



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOPLASTİK ÜRETİMİNDE
EKZOPOLİSAKKARİTLER ve ÖLÜ BAKTERİ
HÜCRELERİNİN KULLANIMI

Halil İbrahim UZUN

DOKTORA TEZİ

Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

Ekim-2025
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOPLASTİK ÜRETİMİNDE
EKZOPOLİSAKKARİTLER ve ÖLÜ BAKTERİ
HÜCRELERİNİN KULLANIMI

Halil İbrahim UZUN

DOKTORA TEZİ

Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖNLÜ

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Musa TÜRKER

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Sedat BOZARI

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Şemsettin TEMİZ

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Taha CEYLANI

Ekim-2025
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL ve ONAYI

Halil İbrahim UZUN tarafından hazırlanan “Biyoplastik Üretiminde Ekzopolisakkaritler ve Ölü Bakteri Hücrelerinin Kullanımı” adlı tez çalışması 25/09/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Güvenliği Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Musa TÜRKER

.....

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi,
Biyomühendislik Bölümü

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Harun ÖNLÜ

.....

Muş Alparslan Üniversitesi, Teknik Bilimler
Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü

Üye

Prof. Dr. Şemsettin TEMİZ

.....

İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Makine
Mühendisliği Bölümü

Üye

Prof. Dr. Sedat BOZARI

.....

Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Edebiyat
Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Üye

Doç. Dr. Taha CEYLANI

.....

Muş Alparslan Üniversitesi, Teknik Bilimler
Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 03/10/2025 Tarih ve 28/5 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Selçuk SAĞIR
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Tübitak tarafından 124Z131 nolu proje ve Muş Alparslan Üniversitesi BAP Birimi tarafından BAP-24-MMF-4901-02 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Halil İbrahim UZUN

25.09.2025

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BİYOPLASTİK ÜRETİMİNDE EKZOPOLİSAKKARİTLER ve ÖLÜ BAKTERİ HÜCRELERİNİN KULLANIMI

Halil İbrahim UZUN

Muş Alparslan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖNLÜ

Plastiklerin doğada kalıcı yapısı, küresel ölçekte ciddi çevre sorunlarına yol açmakta ve özellikle tek kullanımlık ürünler sürdürülebilirlik açısından büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Bu nedenle yenilenebilir kaynaklardan elde edilen biyobozunur biyoplastikler, fosil bazlı plastiklere güçlü bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Bu bağlamda gıda endüstrisi atıklarının biyoplastik üretiminde değerlendirilmesi, hem atık yönetimine katkı sağlamakta hem de katma değerli ürünlerin geliştirilmesine olanak sunmaktadır.

Bu tez çalışmasında yedi farklı laktik asit bakterisi (LAB) suşu (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus sakei*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis*, *Weissella confusa* ve *Lactiplantibacillus plantarum*) kullanılarak peynir altı suyu (PAS) ortamında biyoplastik üretimi amacıyla hem ekzopolisakkarit (EPS) hem de tek hücre proteini (THP) üretimi araştırılmıştır.

EPS üretimi amacıyla MRS ortamında azot ve karbon kaynakları, pH, sıcaklık ve inkübasyon süresi parametreleri optimize edilmiştir. Bunun sonucunda *L. cremoris* suşu ile 10,031 g/L düzeyinde EPS verimi elde edilmiştir. EPS, gliserol, jelatin ve sitrik asit ile formüle edilerek çözelti döküm yöntemiyle biyoplastik üretim çalışmaları yürütülmüş ancak elde edilen EPS filmler aşırı sünek, yapışkan ve mekanik açıdan zayıf bulunmuş, bu nedenle biyoplastik matrisinde ana taşıyıcı olarak kullanılamayacağı sonucuna varılmıştır.

PAS ortamında THP üretimi için azot ve karbon kaynakları, pH, sıcaklık ve inkübasyon süresi parametreleri optimize edilmiştir. Çalışmalar sonucunda *L. garvieae* en yüksek biyokütle verimini sağlamış ve yaklaşık 2,663 g/L düzeyinde THP elde edilmiştir. Bu biyokütle gliserol, jelatin ve sitrik asit ile formüle edilerek çözelti döküm yöntemiyle biyoplastik filmler geliştirilmiştir.

Karakterizasyon çalışmaları sonucunda filmlerin çekme dayanımı 7,139 MPa, kopmada uzama oranı %18.56 olarak belirlenmiştir. Termogravimetrik analiz (TGA) sonuçları, ilk ciddi bozunmanın 200–400 °C aralığında gerçekleştiğini göstermiştir. Toprakta biyobozunurluk testlerinde biyoplastiklerin 60 gün sonunda %65'in üzerinde biyobozunma gösterdiği saptanmıştır.

Ayrıca filmlere %1, %2 ve %3 oranlarında *Satureja hortensis* esansiyel yağı (SH-EY) ilave edilerek antimikrobiyal özellik kazandırılmıştır. Disk difüzyon analizlerinde *Staphylococcus aureus*'a karşı 13–19 mm, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium'a karşı 10–23 mm inhibisyon zonları tespit edilmiştir. En belirgin sonuçlar %3 SH-EY katkılı biyoplastiklerde elde edilmiştir. Bu grupta *Escherichia coli* üzerinde 15–16 mm inhibisyon zonu oluşarak kontrol grubunda bulunmayan bir aktivite sergilenmiştir.

Sonuçlar, EPS'nin biyoplastiklerde sınırlı performans göstermesine karşın, PAS temelli LAB-THP'nin çözelti döküm yöntemiyle sürdürülebilir ve antimikrobiyal biyoplastik üretimi için güçlü bir alternatif sunduğunu ortaya koymuştur. Çalışma, süt endüstrisi atıklarının katma değerli biