarak kullanımına temel oluşturmak amaçlanmıştır.

Yapılan birçok çalışmada esansiyel yağ ilave edilen ambalajların antimikrobiyal aktivitesinin patojen ve bozulmaya sebep olan mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. (Zivanovic ve diğ., 2005; Gómez-Estaca ve diğ., 2010; Bonilla ve diğ., 2014; Davidovich-Pinhas ve diğ., 2014).

Esansiyel yağların antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip olması et ve et ürünleri ambalajlarında ürünün kalite özelliklerinin raf ömrü boyunca korunması için iyi bir çözüm önerisi oluşturmaktadır.

2.2.1 Kimyon

Umbelliferae (Apiaceae) familyasına ait *Cuminum cyminum* (Şekil 2.2), kimyon, Anadolu topraklarında binlerce yıldır yetişen, çok değerli bileşenler içeren ve ülke ekonomisine önemli katkılar sağlayan baharatlardan biridir. (Keskin ve Baydar, 2016)



Şekil 2.2: *Cuminum cyminum* bitkisi ve tohumları (Köhler,1887).

Yaprak ve tohum kısımlarının kurutulup öğütülmesi ile özellikle et ürünleri başta olmak üzere gıdaların lezzet ve aromasının zenginleştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır.

Keskin ve Baydar (2016) yaptıkları çalışmada kimyondan elde edilen uçucu yağ oranının ortalama %1,77 olduğunu ve en önemli uçucu yağ bileşeni α-thujenal (%30,90-42,52) olduğunu tespit etmişlerdir. α-thujenal'den sonra en yüksek orana sahip bileşenin kumin aldehit (%17,55-%20,15) olduğunu bildirmişlerdir.

Haşimi ve diğ. (2014) kimyon tohumlarının uçucu yağ kompozisyonu üzerine yaptıkları çalışmada kimyondaki uçucu yağ oranını %2,46 olarak tespit etmişlerdir. En önemli uçucu yağ bileşenlerini ise sıra ile β-pinen (%15,77), α- terpinen (%15,52), 1-fenil1-butanol (%15,13), kuminik aldehit (%12,74) ve terpineolen (%8,42) olarak belirlemişlerdir.

Çizelge 2.1'de Haşimi ve diğ. (2014)'nin kimyon tohumlarından elde ettikleri uçucu yağın antimikrobiyal aktivite analizine göre bazı mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon zon çapları verilmiştir, araştırma sonuçlarına göre kimyon uçucu yağının 10 µL uygulamasında *C. albicans* üzerine yüksek inhibisyon etkisinin bulunduğu görülmüştür.

Çizelge 2.1 : Kimyon tohumlarının uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri (Haşimi ve diğ., 2014).

	İnhibisyon zon çapları (mm)	
Test Mikroorganizmaları	Kimyon	
	5 µL	10µL
E. coli ATCC 25922	15,66 ± 0,2	18.33±0.3
P. aeruginosa ATCC 27853	Zon yok	Zon yok
S. aureus ATCC 25923	14±0.72	18.33±0.53
S. pyogenes ATCC 19615	17±0.61	17.66±0.55
C. albicans ATCC 10231	13.66±0.5	22±0.9

Ramadan ve diğ. (2012) yaptıkları çalışmada Haşimi ve diğ. (2014)'nin yaptıkları çalışmaya paralel olarak kimyon uçucu yağının çeşitli mikroorganizmalar üzerinde 9-13 mm inhibisyon zon çapı ile antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Ağaoğlu ve diğ. (2007), et endüstrisinde kullanılan baharatların antimikrobiyal etkileri üzerine yaptıkları çalışmada kimyon esansiyel yağının *S. aureus, E. faecalis, M. smegmatis, M. Luteus* ve *C. albicans* üzerinde inhibe edici etkisinin bulunduğunu, *K. pneumoniae, P. aeruginosa* ve *E.coli* türleri üzerinde ise etkisinin bulunmadığını tespit etmişlerdir.

Haşimi ve diğ. (2014) yaptıkları çalışmada kimyon uçucu yağının antioksidan aktivitesinin DPPH yöntemine göre %75,6 olarak belirlemiş ve en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan askorbik asite (%78,75) çok yakın seviyede antioksidan aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Allahghadri ve diğ. (2010) kimyon esansiyel yağının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmada kimyon esansiyel yağının BHT ve BHA ile kıyaslandığında yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalıştıkları patojen mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etkisinin bulunduğunu ve kimyon esansiyel yağının iyi bir doğal antioksidan olabileceğini bildirmişlerdir.

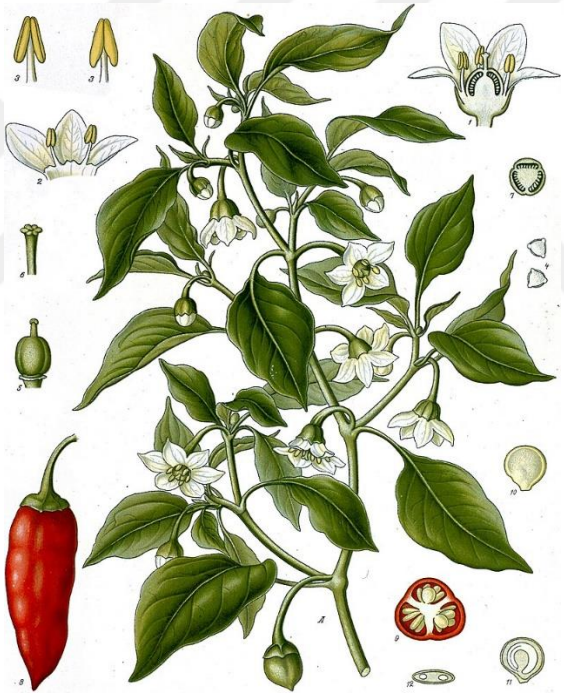
Yapılan çalışmalara göre kimyon esansiyel yağı güçlü antioksidan etkiye ve bazı mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etkisi olan antimikroyal aktivite sergilediği gözlenmektedir.

2.2.2 Kırmızı Biber

Solanaceae familyasına ait olan *Capsicum annuum* (Şekil 2.3), biber, anavatanı Güney ve Orta Amerika olan birçok gıdada baharat olarak kullanılmaktadır. Diğer sebzelere göre kırmızı biber yüksek C vitamini içeriği ile öne çıkmaktadır. Kırmızı bibere acılığını veren alkoloid bileşen olan kapsaisin sadece kırmızı bibere özgü bir bileşendir. Kırmızı biber ayrıca A ve E vitamini içermektedir ve yüksek antioksidan özelliğe sahiptir (Kaynak?).

Kapsaisin ve dihidrokapsaisin *C. annuum'*dan etilasetat ile ekstrakte edilebilerek ayrıştırılabilmektedir. Kurutulmuş acı biberin tohumlarından, saplarından ve kabuğundan aseton, asetonitril ve etanol ile hazırlanan ekstraktlarda ortalama 8-18 mg/g kapsaisin ve

0,69-9,17 mg/g dihidrokapsaisin tespit edilmiştir. Kırmızı biber, kapsaisin içeriğinin yanı sıra alkoloidler, polifenoller ve steroidler içermektedir. Ayrıca kırmızı biber antibakteriyal, antifungal, antiviral, antitümör ve antiparazitik etkisi olan defensin içermektedir (Puvača ve diğ, 2014). Kırmızı biber esansiyel yağlarının ve ekstraktlarının *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium tetani*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* ve *Vibrio cholerae* üzerine inhibe edici etkisinin olduğu birçok çalışma tarafından tespit edilmiştir (Kuda ve diğ., 2004; Santos ve diğ., 2012; Koffi-Nevry ve diğ., 2012; Silva ve diğ., 2013; Doğan ve diğ, 2018).



Şekil 2.3 : *Capsicum annuum* bitkisi ve tohumları (Köhler,1887).

Sim ve diğ. (2007) yaptıkları çalışmaya göre kırmızı biberin pericarp ve tohumlarından elde ettikleri ekstraktlarda yüksek antioksidan aktivite tespit etmişlerdir. Kırmızı biber pericarp kısmından elde edilen ekstraktın tohumlarından elde edilene göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir. Kırmızı biberin tohumlarının ve atıklarından elde edilecek ekstraktların et ve et ürünlerinde kullanılmak üzere sentetik antioksidanların kullanılmasının yerine doğal antioksidan olarak alternatif olabileceğinden bahsetmişlerdir.

2.2.3 Karabiber

Karabiber (*Piper nigrum*) (Şekil 2.4) Piperaceae familyasına ait bir bitkidir. Bu bitkinin meyvelerinin kurutularak öğütülmesi ile baharat olarak kullanılmaktadır. Hindistan ve Güney Asya'nın tropikal bölgelerinde yetişmektedir. Gıda endstrüsinde baharat olarak kullanılmasının yanı sıra, oleoresin ve esansiyel yağlarının kullanımı da gerçekleştirilmektedir.

Karabiberin ekstraktlarında 20 ila 50 değişik bileşen karışımı tespit edilmiştir. Bu bileşenlerden yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu tespit edilen terpenoidler *S. aureus* ve *Escherichia coli* gibi gıda kaynaklı patojenlere , ve *Erwinia spp.* ve *Pseudomonas fluorescens* gibi bozulmaya neden olan bakterilere karşı antimikrobiyal etkilerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda bulunan bileşenlerin diğer bileşenler ile sinerjistik etki göstererek antibakteriyal etki üzerine kritik rolünün olduğu belirlenmiştir (Myszka ve diğ, 2018).



Şekil 2.4 : *Piper nigrum* bitkisi ve tohumları (Köhler,1887).

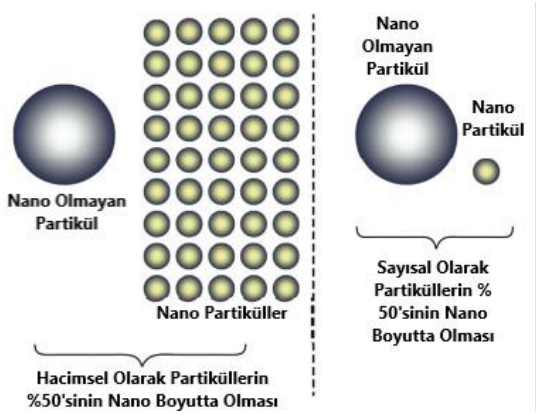
Nikolic ve diğ. (2015) ve Chaudhry ve Tariq (2006) yaptıkları çalışmaya göre karabiberin biyoaktif bileşenlerinin antimikrobiyal aktivitesinin gıda zehirlenmelerine neden olan

gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerine etkisinin olduğunu tespit etmişler ve karabiberin fonksiyonel gıda katkısı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Karabiber esansiyel yağının minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) seviyelerine göre *S. aureus*'un (MİK 1,0 ve 3,75 mg/mL arasında değişmektedir) *Listeria monocytogenes* ve *Micrococcus flavus* (MİK= 0,31 mg/mL) türlerine göre daha dirençli olduğu gözlenmiştir (Nikolic ve diğ, 2015; Rakmai ve diğ, 2017; Rukayadi ve diğ, 2013).

2.3 Nanoteknoloji

Nanoteknoloji terimi moleküler boyutta maddelerin işlenerek yeni madde ya da nano materyallerin üretilmesini açıklar. Avrupa birliği yasalarına göre nano materyal; bağlı olmayan formda, kümelenmiş veya topak halinde parçacıklar içeren ve bu parçacıkların sayı büyüklüğü dağılımda %50 veya daha fazlası için bir ya da daha fazla dış boyutu 1-100 nm aralığında olan doğal olarak, tesadüfi veya üretilmiş bir malzeme anlamına gelmektedir. (EU, 2011). Materyalin tanımında hatalara yol açmaması adına Nano partikül izleme analizinde partikül dağılımlarının Avrupa Birliği yasasında yer alan parçacıkların sayı büyüklüğü dağılımında olması gerekmektedir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 : Hacim ve sayı dağılımlarına göre nano materyal tanımları arasındaki farkın şematik gösterimi(Baumung ve diğ, 2016).

2.3.1 Nanoteknolojinin gıda alanında kullanımı

Günümüzde ilerleyen teknolojiler ile nanoteknoloji malzeme, elektronik, bilgisayar, tıp, ilaç, tekstil, çevre, enerji, biyoteknoloji, tarım ve gıda gibi birçok alanda hayatımızda yer almaya başlamıştır. Diğer alanlara göre nanoteknolojinin gıda alanındaki uygulamalarının

daha az olduğu söylenebilir (Tarhan ve diğ, 2010). Bununla birlikte, nanoteknoloji gıda üretimi, işleme, analiz ve ambalajlama gibi alanlarda gıda endüstrisinin kullandığı mevcut yöntemleri iyileştirerek, gelişmekte olan ülkelerde nüfus artışı ve gelir artışı ile oluşan ve gittikçe artan gıda talebini karşılamada büyük bir potansiyele sahiptir ve dünya çapında önemli bir araç haline gelmektedir (Neethirajan ve Jayas, 2010; Torres-Giner, 2011).

Gıda teknolojisinde nanoteknolojinin kullanımına ait birçok yöntem bulunduğu bilinmektedir. Gıda alanında nanoteknoloji uygulamaları dört ana başlıkta derlenebilir. Bunlar: gıdaların işlenmesi ve yeni fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesi, biyoaktif maddelerin taşınması ve kontrollü salınımı, temel gıda güvenliğinin ve biyogüvenliğinin arttırılması, ürünün kalitesi ve raf ömrü iyileştiren ambalajlama sistemlerinin geliştirilmesidir (Çicek, 2016, Saka ve Gülel, 2015, Tarhan ve diğ, 2010). Gıda kalitesi ve ürün güvenliğinin geliştirilmesi açısından nanoteknolojinin gıda ambalajlama sistemlerinde uygulanması büyük bir inovasyon niteliğinde olduğu düşünülmektedir (Khan ve diğ, 2016). Nanoteknolojik gıda ambalajlama sistemleri ile biyoaktif bileşenlerin taşınması ve kontrollü salınması ile ürünün kalitesinin ve raf ömrünün iyileştirilmesi uygulamaları konusunda çalışmalar gelecek vaat etmektedir.

2.3.2 Nanomateryallerin sınıflandırılması

Nanomateryallerin fonksiyonel özellikleri tiplerine ve boyutuna göre farklılık göstermektedir. Nanomateryaller genellikle sıfır, bir, iki ya da üç boyutlu yapılarına göre ayrılmaktadır. Sıfır boyutlu nanomateryallerin 3 boyutu da nanometre boyutundadır, gümüş nanoparçacıkları gibi, bir boyutlu nanomateryallerin bir boyutu hariç diğer boyutları nano ölçektedir, örn: nanolifler, iki boyutlu nanomateryallerin sadece bir boyutu nano boyuttadır, örn: nano filmler, üç boyutlu nanomateryallerin 3 boyutu da nano ölçekli değildir. Bu materyaller nano ölçekteki materyallerin birleşmesi ile oluşurlar. Örn: polikristaller (Baumung ve diğ, 2016).

2.3.3 Nanolifler

Nanolifler 10-1000 nm boyutundadır. Nanolifler, nanoteknolojinin önemli uygulamalarından biridir. Gıda kaynaklı komponentlerden üretilememesi nedeniyle nanoliflerin gıda endüstrisi alanında kullanımı sınırlıdır. Günümüzde gıda kaynaklarından

elde edilen biyobozunur materyallerden nanolif üretimi konusunda çalışmalar bulunmaktadır (Khan ve diğ, 2016; Kriegel ve diğ, 2016) .

Lin ve diğ. (2018[b]) jelatin, Fonseca ve diğ. (2000) nişasta, Liu ve diğ. (2019) kitosan kullanarak nanolif elde etmişlerdir.

Nanolifler üretildikleri hammaddelerinden farklı fizikokimyasal etkiler gösterebilmektedir ya da daha iyi özellikler kazandırmak için ilave edilen bileşenler ile yeni özellikler kazanabilmektedir. Farklı yöntemler ile biyobozunur malzemelerden üretilen nanoliflerin antioksidan, antimikrobiyal özellikleri kazandıracak bileşenlerin eklenmesi mümkündür.

2.3.4 Nanolif üretim yöntemleri

Nanolifler eriyikten (melt blowing) nanolif üretimi, fibrilasyon ile nanolif üretimi, çözelti üfleme eğirme yöntemi, elektro eğirme yöntemi, santrifüj döndürme yöntemi gibi çeşitli yöntemler ile üretilebilmektedir (Kozanoğlu, 2006). Nano-liflerin üretiminde kullanılan teknikler; verim, kurulum ve işletme maliyeti, üretim miktarı, kullanılacak hammaddeye ve kullanım alanına göre değişebilmektedir. Sanayi ve laboratuvar ölçekli olarak kullanılabilen en yaygın nano-lif üretim tekniklerinin analizi Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2 : En yaygın kullanılan nano-lif üretim teknikleri ve bazı özellikleri (Büyüknalçacı, 2018).

Teknik	Üretim miktarı	Malzeme çalışma çeşitliliği	Güvenlik	Maliyet (sanayi boyutunda)
Çözelti üflemeli eğirme (Solution blow spinning)	Yüksek	Geniş	Yüksek	Düşük
Elektro eğirme (Electrospinning)	Düşük	Çok geniş	Düşük	Yüksek
Santrifüj eğirme (Centrifugal spinning)	Yüksek	Geniş	Yüksek	Orta
Eriyik üfleme (Melt blowing)	Yüksek	Dar	Yüksek	Orta

Çok çeşitli nanolif üretim yöntemleri olmasına rağmen elektro eğirme yöntemi, kesiksiz lif üretim kapasitesi ve basit üretim yönteminden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır.

Elektro eğirme yönteminde büyük bir elektrik alanı, iletken bir toplayıcının kullanılması ve lif üretim hızının çok yavaş olması nedeniyle bu yöntemin ticari kullanımı yaygın değildir (Liu ve diğ, 2018; Stojanovska ve diğ, 2016). Bu nedenle elektro eğirme yönteminin ticari alanda uygulanabilirliğini arttırmak için yeni yöntem arayışları sürmektedir.

Çözelti üflemeli eğirme yöntemi nanolif üretimi için yeni bir yaklaşımdır. Nanolif üretim kapasitesinin yüksek olması, elektrik alan gerekliliğinin olmayışı ve ekstra güvenlik tedbirlerine ihtiyaç duyulmaması nedeniyle bu yöntemin üretim ve işletme maliyetleri oldukça düşmektedir.

Elektro eğirme yöntemi ile nanolif üretimi konusunda literatürde çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Bu araştırmalar aşağıdaki gibi özetlenmiştir.

Nanolif üretiminde kullanılacak solvent seçimi üzerine Luo ve diğ. (2010) yaptıkları araştırmada 28 farklı solvent ile polimetilsilseskioksan polimer çözeltisi kullanarak nanolif üretmişler ve liflerin yapısı üzerine çalışmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre yüksek çözünürlüğe sahip olan çözgenlerin elektro-eğirme yöntemi ile nanolif üretiminde her zaman iyi bir çözüm oluşturmadığını, daha düşük çözünürlüğe sahip çözücülerden daha iyi elektro-eğirme yapılabildiğini önermişlerdir.

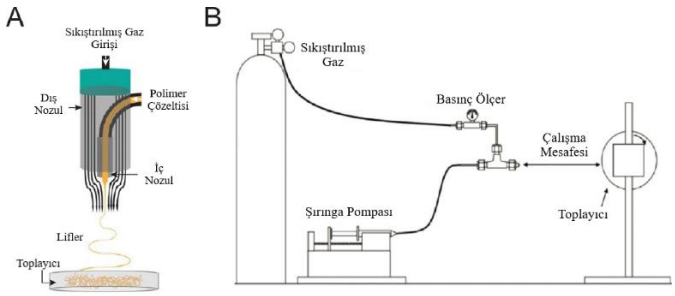
Fonseca ve diğ. (2000) kekik esansiyel yağı içeren nişasta polimer çözeltisinden elektro eğirme yöntemi ile nanolif üretmişlerdir ve nanoliflerin antioksidan aktiviteleri üzerine çalışmışlardır.

Lin ve diğ. (2017) tarçın esansiyel yağı/β-siklodekstrin proteolipozomlarının polietilen oksit (PEO) çözeltisine ilave ederek elektro eğirme yöntemiyle nanolifler elde etmişlerdir. Elde edilen nanoliflerin antimikrobiyal aktivitesini *B. cereus*'a karşı farklı sıcaklıklarda araştırmışlardır. 4 °C ve 12 °C'de 4 gün sonunda bakteri popülasyonunda %99,6- %99,9 oranında azalma sağlanmıştır, 25 °C ve 37 °C'de ise %99,99 ve %99,999 oranında popülasyonda azalma tespit edilmiştir. Ayrıca model gıda olarak biftek yüzeyinde de denemeler yapılmış ve tarçın esansiyel yağı/β-siklodekstrin proteolipozomlarını içeren nanoliflerin *B. cereus*'a önemli derecede antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Kanatlı yüzeyindeki *Campylobacter jejuni (C. jejuni)* kontaminasyonu et endüstrisi ve insan sağlığı açısından sorun teşkil etmektedir. Lin ve diğ. (2018[b]) yaptıkları çalışmada kekik uçucu yağı ve β siklodekstrin ε-polilizin nanopartikülleri içeren jelatinden elde edilen elektro-döndürme yöntemi ile üretilmiş nanoliflerin *C. jejuni* üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda kekik uçucu yağı ve β siklodekstrin ε-polilizin nanopartikülleri içeren jelatinden elde edilen nanoliflerin *C. jejuni* hücre duvarına zarar verdiğini, dolayısı ile nanoliflerin antimikrobiyal etkilerinin olduğunu tespit etmişlerdir.

2.4 Çözelti Üflemeli Eğirme Yöntemi

Günümüzdeki en yeni tekniklerden biri çözelti üflemeli eğirme tekniği nano ve mikro lif üretmek için geliştirilmiştir (Liu ve diğ, 2018). Çözelti üflemeli eğirme lif üretimi prosesi için iki paralel eş merkezli akışkan akışı gerekmektedir: uçucu solventle içerisinde çözünmüş olan polimer çözeltisi ve sıkıştırılmış gaz akışı (Şekil 2.6.A). Çözelti üflemeli eğirme yönteminin düzeneği genellikle taşıyıcı gazı sağlayan sıkıştırılmış gaz kaynağı ve polimer çözeltisini pompalayan bir şırıngayı içermektedir (Şekil 2.6.B) (Daristotle ve diğ, 2016).



Şekil 2.6 : (A)Eş merkezli nozul sisteminin şematik gösterimi. (B) Genel bir döner toplayıcılı çözelti üflemeli eğirme proses düzeneği. Daristotle ve diğ,(2016) kaynağından düzenlenmiştir.

Martínez-Sanz ve diğ. (2015) yaptıkları araştırmada yüksek kristalli bakteriyel selüloz nanokristaller ile yüklenmiş PLA bazlı nanolifleri çözelti üflemeli eğirme yöntemi ile elde etmişlerdir. Çalışmalarını bu komplekse antimikrobiyal bir bileşen olan karvakrol ekleyerek zenginleştirmişlerdir. Sonuç olarak çözelti üflemeli eğirme yöntemi ile antimikrobiyal bileşen gibi ilave bileşenlerin eklenmesi ile hibrit nanolif üretiminin mümkün olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca daha fazla nanolif üretiminin mümkün

olması ve daha düşük üretim maliyetleri ile elektro-döndürme yöntemine iyi bir alternatif sunabileceğini iletmişlerdir. Buraya biraz daha kaynak eklememiz gerek gibi hissediyorum. Tezimizin esas noktası bu yöntem olduğu için daha fazla literatür bilgisini gerektiriyor.

2.4.1 Çözelti üflemeli eğirme yöntemini etkileyen parametreler

Çözelti üflemeli eğirme yönteminde lif çapı, gözenekliliği ve diğer karakteristik lif özellikleri çoğunlukla polimer çözeltisi konsantrasyonundan, çözelti viskozitesinden yüzey geriliminden, çözücü seçiminden, hava basıncından ve besleme hızından etkilenmektedir (Parize ve diğ, 2016). Çözelti üflemeli eğirme yöntemini etkileyen parametreler Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.3 : Çözelti üflemeli eğirme yöntemini etkileyen parametreler (Büyüknalçacı, 2018).

Çözelti parametreleri	**Viskozite**
	Polimer konsantrasyonu
	Moleküler ağırlık
	Yüzey gerilimi
	Buhar Basıncı
Proses Parametreleri	Hava basıncı
	Nozul ile toplayıcı arası mesafe
	Çözelti akış hızı
Sistem Parametreleri	Nozul çapı
	Nozul geometrisi
Çevre koşulları	Sıcaklık
	Nem
	Atmosfer Basıncı

2.4.1.1 Çözelti parametreleri

Polimer Konsantrasyonu ve Viskozite

Çözelti konsantrasyonun artması ile birlikte çözeltinin viskozitesi artmakta, belirli bir konsantrasyona geldiğinde ise polimer zincir yapısında birbirine dolanmalar başlamaktadır (Parize ve diğ, 2016, Oliveira ve diğ, 2011).

Çözelti üflemeli eğirme yönteminde elektro eğirme yöntemi ile benzer olarak kesiksiz lif üretimi için değişik çözelti konsantrasyonlarına karar verebilmek için çözelti viskozitesi önemli bir role sahiptir. Kritik konsantrasyona ulaşıldığında kesiksiz lif üretimi gerçekleşmektedir ve çözelti konsantrasyonu lif morfolojisini etkilemektedir (Oliveira ve diğ, 2011). Parize ve diğ. (2016) tarafından yapılan çalışmaya göre farklı kayma hızındaki farklı polimer konsantrasyonu içeren çözeltiler Newton tipi akış davranışı sergilemektedir. Artan kayma hızı ile kayma gerilimi arasında lineer ve sabit artan bir ilişki bulunmaktadır. Çözelti konsantrasyonu artıkça eğri eğimi artmaktadır. Çözeltinin viskozite değeri kayma hızından bağımsızdır. Günümüzdeki araştırmalara göre polimer konsantrasyonu lif morfolojisini etkileyen en önemli parametredir. Polimer konsantrasyonu ve dolaylı olarak viskozitenin etkileri şu şekilde sıralanabilir: 1. Düşük viskozitede küçük lif ve boncuk oluşumu gözlenir, 2. Viskozitenin arttırılması ile lifler kalınlaşır, boncuksu yapılar azalır. Liflerin kalınlaşması ile birleşerek düzgün bir lif morfolojisi oluşur. Yüksek viskozite liflerin dallanmasına ve birbirine bağlanmış lif yapısının oluşmasına neden olur. Ayrıca viskozite (ya da konsantrasyon) ve lif çapı arasındaki bağımlılığın arttığı belirlenmiştir, yani daha düşük viskoziteye sahip polimer çözeltisinden elde edilen daha küçük nanolif çapları, eğirme işlemi sırasında jet içerisindeki polimer zincirlerinin daha çok hareket etmesi ile ilgilidir (Oliveira ve diğ, 2011).

Moleküler Ağırlık

Liflerde topaklanma problemi yüksek moleküler ağırlıklı lif kullanımı ile ilişkilendirilebilir. Polimerin moleküler ağırlığı arttıkça moleküler olarak polimer zinciri karmaşıklaşmaktadır. Polimer zincirinin karmaşıklaşması ile polimer gevşeme süresi (λ) artar. Bu durum lif üretimi sırasında moleküler ağırlığının yüksek olmasından dolayı lif yapısında topaklanmalar gözlenmesine neden olmaktadır. Bu nedenle düzgün lif

morfolojisi için düşük moleküler ağırlıklı polimerler tercih edilmelidir. Yüksek moleküler ağırlıklı polimer kullanılacak ise düşük polimer konsantrasyonu tercih edilerek liflerin topak yapması engellenebilir (Daristotle ve diğ, 2016).

Yüzey Gerilimi

Kohezyona bağlı bir olay olan yüzey gerilimi, bir sıvının yüzeyini esnetmenin yahut kırmanın zorluğunun ölçüsüdür. Suyun yüzey gerilimi diğer birçok sıvının yüzey geriliminden daha büyüktür. Su ile havanın ara yüzeyindeki su molekülleri birbirleri ve alttaki su ile hidrojen bağları yapmış olduklarından düzenli bir organizasyon içindedirler. Bu durum suyun yüzeyinde görünmez bir film varmış şeklinde davranmasına sebep olur (Reece ve diğ, 2010). Yüzey gerilimi, yüzeyin altında bulunan sıvı moleküllerinin gaz moleküllerinden daha çekici bir kuvveti olmasından dolayı aşağı doğru oluşan net bir kuvvetten kaynaklanmaktadır (Liu ve diğ, 2018).

Polimer konsantrasyonu arttıkça çözeltinin yüzey gerilimi artmaktadır. Parize ve diğ. (2016), yaptığı çalışmaya göre farklı çözelti konsantrasyonlarının yüzey gerilimleri arasında belirgin farklar bulunmamasına rağmen yüzey gerilimi, viskozite ile aynı eğilimi göstermektedir. Buna göre yüksek yüzey gerilimine sahip çözeltiler lif çapını arttırmaktadır. Bu bilgilere ilave olarak yüzey gerilimi çözeltideki çözgenin buharlaşma hızını da etkilemektedir (Ramakrishna ve diğ, 2005).

Buhar Basıncı

Çözücünün buhar basıncı liflerin oluşana kadar yapısını koruyacak kadar hızlı buharlaşmalı, ancak lifin nanometre boyutuna ulaşmadan önce lifin sertleşmesine izin vermeyecek kadar hızlı olmayan buharlaşmaya uygun olmalıdır. Çözücünün buhar basıncı moleküler ağırlığı ile doğru orantılıdır.

Çözücünün buhar basıncı nanoliflerde gözenek oluşumunda direkt olarak etkilidir. Çözücünün buharlaşması sırasında çözücü termodinamiksel olarak kararsız yapıya geçer. Bu durum polimerce zengin ve polimerce fakir olmak üzere iki faz oluşmasına neden olur. Polimerce zengin fazdayken faz ayrılmasından kısa bir süre sonra katılaşarak matris oluştururken, polimerce eksik olan faz ise gözenek oluşturmaktadır. Bu durumun başlıca sebebi çözücünün buhar basıncı olarak tanımlanmaktadır (Ramakrishna ve diğ, 2005). Bognitzki ve diğ. (2001) yaptığı çalışmaya göre gözenekli poli (L-laktik asit) (PLLA)

içerikli nanoliflerde, çözgen olarak kullanılan diklorometan yerine daha düşük buhar basıncına sahip olan kloroform kullanıldığında oluşan gözeneklerin etkili bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Oliveira ve diğ, 2013).

2.4.1.2 Proses parametreleri

Hava Basıncı

Oliveira ve diğ. (2011) PLA çözeltisinden çözelti üflemeli eğirme yöntemiyle yapmış olduğu çalışmaya göre çözelti akış hızındaki değişiklikler lif çapını etkilemektedir, çözelti akış hızı ise çözelti konsantrasyonu ve hava basıncı ile ilişkilidir. Hava basıncı 0,2 MPa olduğunda çözelti akış hızındaki anlık değişiklikler lif çapını daha çok etkilemektedir. 0,3 ile 0,4 MPa aralığındaki hava basıncında ise, besleme hızı lif morfolojisine çok az ya da hiç etki etmemektedir. Yapılan çalışmalar ışığında deney tasarımı ve uygun lif morfolojisi için uygun hava basıncının belirlenmesi gerekmektedir.

Nozul ile Toplayıcı Plaka Arası Mesafe

Nozul ile toplayıcı plaka arası mesafe lif çapına etkisi az da olsa lif yapısına etki eden bir proses parametresidir. Efektif çalışma mesafesi, liflerin toplanmadan önce kuruyabilmesi için gereken minimum mesafeden, birleşmiş liflerin toplayıcı plakada birikebilmesi için gereken maksimum mesafeye kadar uzamaktadır. Çalışma mesafesine liflerin yeterince kurumasını sağlayacak kadar toplayıcı plakanın nozula olduğunca yakın hareket ettirilmesi ile karar verilmektedir (Parize ve diğ, 2016).

Çözelti Akış Hızı

Çözelti akış hızı arttıkça lif çapı ve dağılımı artmaktadır, fakat düşük polimer konsantrasyonlarında bu durum parabolik bir etki göstermektedir. Optimum besleme hızında lif boyutu dağılımının daralması ve lif çapının azalması beklenmektedir, çünkü besleme hızı jetin çözeltiyi uzaklaştırma hızına eşit olduğunda, nozul çıkışında sabit konik şekil oluşmaktadır, aksi halde yüksek besleme hızına bağlı olarak nozul tıkanması ya da düşük besleme hızına bağlı olarak jet kararsızlığı oluşmaktadır. Yüksek besleme hızında, nozul ucunda biriken sarkıt damlası katılaşmaya başlayarak nozulu katılaşan polimer kalıntısı ile kapatıp tıkanmasına neden olabilir. Jet kararsızlığı ise çözelti besleme hızından daha hızlı toplayıcı plakaya sürüklendiğinde ortaya çıkar. Nozul tıkanmasına neden olmayacak besleme hızlarında doğal olarak lif verimliliği artmaktadır. Ayrıca bu

parametrenin optimal değeri, çözeltinin viskozitesinden güçlü bir şekilde etkilenir, bu da polimer molekül ağırlığına ve polimer konsantrasyonuna bağlıdır (Oliveira ve diğ, 2011).

2.4.1.3 Sistem Parametreleri

Lif morfolojisi nozzle geometrisi ve çapından da etkilenmektedir. Nozul çapı daraldıkça lif çapı da azalmaktadır.

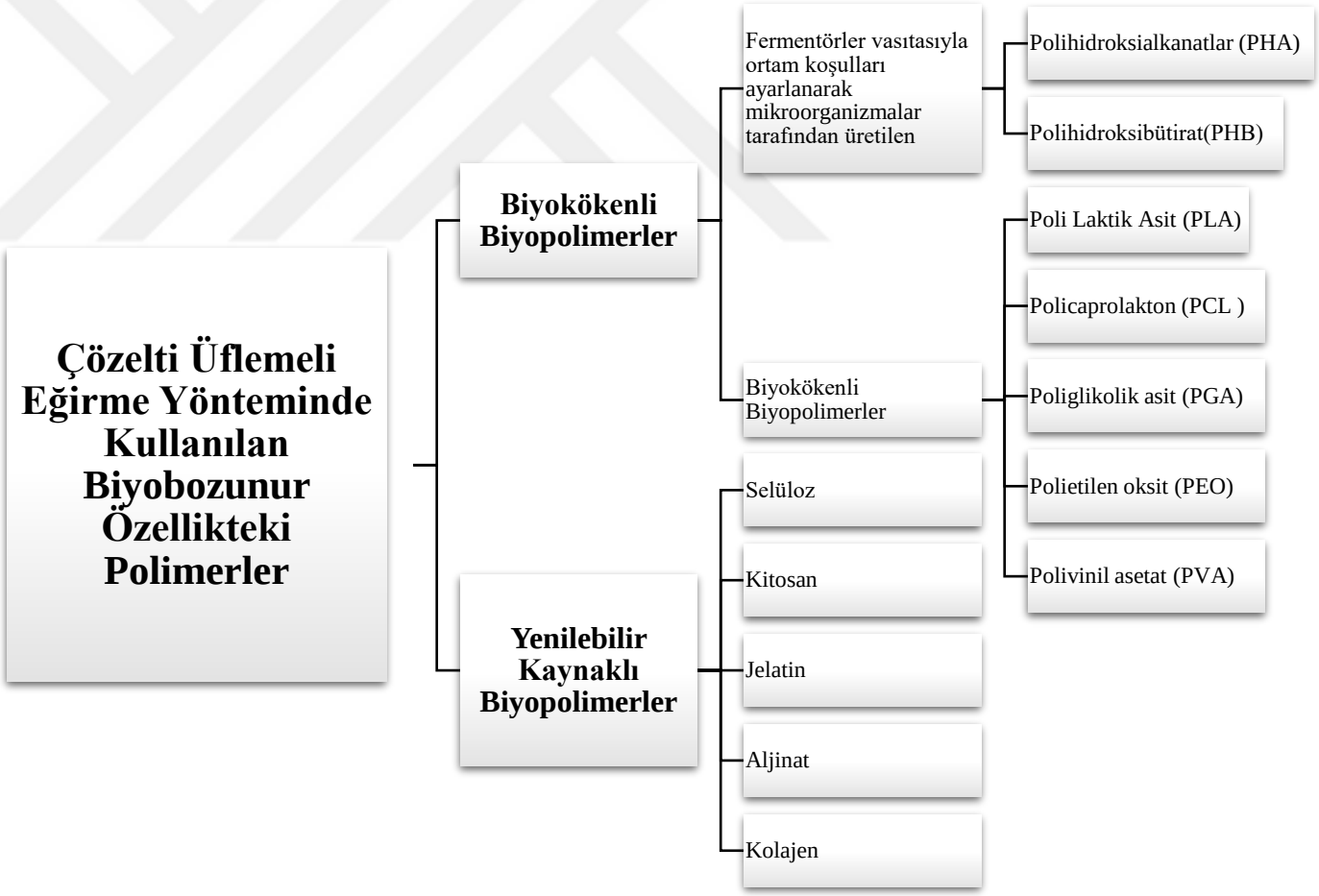
Polimer çözeltisi ve nozul iç çapı arasındaki birim hacimdeki sürtünme kuvveti nozul çapının arttırılması ile azalmaktadır. Daha büyük nozul iç çapında nanolif üretimi için daha az hava basıncı gereklidir. Daha az hava basıncı ile nanolif üretildiğinde nozul ucunda damlacıklar oluşacaktır (Behrens ve diğ, 2014; Kolbasov ve diğ, 2015; Lou ve diğ, 2013)

2.4.2 Çözelti üflemeli eğirme yönteminde kullanılan biyobozunur özellikteki polimerler

Üretilecek nanolifin çevreye olan etkisi nanolif yapımında kullanılan polimerler ile doğrudan ilişkilidir. Yenilikçi gıda ambalajlama teknolojilerinde ambalaj yapımında kullanılan materyallerin çevreye olan zararlı etkilerini minimuma indirmek hedeflenmektedir. Bu nedenle yenilikçi ambalaj materyallerinde biyobozunur, yenilebilir kaplamalar, çevre dostu ya da kompost edilebilir polimerler tercih edilmektedir. Bu bağlamda üretilecek nanoliflerin çevreye olan zararlı etkisini azaltabilmek için biyobozunur özellikte biyopolimerler tercih edilmektedir (Hazer, 2011).

Çözelti üflemeli eğirme yönteminde de biyopolimerler ve yenilebilir kaynaklı biyopolimerler kullanılabilmektedir (Şekil 2.4). Düşük maliyetli, kolay ulaşılabilir, polimer yapısının ve fonksiyonel özelliklerinin iyi tanımlanmış olması nedeniyle biyopolimerler daha çok tercih edilmektedir. Literatürde nanolif üretiminde kullanılan yenilebilir kaynaklı biyopolimerler ile ilgili birçok çalışma bulunmasına rağmen, yenilebilir kaynaklı biyopolimerlerin gıdayı korumak için yeterli mukavemet sağlayamaması, nem çekmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Lin ve diğ. (2018[b]) kekik esansiyel yağı ve β siklodekstrin ε-polilizin nanopartikülleri içeren jelatinden, Fonseca ve diğ. (2000) kekik esansiyel yağını nişasta polimer çözeltisine ilave ederek nanolif elde etmişlerdir.

Literatürde nanolif üretiminde en çok poli laktik asit tercih edilmiştir. Biyo-polimerler pazarında gelir ve üretim hacmi bakımından en hızlı büyüyen biyo-bozunur malzeme, lineer ve alifatik bir polyester olan PLA'dır. Genellikle mısır nişastası ile laktik asidin polimerizasyonu veya laktik asit monomerlerinden ya serbest asidin polikondenzasyonu ya da laktidin halka açılması polimerizasyonu ile sentezlenmektedir. PLA biyolojik olarak parçalanabilen bir polimer olduğu için kullanımı uzun süre sadece biyomedikal alanıyla kısıtlı kalmıştır. Ancak, son yıllarda çevre kirliliğine karşı duyarlılığının artmasıyla gıda ambalajlamada diğer polimerlere alternatif arayışları hızlanmıştır. Böylece, PLA'nın kullanım alanları genişlemiş ve paketleme endüstrisinden genel tüketici ürünlerine kadar geniş bir alana yayılmaya başlamıştır. Doğada tamamen bozunabilen PLA, fiziksel ve kimyasal özellikleri bakımından petrol türevi ambalaj malzemeleri ile benzerlik gösterebilmektedir. Sertlik ve gerilme direnci gibi üstün özelliklerinin yanı sıra, şeffaf ve yüzeyinin son derece parlak olması, yağlara karşı kimyasal direncinin yüksek olması, düşük ısıda yapışabilmesi, sızdırmazlık özelliklerinin güçlü olması, kâğıt ya da kartona ısıyla yapıştırılabilmesi gibi özellikler PLA'nın bazı olumlu yönleridir. PLA'nın diğer bir özelliği mısır, şeker kamışı ve buğday gibi nişasta zengini bitkisel kaynaklardan üretilen biyo-bozunur bir polimer olmasıdır. Bu özelliklerin yanı sıra PLA'nın, çevre dostu olması ve biyo-uyumluluk gibi özelliklere sahip olması da plastik uygulamalarında, paketleme alanında, ziraat ürünlerinde, tek kullanımlık ürünlerde ve medikal alanda potansiyel kullanım imkânı sağlamaktadır (Dursun ve diğ, 2010)



Şekil 2.7 : Çözelti üflemeli eğirme yönteminde kullanılan biyobozunur özellikteki polimerler.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Kullanılan sucuk baharatı karışımı Köfteci Yusuf Hazır Yemek Temizlik Canlı Hayvan Et Mamulleri Entegre Gıda İthalat İhracat San. Ve Tic. A.Ş., (Bursa, Yenişehir)'den temin edilmiştir. Baharat bileşimi Çizelge 3.1'de verilmiştir. Bu baharatların uçucu yağları Clavenger tipi hidro-destilasyon düzeneği kullanılarak Bursa Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm laboratuvarlarında elde edilmiştir. Nano-lif üretimi amacıyla poli laktik asit (PLA, 75.000 g/mol molekül ağırlığında), kloroform ve dikloro metan Sigma Aldrich (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

Çizelge 3.1 : Baharat karışımı bileşimi

Baharat Çeşidi	**Baharat Bileşimi, Yüzdesel (%)**
Kimyon	46,88
Kırmızı Biber	46,87
Karabiber	6,25

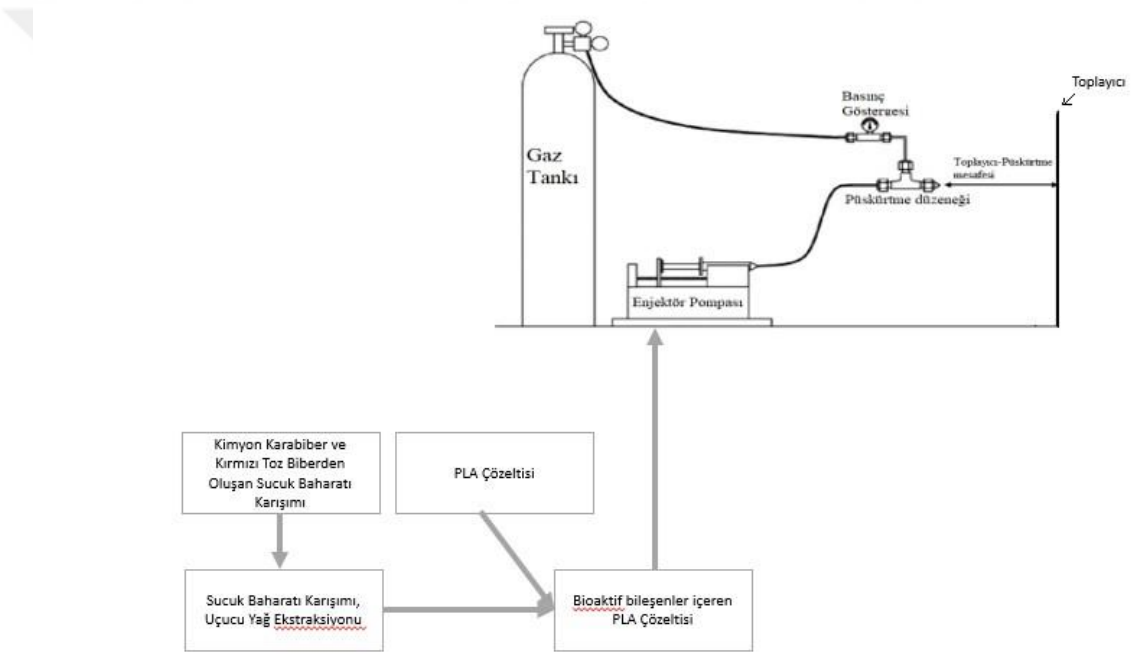
3.2 Yöntem

3.2.1 Besleme Çözeltisinin Hazırlanması

Besleme çözeltisinin hazırlanması amacıyla 5 gr PLA 95 mL kloroform içerisine eklendi ve manyetik karıştırıcı üzerinde (Termal, N11150 model, Türkiye) 500 rpm hızda tamamen çözününceye kadar (~6 saat) bekletildi. Çözelti içerisine PLA ağırlığının %5, %10, %15, %20, %25 ve %30'u oranında baharat karışımından elde edilen esansiyel yağ ilave edildikten sonra çözeltiler manyetik karıştırıcı üzerinde 30 dakika kadar daha karıştırıldı. Besleme çözeltisinden bir enjektöre 20 ml alınarak enjektör pompasına (Goldman AR-03 model, Türkiye) yerleştirilmiş ve çözelti üflemeli eğirme sistemine beslenmiştir.

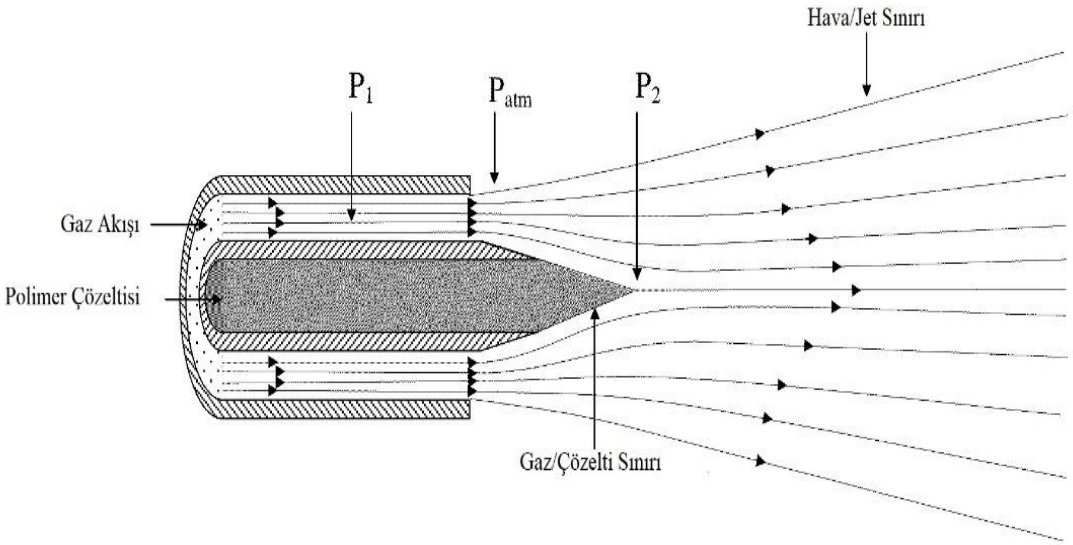
3.2.2 Çözelti Üflemeli Eğirme Yöntemi

Şekil 3.1'den görüleceği üzere nano-lif üretim düzeneği, gaz ünitesi (kompresör), enjektör pompası, püskürtme düzeneği (nozzle) ve toplayıcı olmak üzere 4 ana kısımdan oluşmaktadır. Polimer çözeltilerinden çözücü maddeleri uzaklaştırmak amacıyla belirli basınçta gaz akışı gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Eriyik haline getirilen %5, %10, %15, %20, %25 ve %30 esansiyel yağ katkılı ve esansiyel yağ içermeyen PLA içerikli polimer çözeltisi bir enjektöre alınarak enjektör pompasına yerleştirildikten sonra sabit bir akış hızında püskürtme düzeneğine gönderilmektedir.



Şekil 3.1 : Çözelti üflemeli eğirme yöntemi düzeneği şeması (Medeiros ve diğ, 2009).

Püskürtme düzeneğinin detaylandırılmış görüntüsü Şekil 3.2'de verilmiştir. Şekil 3.2'de görüldüğü üzere, düzeneğin iç kısmından polimer çözeltisi akarken dış kısmından belirli basınçtaki hava hareketi gerçekleşmektedir. Çıkış noktasında polimer çözeltisi basınçlı hava akışı ile kesilerek çözücü buharlaştırılmakta ve geriye kalan polimer maddeler hava basıncından dolayı uzayarak ağsı iplik şeklinde toplayıcı plaka üzerinde birikmektedir. Bu çalışmada çözelti üfleme eğirme yöntemi ile nanolif eldesi için sistem düzeneği çözelti besleme hızı 120 µ lt /dk, hava basıncı 1,5 bar ve toplayıcı mesafesi 3o cm olarak dizayn edilmiştir.



Şekil 3.2 : Püskürtme düzeniğinin detaylı görüntüsü (Medeiros ve diğ, 2009).

3.2.3 Nanoliflerin SEM ile Morfolojik Özellikleri:

Nanoliflerin morfolojik görüntü analizleeri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile belirlenmiştir. Ölçüm öncesi örneklerin yüzeyi palladyum-altın karışımı ile kaplanmıştır. Nanoliflerin yüzeylerinden x20.000 büyütme oranında görüntüler alınmıştır. Alınan görüntüler ImageJ programı kullanılarak analiz edilmiş ve ortalama nanolif çapları hesaplanmıştır. Analizler Bursa Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla yapılmıştır.

3.2.4 Nanoliflerin DSC ile Termal Özellikleri:

Esansiyel yağ katkılı nano-liflerin termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Analiz 20 mL/dak akış hızındaki nitrojen gazı altında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla yaklaşık 5-10 mg civarındaki nanolif örneği alüminyum pan içerisine yerleştirilmiş ve hermetik bir şekilde kapatılmıştır. Örnekler -30 °C ile 200 °C arasında 10 °C/dak ısıtma hızında analiz edilmiştir. Hermetik olarak kapatılmış boş alüminyum kap referans olarak kullanılmıştır. Bu analizler Bursa Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla yapılmıştır.

3.2.5 Nanoliflerin TGA ile Termal Özellikleri:

Nanolif örneklerinin sıcaklık artışına karşı kütlelerinde meydana gelen değişim TGA cihazı kullanılarak 20 mL/dak. akış hızında azot gazı eşliğinde belirlenmiştir. %0 nemli desikatörde kurutulan nanolifler, yaklaşık 10 mg olacak şekilde alüminyum kaplara tartılmış ve 10 °C/dak. ısıtma hızında 20 °C ile 600 °C arasında sıcaklık taramasına tabi tutulmuştur. Bu analizler Bursa Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla yapılmıştır.

3.2.6 Nanoliflerin AFM Analizi:

Nanoliflerin yüzey morfolojileri atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile 40 x 40 µm tarama boyutunda ve 15 µm dikey aralığında belirlenmiştir. Hava ile temas eden film yüzeyine 20-60 N/m yay sabitine sahip dikdörtgen bir konsol yerleştirilerek 15 x 15 µm boyutunda görüntüler alınmıştır. Analizler Bursa Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla yapılmıştır.

3.2.7 Nanoliflerin Suda Çözünürlük Analizi

20 mg nanolif örneği tartılarak üzerine 20 mL saf su eklenerek 24 saat manyetik karıştırıcıda tutulmuştur. Karışım filtre kağıdından süzülmüş vesüzüntü 105 °C sabit ağırlığa kadar kurutulmuştur. Nanoliflerin suda çözünürlük yüzdesi denklem (3.1) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Suda Çözünürlük (\%)} = \frac{(W_0 - W_1)}{W_0} \times 100 \qquad (3.1)$$

W_0: Nanoliflerin ilk ağırlığı

W_1: Nanoliflerin kurutulmuş ağırlığı

3.2.8 Nanoliflerin Antioksidan kapasitesi:

Esansiyel yağ katkılı nano-liflerin toplam antioksidan kapasiteleri Çiçek (2016) ve Suwatong ve diğ. (2007) tarafından tanımlanan metotta bazı değişiklikler yapılarak 2,2, difenil 1-pikri hidrazil (DPPH) yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla 100 mg baharat ekstaktı içeren nanolif tartılarak 5 ml methanolle seyreltilmiş, nano-lif ekstraktından 3 mL alınıp 7 mL 0,2 mM DPPH çözeltisi ile karıştırılmıştır ve elde edilen karışımın absorbansı

2 saat karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm dalga boyunda kaydedilmiştir. DPPH çözeltisinin indirgenme oranına göre nano-liflerin antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre %AA denklem (3.2) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%AA = \frac{(A_{kontrol} - A_{örnek})}{A_{kontrol}} \quad (3.2)$$

%AA: Antioksidan Aktivite

$A_{kontrol}$: Nanolif içermeyen DPPH çözeltisinin absorbans değeri

$A_{örnek}$: Nanolif içeren DPPH çözeltisinin absorbans değeri

3.2.9 İstatiksel Analizler

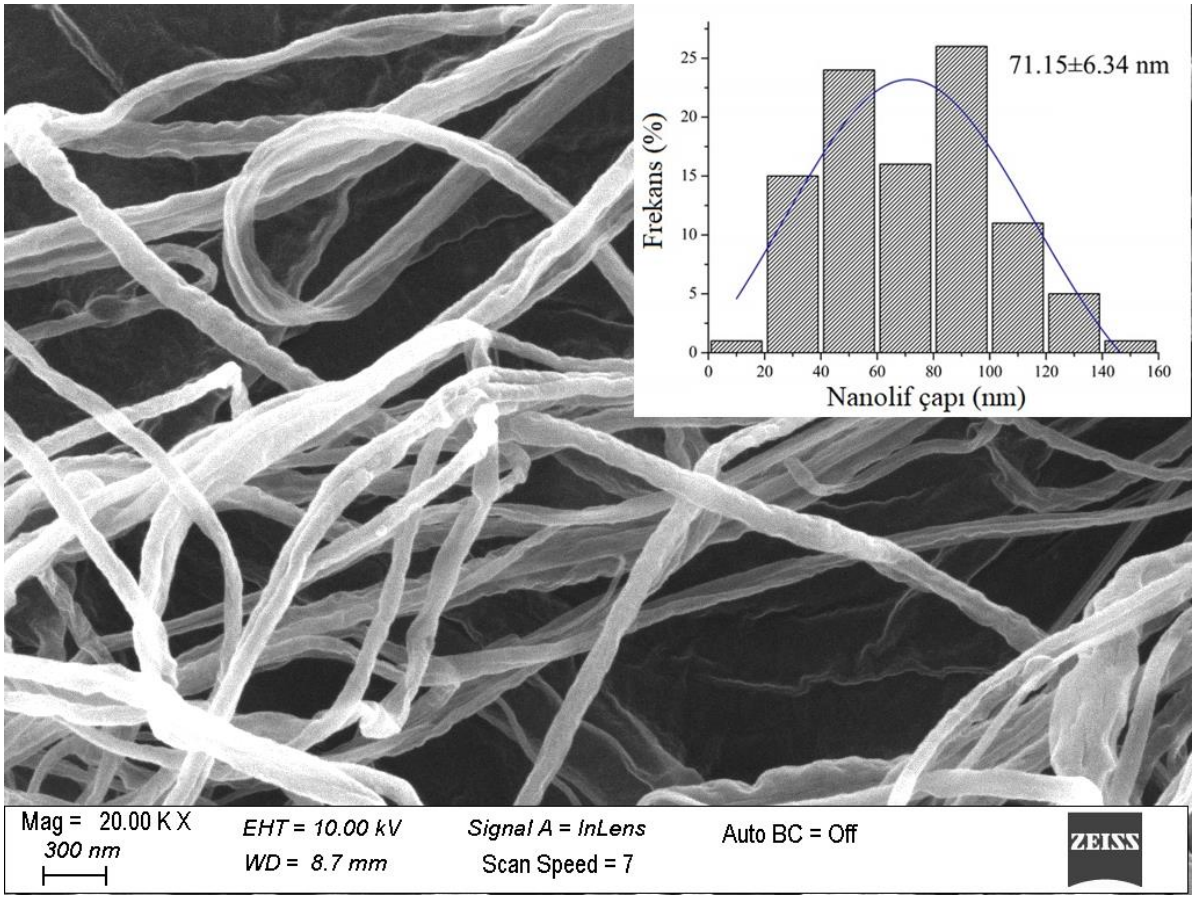
Veriler Excel programından yararlanılarak analiz edilmiştir. Değişkenler için aritmetik ortalama ve standart sapmalar bulunmuştur. Değişkenler arasında fark olup olmadığı $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde bağımsız "t" testi ve Anova analizi kullanılarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

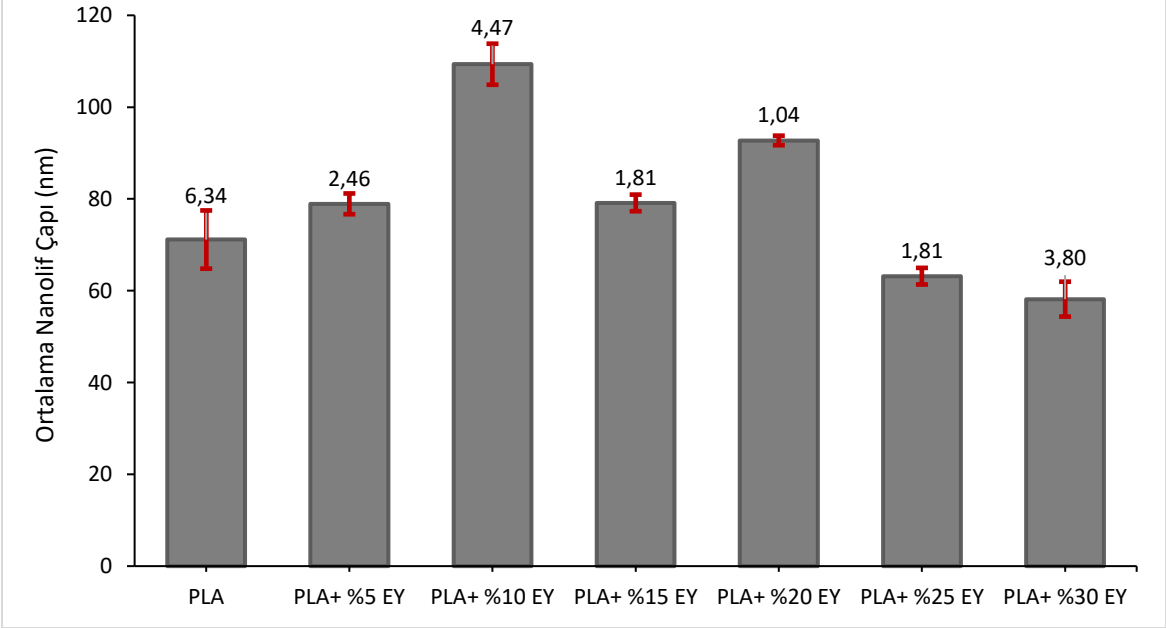
4.1 Nanoliflerin SEM ile Morfolojik Özellikleri:

Nanoliflerin çapı çözelti üflemeli eğirme yönteminin etkinliğinin önemli bir göstergesidir. Şekil 4.1'de doğal antimikrobiyal katkı içermeyen nanoliflere ait SEM görüntüsü yer almaktadır ve ortalama nanolif çapı 71.15±6,14 nm olarak ölçülmüştür. Şekil 4.2.'de esansiyel yağ oranı artışı ile ortalama lif çapı (nm) arasındaki değişim verilmiştir. Şekil 4.3. a, b, c, d, e ve f sırası ile %5, %10, %15, %20, %25 ve %30 esansiyel yağ içerikli nanoliflere ait x20.000 yakınlaştırma ile alınan SEM görsellerini içermekte ve nanolif çapları 58,17 nm ile 109,35 nm arasında değişiklik göstermektedir. Tüm nanolif görsellerinde damlacıksız, homojen bir yapı gözlenmektedir. Esansiyel yağ içeriğinin nanolif yüzeyinde bir pürüzlülük oluşturmamış olup konsantrasyon artışı ile de lif yapısında bozulma tespit edilmemiştir. Cui, ve diğ. (2019) farklı bir esansiyel yağ ile yaptıkları çalışmaya göre esansiyel yağ içeren örneklerin lif çapının esansiyel yağ içermeyen örneklere göre daha kalın olduğunu, bunun sebebini de nanoliflerin esansiyel yağı yapısına absorbe etmesine bağlamışlardır.

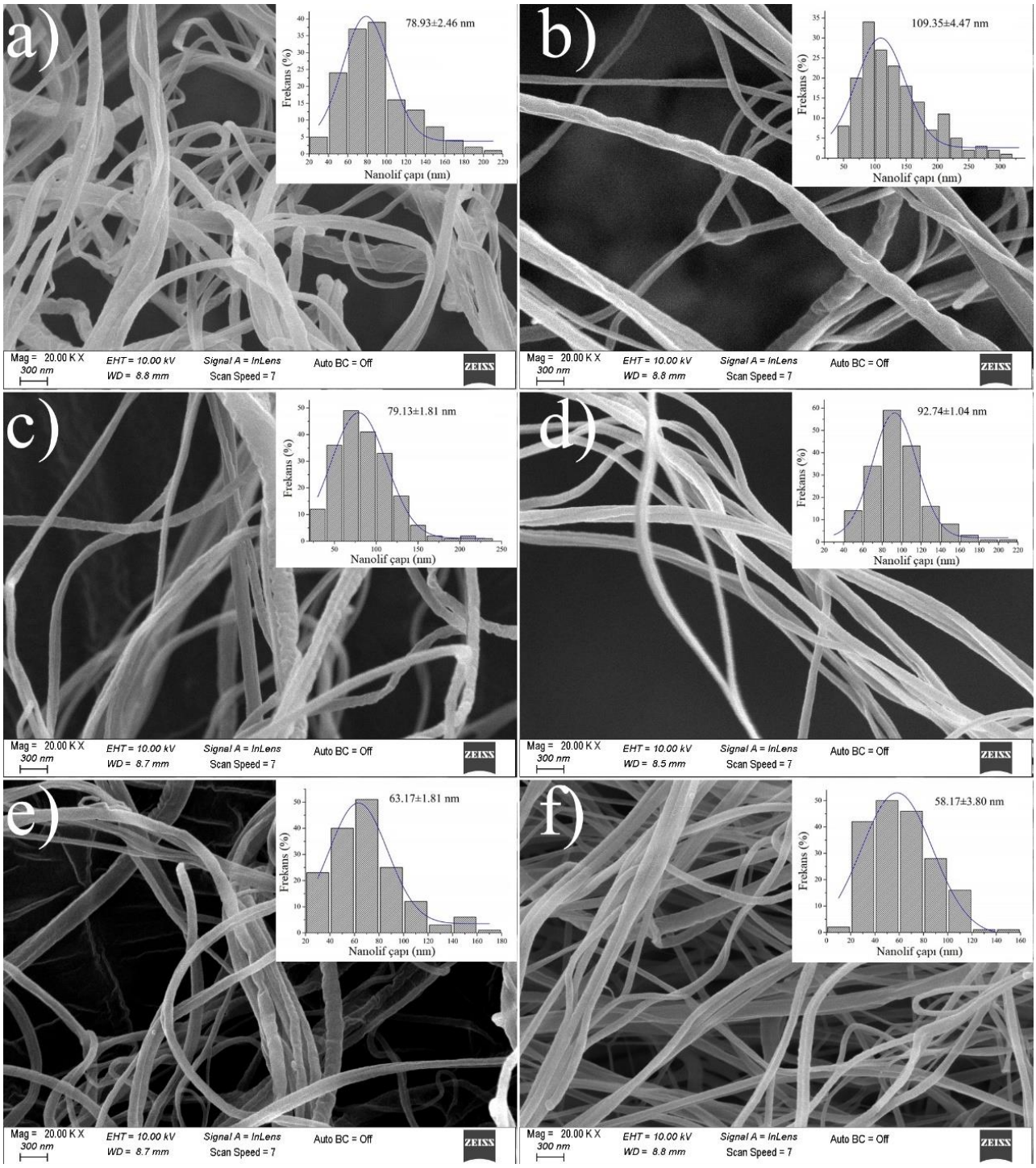
Yapılan çalışmalarda çözelti üflemeli eğirme yönteminde nanolif çapı ile polimer çözeltisinin viskozite ve yüzey gerilim özellikleri arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir. Polimer çözeltisinin viskozitesi arttıkça enjeksiyon ünitesinde daha az gerilme kuvveti uygulamakta ve bu durumda daha kalın nanolif oluşumu gözlenmektedir. Sinnamaldehit ile yapılan bir çalışmada Liu ve diğ. (2018) sinnemaldehit oranının çözelti içerisindeki oranının belirli bir seviyeden sonra nanolif yapısında değişikliklere sebep olduğunu ve bu durumun polimer çözeltisinin viskoelastik ve yüzey gerilim özellikleri ile sıkıştırılan havanın kesme-germe kuvveti arasındaki etkileşim nedeniyle olabileceğini bildirmişlerdir. Esansiyel yağ içeriğinin artışı ile nanolif çapının artışı bu bağlamda açıklanabilir (Martínez-Sanz ve diğ, 2015).



Şekil 4.1 : PLA bazlı nanolife ait SEM görüntüsü (20.00 KX).



Şekil 4.2 : Esansiyel yağ oranı artışı ile ortalama lif çapı (nm) arasındaki değişim.



Şekil 4.3 : %5 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (a), %10 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (b), %15 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (c), %20 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (d); %25 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (e) ve %30 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (f) SEM görüntüleri (20.00 Kx).

Lin ve diğ. (2017) tarçın esansiyel yağı/β-siklodekstrin proteolipozomlarının polietilen oksit polimer çözeltisine ilave ederek elektro eğirme yöntemiyle elde ettikleri nanoliflerin çaplarını 500 ile 650 nm arasında değiştiğini ve nanolif yüzeyinde pürüzlülük olduğunu tespit etmişlerdir. Sadece polietilen oksit polimer çözeltisinden elde ettikleri nanoliflerde ise nanolif çapını 350 ile 450 nm arasında değiştiğini, nanoliflerin tekdüze olduklarını ve pürüzsüz yüzeye sahip olduklarını bildirmişlerdir. Bu durumun tarçın esansiyel yağı/β-siklodekstrin proteolipozomlarının PEO bazlı nanoliflere bağlanmasından dolayı olduğunu açıklamışlardır.

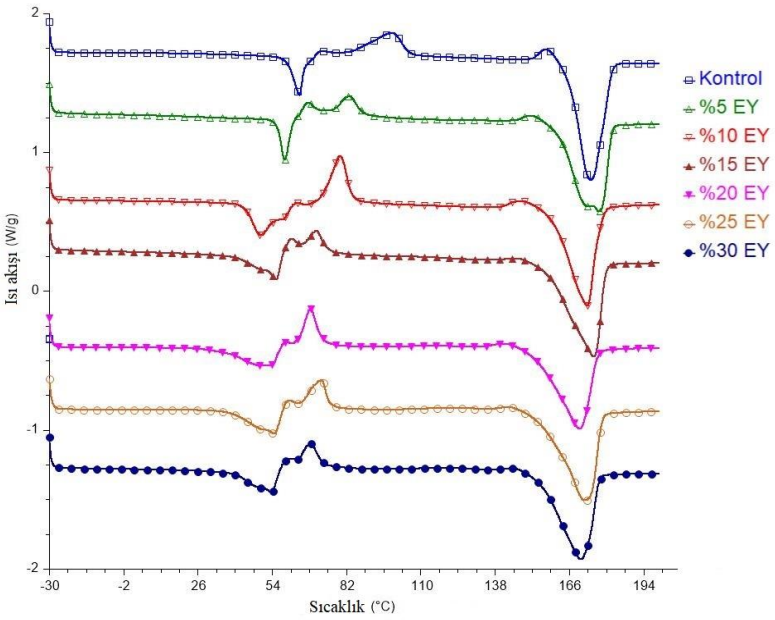
Rezaeinia ve diğ. (2020) yaptıkları çalışmada balangu tohumu gamı ve polilaktik asit çözeltisine bergamot esansiyel yağı ilave ederek hızlı çözünen nanolifleri elektro eğirme yöntemi ile üretmeyi amaçlamışlardır. Balangu tohumu gamını polilaktik asitle farklı konsantrasyonlarda karıştırarak bu karışımlara %3 esasiyel yağ %1 Tween 20 ekleyerek nanolif çözeltisini hazırlamışlardır. Balangu tohumu gamının artan miktarlardaki ilavesinde nanoliflerin elektriksel iletkenlikleri, yüzey gerilimleri ve kıvam katsayısının arttığını, buna bağlı olarak viskozitenin arttığını tespit etmişlerdir. Lif çapı ise artan gam seviyelelerinde viskoziteye bağlı olarak 286 ile 486 nm arasında artış göstermiştir.

Lin ve diğ. (2018[b]) yaptıkları çalışmada kekik esansiyel yağı ve β siklodekstrin ε-polilizin nanopartikülleri içeren jelatinden elde edilen elektro-döndürme yöntemi ile üretilmiş nanoliflerin ortalama lif çapını 206,2 nm olarak, sadece jelatinden elde edilen nanolifin ortalama lif çapını ise 169,6 olarak tespit etmişlerdir. Lif çapları arasındaki farkı kekik esansiyel yağı ve β siklodekstrin ε-polilizin nanopartiküllerinin ilave edilmesi ile açıklamışlardır.

4.2 Nanoliflerin DSC ile Termal Özellikleri

DSC analizi maddelerin erime ve kristalizasyon gibi hal değişimlerini analiz etmek için genellikle en güvenilir metottur (Oliveira ve diğ, 2013). Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolifler için yapılan DSC analiz sonuçlarında, Tg: Camsı geçiş sıcaklığı (°C); ΔH: Camsı geçişe ait entalpi (J/g); Tc: Kristalizasyon sıcaklığı (°C); ΔHc: Kristalizayona ait entalpi (J/g); Te: Erime sıcaklığı (°C); ΔHe: Erimeye ait entalpi (J/g) değerleri belirlenmiş ve Çizelge 4.1'de verilmiştir. Esansiyel yağ içeren PLA

esaslı nanoliflerin analiz edilen tüm örneklerinde endotermik ısı akışını gösteren pikler tespit edilmiştir (Çiçek, 2016).



Şekil 4.4 : Farklı oranlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflerin DSC termogramı.

Esansiyel yağ içermeyen nanolifin T_g sıcaklığı 70,79 °C olarak tespit edilmiştir. Esansiyel içeriğine göre azalacak şekilde esansiyel yağ içeren nanoliflerin T_g sıcaklıkları 46,34 °C ve 65,04 °C aralığında değişmektedir. Esansiyel yağ içermeyen nanolifin T_g değeri daha yüksektir. T_g maddenin camsı aşamadan viskoz ve plastik aşamaya geçtiği amorf bir yapıdaki sıcaklığı temsil eder. Bu sıcaklık maddenin polimer zincirlerinin yapısının dallı oluşuna ya da moleküllerinin yer değiştirebilme özelliğine göre değişebilmektedir (Amjadi ve diğ, 2019). Esansiyel yağ molekül yapısı PLA'ya göre daha az karmaşık olması nedeniyle esansiyel yağ içermeyen dolayısı ile tamamen PLA içeren nanolifin T_g'si daha yüksektir (Şekil 4.4).

Martínez-Sanz ve diğ. (2015) yaptıkları araştırmada yüksek kristalli bakteriyel selüloz nanokristaller ile yüklenmiş PLA bazlı nanolifleri çözelti üflemeli eğirme yöntemi ile elde etmişler ve ayrıca nanoliflere antimikrobiyal karvakrol ve THC ekleyerek oluşan nanoliflerin termal karakterizasyonunu yapmışlardır. Katkıların PLA bazlı nanoliflere eklenmesi ile yapının plastisitesi azalmakta, camsı geçiş sıcaklığı düşmektedir.

Çizelge 4.1 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflerin DSC analiz sonuçları.

Örnekler	T_g (°C)	ΔH (J/g)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_e (°C)	ΔH_e (J/g)	X_c (%)
PLA	70.79	9.25	99.66	12.09	174.16	50.40	41.19
PLA+ %5 EY	65.04	6.74	83.49	5.09	177.28	51.77	50.19
PLA+ %10 EY	46.39	15.33	79.64	14.68	172.81	46.38	33.89
PLA+ %15 EY	58.15	17.11	71.00	3.51	175.11	54.06	54.35
PLA+ %20 EY	56.35	15.53	68.52	8.64	169.76	46.51	40.72
PLA+ %25 EY	57.73	16.51	72.82	7.10	171.77	54.38	50.84
PLA+ %30 EY	56.68	13.53	68.83	4.29	170.42	51.00	50.23

PLA: Poli laktik asit; EY: Esansiyel yağ; Tg: Camsı geçiş sıcaklığı (°C); ΔH: Camsı geçişe ait entalpi (J/g);Tc: Kristalizasyon sıcaklığı(°C); ΔHc: Kristalizayona ait entalpi (J/g); Te: Erime sıcaklığı (°C); ΔHe: Erimeye ait entalpi (J/g). Xc (%) Kristalizasyon derecesi.

Bizim çalışmamızda da benzer bir şekilde esansiyel yağ ilavesi ile camsı geçiş sıcaklıkları düşmüştür. Bu durum nanoliflerin ambalaj materyali olarak kullanılma durumunda işlem sıcaklıklarının düşük olmasını, dolayısı ile daha kolay işlenebilecek bir materyal olmasını sağlamaktadır.

Rezaeinia ve diğ. (2020) çalışmalarına göre PLA'dan elde edilen nanolifin 199°C'de merkezlenen termal erime sıcaklığının 187-211°C aralığında endotermik pik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda sadece PLA içeren nanolifin termal erime sıcaklığı 174.16 °C tespit edilmiş olup 155-180 °C aralığında endotermik pik göstermiştir. Termal erime sıcaklıkları arasındaki fark, yapılan çalışma ile bizim çalışmamızdaki polimer çözeltisi konsantrasyonlarının farklı olmasından kaynaklanabilir. Esansiyel yağ katkılı nanoliflerde ise esansiyel yağ oranının artması ile T_e sıcaklığının azaldığı tespit edilmiştir.

Esansiyel yağ oranının polimer çözeltisinde artışı ile nanolifin kristalizasyon sıcaklığının düştüğü tespit edilmiştir. Kristalleşme oranları arasında ciddi farklar bulunmasa da, bu durum kristalleşme oranınındaki artışla da açıklanabilmektedir.

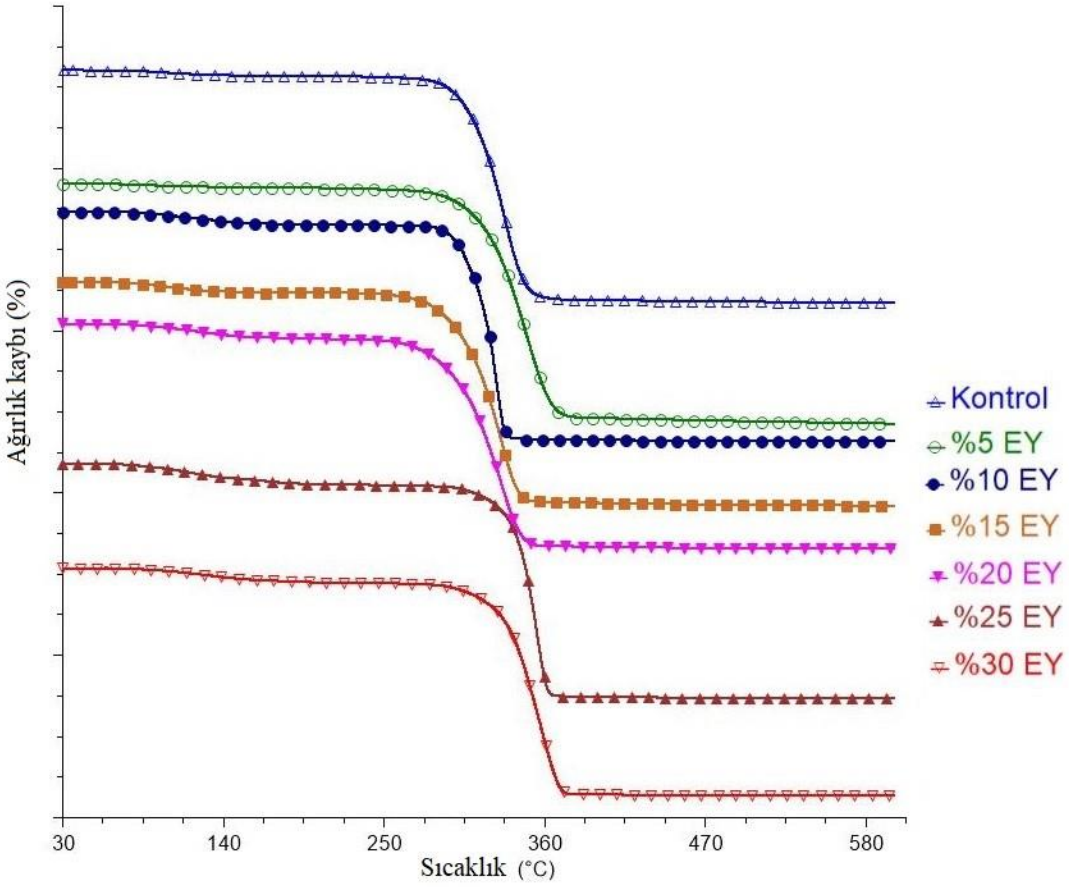
4.3 Nanoliflerin TGA ile Termal Özellikleri

TGA analizi farklı özellikteki maddelerin termal olarak bozunduktan sonra piroliz kinetiğini incelemesinin yanında, maddelerin termal stabilitesini değerlendirmede de önemli yöntemlerden biridir (Cui ve diğ, 2019; Huang ve diğ, 2016; Fonseca ve diğ, 2020). PLA içerikli nanolife ait pikin daha düşük sıcaklıkta bozunmaya uğraması ve esansiyel yağ katkılı nanoliflerin kısmen daha yüksek sıcaklıkta bozunmaya uğraması nedeniyle esansiyel katkılı nanoliflerin esansiyel yağ oranı arttıkça termal stabilitesinin PLA içerikli nanolife göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir (Şekil4.5).

Cui ve diğ. (2019) *Litsea cubeba* esansiyel yağ ilaveli karahindiba polisakkariti esaslı nanolifler üzerine yaptıkları çalışmada karahindiba polisakkariti içeren nanolifin iki aşamalı degredasyonunun olduğunu; ilk aşamada 30–261 °C aralığında su kaybı kaynaklı kütle kaybı yaşandığını, ikinci aşamada ise nanolifin yapısının parçalanmasının 293–361 °C aralığında gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Nanolifler ikinci aşamada toplam kütlenin

%91,26'sını kaybetmiştir. *Litsea cubeba* esansiyel yağ ilaveli nanolif sonuçlarını da benzer niteliklerde bulmuşlardır.

Martínez-Sanz ve diğ. (2015) yaptıkları araştırmada PLA bazlı nanoliflere ilave edilen katkıların (karvakrol ya da THC) nanoliflerin termal stabilitesini arttırdığını tespit etmiştir. Bu durumu DSC analizi ile de tespit ettikleri üzere PLA nanolifinin katkıların eklenmesi ile kristalliğinin artması ile açıklamışlardır. Önceki çalışmalarda da esansiyel yağ ilavesi ile nanoliflerin termal stabilitelerinin arttığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızın sonuçları da literatür ile benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.5 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflere ait TGA termogramı.

Çizelge 4.2 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflerin TGA analiz sonuçları.

Örnekler	T_{d1} başlangıç (°C)	ΔW_1 (%)	T_{d2} başlangıç (°C)	ΔW_2 (%)	Kalıntı (%)
PLA	46.98	2.34	195.04	97.46	0.20
PLA+ %5 EY	39.69	0.51	232.70	97.30	2.19
PLA+ %10 EY	45.60	5.50	246.82	92.86	1.64
PLA+ %15 EY	47.12	4.55	196.72	91.45	4.00
PLA+ %20 EY	57.02	6.24	211.38	90.27	3.49
PLA+ %25 EY	51.16	6.77	205.01	90.31	2.92
PLA+ %30 EY	73.77	5.80	220.85	91.76	2.44

PLA: Poli laktik asit; **EY:** Esansiyel yağ; **T_{d1} başlangıç:** Birinci Isıl degredasyonun başlangıç sıcaklığı (°C); **T_{d2} başlangıç:** İkinci Isıl degredasyonun başlangıç sıcaklığı (°C); **ΔW_1:** Birinci ısıl degredasyon sonucu kütle kaybı (%); **ΔW_2:** İkinci ısıl degredasyon sonucu kütle kaybı (%)

4.4 Nanoliflerin AFM Analizi

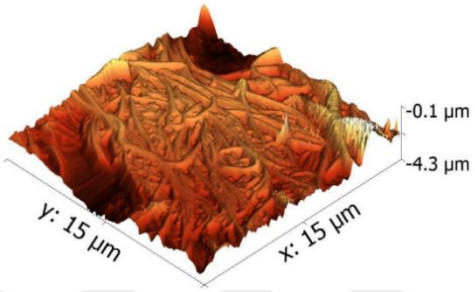
AFM analizi nanoliflerin yüzey pürüzlülükleri ve morfolojisi hakkında bilgi vermektedir (Lin ve diğ., 2018[b]). Esansiyel yağ katkılı olmayan ve belirli oranlarda esansiyel yağ içeren nanoliflerin yüzey pürüzlülükleri AFM ile analiz edilmiştir. Şekil.4.6 esansiyel yağ katkısı içermeyen nanolife ait sonuçları göstermektedir, yüzey porozitesi -4,3 μm ile -0,1 μ arasındadır. Şekil 4.7 a, b, c, d, e ve f sırası ile %5,%10, %15, %20, %25 ve %30 esansiyel yağ içerikli nanoliflere ait AFM analiz sonuçlarını göstermektedir, yüzey poroziteleri minimum -5,8 μm maksimum 1,5 μm arasında değişmektedir. AFM analiz sonuçları SEM görüntüleme tekniğinde tespit edilen nanolif çap dağılımlarına benzerlik göstermektedir. Farklı oranlarda esansiyel yağ içeren nanoliflerin ve esansiyel yağ eklemeden sadece PLA içeren nanolif ile yüzey pürüzlülüklerinin benzer olup düzgün dağılım sağlayan bir yapıda oldukları tespit edilmiştir.

Rezaeinia ve diğ. (2020) yaptıkları çalışmada farklı oranlarda karıştırdıkları balangu tohumu gamı ve polilaktik asitten elde ettikleri nanoliflerin AFM analizinde 7:3 (PVA/ balangu tohumu gamı v/v) oranındaki nanoliflerin porozitelerinin 0-285,4 nm, 8:2 (PVA/ balangu tohumu gamı v/v) oranındaki nanoliflerinin porozitelerinin 0-259,4 nm aralığında olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı karışım oranlarındaki nanoliflerin ortalama nanolif çapları ise 218 nm ile 257 nm aralığındadır. Dolayısı ile ortalama lif çapı artışı ile yüzey pürüzlülükleri arasında benzer ilişki ortaya koyulmaktadır.

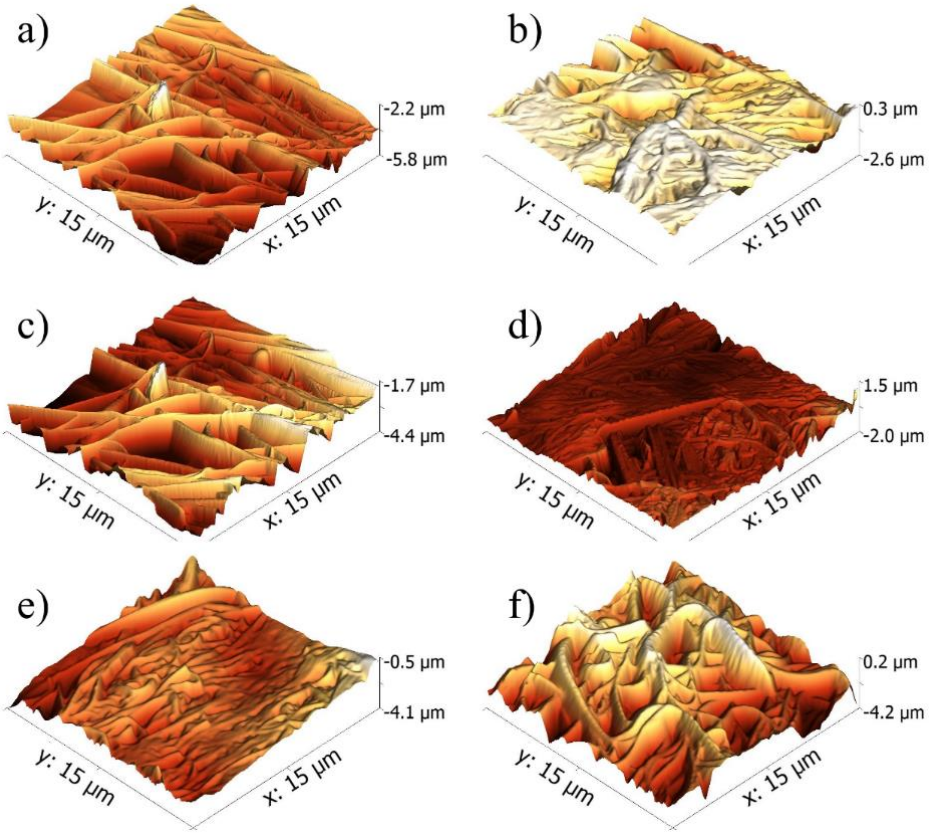
Lin ve diğ. (2018[b]) yaptıkları çalışmada kekik esansiyel yağı ve β siklodekstrin ε-polilizin nanopartikülleri içeren jelatinden elde edilen elektro-döndürme yöntemi ile üretilmiş nanoliflerin AFM analiz sonuçlarında 2D görüntülerinde nanoliflerin formlarının düzgün olduğu gözlenmiştir. 3D görüntülerinde ise elektro-döndürme işlemi sırasında liflerin kolektör yüzeyinde gelişigüzel dağılmasına bağlı olarak nanoliflerin yüzeylerinin pürüzlü olduğunu gözlemlediklerini ifade etmişlerdir.

Cui ve diğ. (2019) *Litsea cubeba* esansiyel yağ ilaveli karahindiba polisakkariti esaslı nanolifler üzerine yaptıkları çalışmada esansiyel yağ ilave edilmeyen ve edilen nanoliflere ait AFM analizine göre esansiyel yağ ilave edilen nanolif yüzeyinin daha düzgün bir morfolojiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durumu elektro-döndürme işlemi

sırasında esansiyel yağ ilavesinin elektrostatik itmeyi zayıflatması ile açıklamışlardır. Nanoliflerin çapının da yine aynı sebeple esansiyel yağ kompleksinin ilavesi ile artış göstermesinin SEM analizleri ile de tutartlı olduklarını tespit etmişler, kompleksin nanolif ile bütünlük sağladığını bildirmişlerdir.



Şekil 4.6 : PLA esaslı nanolife ait AFM görüntüsü.



Şekil 4.7 : %5 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (a), %10 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (b), %15 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (c), %20 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (d); %25 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (e) %30 oranında esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanolif (f) AFM görüntüleri.

4.5 Nanoliflerin Suda Çözünürlük Analizi

Nanoliflerin suda çözünürlükleri kullanılacağı alana göre önem arz etmektedir. Ambalaj olarak kullanımı hedeflenen nanoliflerin sudaki çözünürlüklerinin sınırlı olması hedeflenmektedir, fakat ilaç endüstrisinde ise suda hızlı çözünebilmeleri beklenmektedir.

Yaptığımız çalışmaya göre artan oranlardaki esansiyel yağ ilavesinin nanoliflerin sudaki çözünürlüklerinin 4-18 mg/L arasında değişen oranlarda arttırdığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflerin sudaki çözünürlükleri.

Örnek Kodu	İçerik	Suda Çözünürlük%	Suda Çözünürlük mg/L
Kontrol	PLA+ 35 mL su	0,004	4
5	PLA + EY + 35 mL su	0,004	4
10	PLA + EY + 35 mL su	0,005	5
15	PLA + EY + 35 mL su	0,007	7
20	PLA + EY + 35 mL su	0,008	8
25	PLA + EY + 35 mL su	0,005	5
30	PLA + EY + 35 mL su	0,018	18

Cui ve diğ. (2019) *Litsea cubeba* esansiyel yağ ilaveli karahindiba polisakkariti esaslı nanolifler üzerine yaptıkları çalışmada esansiyel yağ ilave edilmeyen ve edilen nanoliflerin sudaki çözünürlüklerini incelediklerinde esansiyel yağ içeren nanoliflerin suda çözünürlüklerinin daha iyi olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada esansiyel yağ β-siklodekstrin komplexine enkapsüle edildiği için bu durumu β-siklodekstrinin su ile kararlı bir hidrat formu oluşturması ile açıklamışlardır.

4.6 Nanoliflerin Antioksidan Aktivite Özellikleri

Esansiyel yağ katkılı nanoliflerin Antioksidan aktivite analizleri DPPH indirgeme prosedürü ile gerçekleştirilmiştir. Nanolif üretiminde katkı olarak kullanılan esansiyel yağ bileşimindeki baharatlar kırmızıbiber, kimyon ve karabiberden oluşan karışımdan elde edilmiştir. Yapılan çalışmalarda kırmızıbiberin içerdiği antioksidan bileşenlerine bağlı

olarak 100 µm/mL konsantrasyonda antioksidan aktivitesinin %20 ve %72 arasında değiştiği, kimyonun antioksidan aktivitesinin %75,60±9,96 olduğu ve karabiberin 100 µm/mL konsantrasyonda antioksidan aktivitesinin %30 seviyesinde olduğu tespit edilmiştir (Sim ve diğ, 2007; Haşimi ve diğ, 2014; Khalaf ve diğ, 2008).

Esansiyel yağ katkılı nanolif örneklerinin artan oranda tespit edilen antioksidan aktivite analiz sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir. DPPH inhibisyonu Şekil 4.8 ve antioksidan aktivite grafikleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

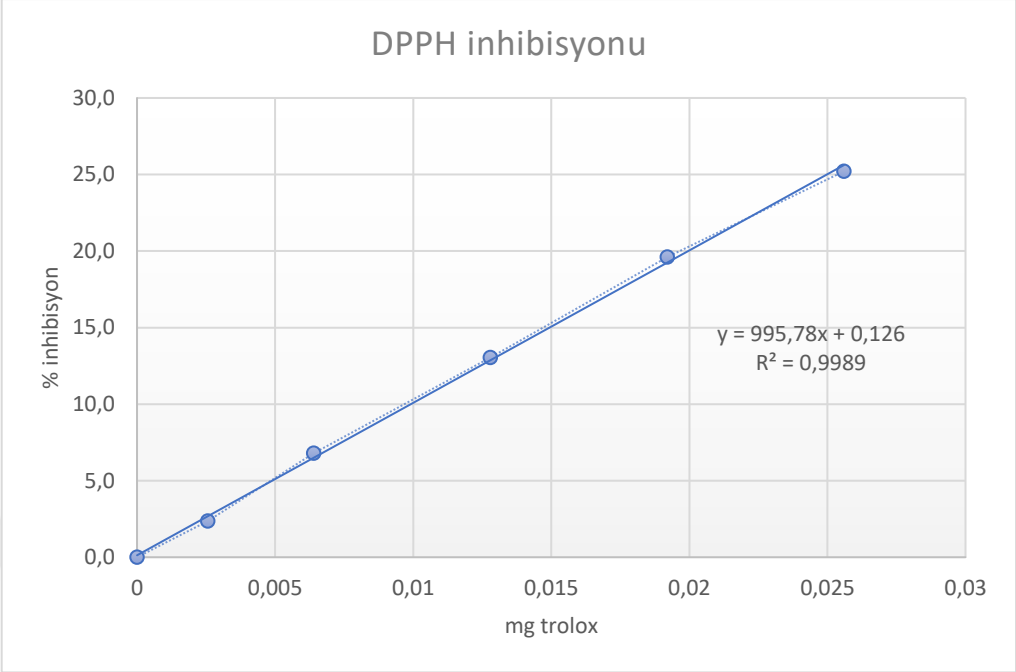
Çizelge 4.4 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflerin antioksidan aktivite analiz sonuçları.

Örnek	Mikromol Trolox/ g örnek	Antioksidan aktivite (%)
PLA	0,26±0,03[a]	4,14±0,22[a]
PLA+ %5 EY	1,61±0,03[b]	26,56±0,01[b]
PLA+ %10 EY	1,80±0,06[c]	28,29±1,76[c]
PLA+ %15 EY	1,83±0,04[d]	31,14±0,31[d]
PLA+ %20 EY	2,25±0,04[e]	34,79±0,00[e]
PLA+ %25 EY	2,37±0,11[f]	36,38±0,00[f]
PLA+ %30 EY	2,47±0,14[g]	40,02±2,78[g]

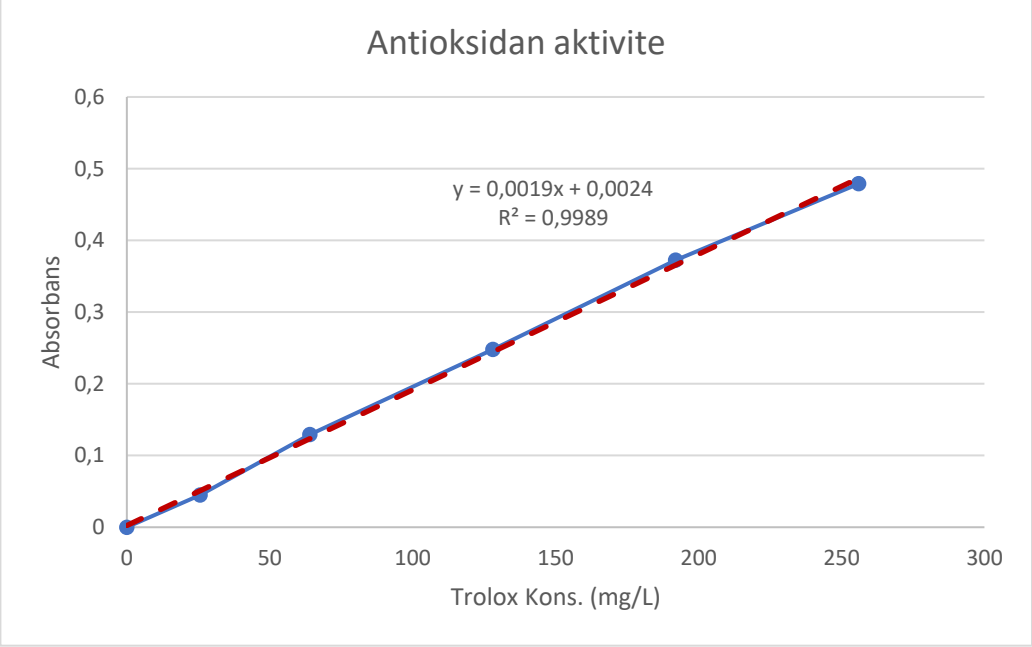
*Küçük harfler aynı sütundaki ortalamalar arasında istatiksel anlamda önemli farklılık olduğunu ifade etmektedir ($p<0,05$).

PLA içerikli nanolifin az da olsa antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. PLA içerisindeki baharat esansiyel yağ oranı arttıkça antioksidan aktivitenin arttığı tespit edilmiştir.

Fonseca ve diğ. (2000) yaptıkları çalışmada kekik esansiyel yağını %1, %3 ve %5 (v/w, kuru ağırlıkta) nişasta polimer çözeltisine ilave ederek elektro-eğirme yöntemi ile nanolif üretmişlerdir. %5 kekik esansiyel yağı içeren nanolifin ısısal işleme maruz kaldıktan sonra fenolik bileşenlerin %50'sinin hala kaldığını tespit etmişlerdir. DPPH yöntemi ile yaptıkları antioksidan aktivite analizinde esansiyel yağ katkılı nanoliflerin %11,1 ila %14,2 antioksidan aktivitelerinin olduğunu tespit etmişlerdir. Nişasta bazlı kekik esansiyel yağı katkılı nanoliflerin elektro-eğirme yöntemi ile üretiminin gıda üretiminde ya da gıda ambalajlamasında uygulanabilir olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 4.8 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflere ait DPPH inhibisyon grafiği**.**



Şekil 4.9 : Farklı konsantrasyonlarda esansiyel yağ içeren PLA esaslı nanoliflere ait antioksidan aktivite grafiği.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gıdaların muhafaza edilmesinde ve raf ömrü uzatılmasında nanoteknolojik gelişmelerin kullanılması gelecek vaat etmektedir. Son yıllarda nanoteknolojinin gıda ambalajlarındaki uygulamaları ve bu ambalajların doğal aktif bileşenler ile fonksiyonel özelliklerinin arttırılması konusunda birçok çalışma bulunmaktadır. Nanoliflerin elde edilmesinde en yaygın kullanılan elektro eğirme yöntemine daha kolay ve uygun üretim yöntemi olması nedeniyle çözelti üflemeli eğirme yöntemi alternatif oluşturmaktadır. Çözelti üflemeli eğirme yöntemi ile PLA ile üretilen nanoliflere çeşitli biyoaktif bileşenlerin eklendiğinde elde edilen nanoliflerin fonksiyonel özellik kazandırılarak gıda muhafazasında alternatif oluşturulması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada baharat karışımından elde edilen esansiyel yağ katkılı nanoliflerin çözelti üflemeli eğirme yöntemiyle elde edilmiş ve karakterize edilerek aşağıdaki çıkarımlar yapılmıştır.

- Üretilen nanoliflerin SEM ile morfolojik özellikleri incelenmiş, esansiyel yağ içeren ve içermeyen örneklerin homojen dağılım gösterdiği, yüzeylerinde topaklanma bulunmadığı, pürüzsüz yüzeye sahip oldukları tespit edilmiştir. Esansiyel yağın PLA içerikli nanoliflerin içine homojen bir şekilde disperse olduğu gözlenmiştir.
- PLA içeren ve esansiyel yağ içerikli nanoliflerin endotermik karakter gösterdikleri gözlenmiştir. PLA içeren nanolifin camsı geçiş sıcaklığının esansiyel yağ içerenlere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiş, kristalizasyon özellikleri arasında belirgin farklar bulunmadığı, esansiyel yağın PLA içerikli nanolif ile disperse olmuş amorf yapı oluşturduğu tespit edilmiştir.
- TGA analizi ile üretilen nanoliflerin termal stabilite özellikleri incelenerek artan konsantrasyondaki esansiyel yağ içerikli nanoliflerin termal stabilitesinin PLA içerikli nanolife göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

- Suda çözünürlük analizi ile nanoliflerin suda çözünürlüklerinin esansiyel yağ ilavesi ile arttığı tespit edilmiştir.
- AFM analizi ile üretilen nanoliflerin yüzey pürüzlülüğü hakkında bilgi edinilmiştir. SEM analizi ile elde edilen morfolojik özelliklere paralel olarak nanoliflerin yüzeyinin pürüzsüz olduğu gözlenmiştir. Nanoliflere esansiyel yağ ilavesi ile nanoliflerin yüzeyinde bozulma gözlenmemiştir.
- Üretilen nanoliflerin antioksidan aktivite analizi DPPH inhibisyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Baharat karışımından elde edilen esansiyel yağlar ile farklı konsantrasyonlarda polimer çözeltisine eklenerek elde edilen nanoliflerin antioksidan aktivitelerinin esansiyel yağ konsantrastrasyonunun artması ile artış gösterdiği gözlenmiştir.

Yapılan analizler neticesinde PLA içerikli nanoliflerin baharat esansiyel yağ eklenmesinin yapısı ile uyum göstereceği belirlenmiştir. Biyoaktif bileşen içeren nanolif üretimi için baharat yağlarının antioksidan özellikleri de uygundur. Üretilecek biyoaktif içerikli nanolifler et ve et ürünlerinin yüzey küflenmesini engellemek amacı ile kullanımı öngörülebilmektedir.

KAYNAKÇA

Allahghadri, T., Rasooli, I., Owlia, P., Nadooshan, M. J., Ghazanfari, T., Taghizadeh, M., & Astaneh, S. D. A. (2010). Antimicrobial property, antioxidant capacity, and cytotoxicity of essential oil from cumin produced in Iran. *Journal of food science*, *75*(2), H54-H61.

Amjadi, S., Almasi, H., Ghorbani, M., & Ramazani, S. (2019). Reinforced ZnONPs/ rosemary essential oil-incorporated zein electrospun nanofibers by κ-carrageenan. *Carbohydrate Polymers*, 232, 115800.

Ağaoğlu, S., Dostbil, N., & Alemdar, S. (2007). Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry. *Bull Vet Inst Pulawy*, 51, 53-57.

Baumung, C., Pflaum, T., Schöberl, K., Kratz, E., & Lachenmeier D. W. (2016). Novel Approaches of Nanotechnology in Food. In A.M. Grumezescu (Eds.), *An update of definitions and regulations regarding nanomaterials in foods and other consumer products* (1st ed., Vol. 1, pp. 1-19). London : Academic Press.

Behrens, A.M.; Casey, B.J.; Sikorski, M.J.; Wu, K.L.; Tutak, W.; Sandler, A.D.; & Kofinas, P. (2014). In situ deposition of PLGA nanofibers via solution blow spinning. *ACS Macro Lett*, 3(3), 249–254.

Bognitzki, M., Czado, W., Frese, T., Schaper, A., Hellwig, M., Steinhart, M., Greiner, A. & Wendorff, J. (2001). Nanostructured Fibers Via Electrospinning. *Advanced Materials*, 13(1),70-73.

Bonilla, J., Fortunati, E., Atarés, L., Chiralt, A., & Kenny, J. M. (2014). Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol–chitosan biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 35, 463-470.

Büyüknalçacı F.N. (2018). *Optimization of solution blown pvdf nanofibers for air filtration applications.* (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Chaudhry, N.M. & Tariq, P. (2006). Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates. *Pak J Pharm Sci*.,19(3), 214-218.

Cui, H., Zhang, C., Li, C., & Lin, L. (2019). Preparation and antibacterial activity of Litsea cubeba essential oil/dandelion polysaccharide nanofiber. *Industrial Crops and Products*, 140, 111739.

Çiçek, P. K. (2016). *Elektrodöndürme tekniği ile üretilen kurkumin yüklü gliadin nanoliflerinin üretimi ve karakterizasyonu*. (Yüksek Lisans Tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Daristotle, J.L., Behrens, A.M., Sandler, A.D., & Kofinas, P. A. (2016). Review of the fundamental principles and applications of solution blow spinning. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 8, 34951–34963.

Davidovich-Pinhas, M., Danin-Poleg, Y., Kashi, Y., & Bianco-Peled, H. (2014). Modified chitosan: A step toward improving the properties of antibacterial food packages. *Food Packaging and Shelf Life*, 1(2), 160-169.

Dursun, S., Erkan, N. ve Yeşiltaş, M. (2010). Doğal Biyopolimer Bazlı (Biyobozonur) Nanokompozit Filmler ve Su Ürünlerindeki Uygulamaları. *Journal of FisheriesSciences.com*, 4(1), 50-77.

Doğan, A., Çelik, E., Kılıçle, P. A., Atalay, E., Sağlam, A. G., Doğan, A., & Otlu, S. (2018). Antibacterial Effect of Hot Peppers (Capsicum annuum, Capsicum annuum var globriusculum, Capsicum frutescens) on Some Arcobacter, Campylobacter and Helicobacter Species. *Pakistan Veterinary Journal*, 38(3).

Echegoyen, Y., Rodríguez, S., Nerín, C. (2016). Nanoclay migration from food packaging materials. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 33(3), 530-539.

EU. (2011). Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (2011/696/EU). *Official Journal of the European Union*, L 275, 20.10.2011.

Fonseca, L.M., Radünz, M., Dos Santos Hackbart, H.C., Da Silva, F.T., Camargo, T.M., Bruni, G.P., Monks, J.L., Da Rosa Zavareze, E., & Dias, A.R. (2020). Electrospun potato starch nanofibers for thyme essential oil encapsulation: antioxidant activity and thermal resistance. *J Sci Food Agric*, 100(11), 4263-4271.

Gómez-Estaca, J., De Lacey, A. L., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2010). Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food microbiology*, 27(7), 889-896.

Han, J.W., Ruiz-Garcia, L., Qian, J.P., & Yang, X. (2018). Food Packaging: A Comprehensive Review and Future Trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, 860-877.

Haşimi, N., Tolan, V., Kızıl, S., ve Kılınç, E. (2014). Anason (Pimpinella anisum L.) ve Kimyon (Cuminum cyminum L.) Tohumlarının Uçucu Yağ Kompozisyonu ile Antimikrobiyal ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 20, 19-26.

Hazer, Y., Rodríguez, S., & Nerín, C. (2016). Nanoclay migration from food packaging materials. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 33(3), 530-539.

Huang, X., Cao, J., Zhao, X., Wang, J., Fan, X., Zhao, Y., & Wei, X. (2016). Pyrolysis kinetics of soybean straw using thermogravimetric analysis. *Fuel*, 169, 93–98.

Keskin, S. & **Baydar, H.** (2016) Umbelliferae Familyasından Bazı Önemli Kültür Türlerinin Isparta Ekolojik Koşullarında Tarımsal ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi,*20(1), 133-141.

Khalaf, N.A., Shakya, A.K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., & Farah H. (2008). Antioxidant Activity of Some Common Plants. *Turkish Journal Of Biology*, 32, 51-55.

Khan, M., Sahar, A., & Rahman, U. (2016). Novel Approaches of Nanotechnology in Food. In A.M. Grumezescu (Eds.), *Nanotechnology in healthier meat processing* (1st ed., Vol. 1, pp. 313-345). London : Academic Press.

Koffi-Nevry, R., Kouassi, K. C., Nanga, Z. Y., Koussémon, M., & Loukou, G. Y. (2012). Antibacterial activity of two bell pepper extracts: Capsicum annuum L. and Capsicum frutescens. *International journal of food properties*,*15*(5), 961-971.

Kolbasov, A., Sinha Ray, S., Joijode, A., Hassan, M., Brown, D., Maze, B., Pourdeyhimi, B., & Yarin, A. (2015). Industrial-Scale Solution Blowing of Soy Protein Nanofibers. *Industrial & Engineering Chemistry Research,* 55(1), 323-333.

Kozanoğlu, S. (2006). *Elektrospinning Yöntemiyle Nanolif Üretim Teknolojisi.* (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Köhler, F. E. (1887). *Köhler's Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen mit kurz erläuterndem Texte: Atlas zur Pharmacopoea germanica, austriaca, belgica, danica, helvetica, hungarica, rossica, suecica*, Neerlandica, British pharmacopoeia, zum Codex medicamentarius, sowie zur Pharmacopoeia of the United States of America (Vol. 1). FE Köhler.

Kriegel, C., Arecchi, A., Kit, K., McClements, D.J., & Weiss, J. (2008). Fabrication, functionalization, and application of electrospun biopolymer nanofibers. *Crit Rev Food Sci Nutr,* 48(8), 775-797.

Kuda, T., Iwai, A., & Yano, T. (2004). Effect of red pepper Capsicum annuum var. conoides and garlic Allium sativum on plasma lipid levels and cecal microflora in mice fed beef tallow. *Food and chemical toxicology,* 42(10), 1695-1700.

Liu, F., Türker Saricaoglu, F., Avena-Bustillos, R. J., Bridges, D. F., Takeoka, G. R., Wu, V. C., Chiou, B.S., Wood, D., Mchugh, T., & Zhong, F. (2018). Preparation of fish skin gelatin-based nanofibers incorporating cinnamaldehyde by solution blow spinning. *International journal of molecular sciences*, 19(2), 618.

Liu, Y., Wang, S., Lan, W., & Qin, W. (2019). Fabrication of polylactic acid/carbon nanotubes/chitosan composite fibers by electrospinning for strawberry preservation. *International journal of biological macromolecules*, 121, 1329-1336.

Lin, L., Gu, Y., & Cui, H. (2018[a]). Novel electrospun gelatin-glycerin-ε-Poly-lysine nanofibers for controlling Listeria monocytogenes on beef. *Food Packaging and Shelf Life,* 18, 21-30.

Lin, L., Zhu, Y., & Cui, H. (2018[b]). Electrospun thyme essential oil/gelatin nanofibers for active packaging against Campylobacter jejuni in chicken. *Lwt*, 97, 711-718.

Luo, C. J., Nangrejo, M., & Edirisinghe, M. (2010). A novel method of selecting solvents for polymer electrospinning. *Polymer*, 51(7), 1654-1662.

Lou, H., Li, W., Li, C. & Wang, X. (2013). Systematic investigation on parameters of solution blown micro/nanofibers using response surface methodology based on box-Behnken design. *J. Appl. Polym. Sci.*, 130, 1383-1391.

Martínez-Sanz, M., Bilbao-Sainz, C., Du, W. X., Chiou, B. S., Williams, T. G., Wood, D. F., ….. Lagaron, J. M. (2015). Antimicrobial poly (lactic acid)-based nanofibres developed by solution blow spinning. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 15(1), 616-627.

Medeiros, E.S., Glenn, G.M., Klamczynski, A.P., Orts, W.J., & Mattoso, L.H.C. (2009). Solution blow spinning: A new method to produce micro- and nanofibers from polymer solutions. *J. Appl. Polym. Sci.*, 113, 2322–2330.

Myszka, K., Leja, K., & Majcher, M. (2019). A current opinion on the antimicrobial importance of popular pepper essential oil and its application in food industry. *Journal of Essential Oil Research*, 31(1), 1-18.

Neethirajan, S., & Jayas, D. (2011). Nanotechnology for the Food and Bioprocessing Industries. *Food and Bioprocess Technology*., 4, 39-47.

Nikolić, M., Stojković, D., Glamočlija, J., Ćirić, A., Marković, T., Smiljković, M. & Soković, M. (2015). Could essential oils of green and black pepper be used as food preservatives?. *Journal of Food Science Technology*, 52, 6565–6573.

Oliveira, J.E., Moraes, E.A., Costa, R.G.F., Afonso, A.S., Mattoso, L.H.C., Orts, W.J., & Medeiros, E.S. (2011). Nano and submicrometric fibers of poly(D, L-lactide) obtained by solution blow spinning: Process and solution variables. *J. Appl. Polym. Sci.*, 122, 3396–3405.

Oliveira, J.E., Moraes, E.A., Marconcini, J.M., Mattoso, L.H., Glenn, G.M., & Medeiros, E.S. (2013). Properties of poly(lactic acid) and poly(ethylene oxide) solvent polymer mixtures and nanofibers made by solution blow spinning. *J. Appl. Polym. Sci.*, 129, 3672–3681.

Parize, D.D.D.S., Oliveira, J.E.D., Foschini, M.M., Marconcini, J.M., & Mattoso, L.H.C. (2016). Poly(lactic acid) fibers obtained by solution blow spinning: Effect of a greener solvent on the fiber diameter. *J. Appl. Polym. Sci.*, 133, 1–10.

Puvača, N., Ljubojević, D., Lukač, D., Beuković, M., Kostadinović, L., Teodosin, S., & Stanaćev, V. (2014). Bioactive compounds of garlic, black pepper and hot red pepper. *In XVI Int. Symp."Feed Technol. Food Tech Congr* (pp. 116-122).

Rakmai, J., Cheirsilp, B., Mejuto, J. C., Torrado-Agrasar, A., & Simal-Gándara, J. (2017). Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Food hydrocolloids*, 65, 157-164.

Ramadan, M.F., Asker, M.M.S. & Tadros M. (2012). Antiradical and antimicrobial properties of coldpressed black cumin and cumin oils. *Europen Food Research Technology*, 234:833-844

Ramakrishna, S., Ma, Z., Lim, T.C., Teo, W.E., & Fujihara K. (2005). *An introduction to electrospinning and nanofibers*. Singapore : World scientific.

Rezaeinia, H., Ghorani, B., & Emadzadeh, B. (2020). Electrospun balangu (Lallemantia royleana) hydrocolloid nanofiber mat as a fast-dissolving carrier for bergamot essential oil. *Food Hydrocolloids*. 100. 105-312.

Reece, J. B., & Campbell, N. A. (2010). *Campbell Biology*. Boston: Benjamin Cummings / Pearson.

Rukayadi, Y., Lau, K. Y., Zainin, N. S., Zakaria, M., & Abas, F. (2013). Screening antimicrobial activity of tropical edible medicinal plant extracts against five standard microorganisms for natural food preservative. *International Food Research Journal*, 20(5), 2905.

Saka, E., ve Terzi Gülel, G. (2015). Gıda Endüstrisinde Nanoteknoloji Uygulamaları. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 26, 52-57.

Santos, M. M. P., Vieira-da-Motta, O., Vieira, I. J. C., Braz-Filho, R., Gonçalves, P. S., Maria, E. J., ... & Souza, C. L. M. (2012). Antibacterial activity of Capsicum annuum extract and synthetic capsaicinoid derivatives against Streptococcus mutans. *Journal of natural medicines*, 66(2), 354-356.

Sim, K.H., & Sil, H.Y. (2008). Antioxidant activities of red pepper (Capsicum annuum) pericarp and seed extracts. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(10), 1813-1823.

Silva, L. R., Azevedo, J., Pereira, M. J., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2013). Chemical assessment and antioxidant capacity of pepper (Capsicum annuum L.) seeds. *Food and Chemical Toxicology*, *53*, 240-248.

Stojanovska, E., Canbay, E., Pampal, E. S., Calisir, M. D., Agma, O., Polat, Y., ... Kilic, A. (2016). A review on non-electro nanofibre spinning techniques. *RSC Advances*, 6(87), 83783-83801.

Surendhiran, D., Chang-Zhu, L., Haiying, C., & Lin, L. (2020). Fabrication of high stability active nanofibers encapsulated with pomegranate peel extract using chitosan/PEO for meat preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 23, 100439.

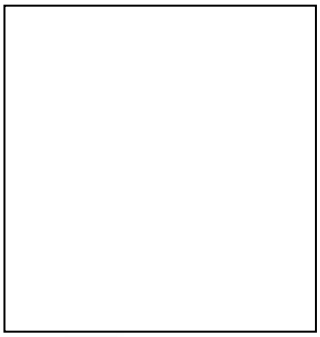
Tarhan, Ö., Gökmen, V., ve Harsa, Ş. (2010). Nanoteknolojinin Gıda Bilim ve Teknolojisi Alanındaki Uygulamaları. *Gıda,* 35 (3), 219-225.

Torres-Giner, S. (2011). Electrospun nanofibers for food packaging applications. In Lagarón J.M. (Eds.), *Multifunctional and nanoreinforced polymers for food packaging* (1st ed., pp. 108-125). Spain : Woodhead Publishing.

Yücel Şengün İ., ve Öztürk B. (2018). Bitkisel Kaynaklı Bazı Doğal Antimikrobiyaller. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi C-Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 7 (2), 256–276.

Zivanovic, S., Chi, S., & Draughon, A. F. (2005). Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of food science*,*70*(1), M45-M51.

ÖZGEÇMİŞ



Ad-Soyad **:** İklime ÖZCAN

Doğum Tarihi ve Yeri **:**

E-posta **:**

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** **:** 2015, Ege Üniversite, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- **2016-2017** **:** Döhler Gıda, Proses Kalite Mühendisi
- **2017-2020** **:** Köfteci Yusuf A.Ş., Fabrika Kalite Yöneticisi
- **2020- Devam ediyor** **:** Anadolu Etap Penkon A.Ş., Kalite Güvence Mühendisi

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- "Sucuk Baharatı Karışımı Uçucu Yağları ile Zenginleştirilen Poli Laktik Asit Esaslı Nano-Liflerin Çözelti Üflemeli Eğirme Tekniği İle Üretimi" adlı ve 200Y007 numaralı Bursa Teknik Üniversitesi BAP Projesi
- **Özcan, İ., Sarıcaoğlu, F.T., Dağdelen A.F., Cinar, A.** (2020). Fermente Sucuğun Muhafazasında Doğal Antimikrobiyal Katkılı Biyobozunur Nanoliflerin Alternatif Yöntemle Geliştirilmesi. In İ.Özcan,(Ed.), *IV. Et Ürünleri Çalıştayı Bildiri Kitabı,* Aydın, Ekim 6-8.

DİĞER ESERLER, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Özcan, İ., Sarıcaoğlu, F.T. (2019). Innovative Packaging Application In Meat Technology. *1.Uluslararası / 11. Ulusal Gıda Mühendisliği Kongresi,* Antalya, Türkiye, Kasım 7-9.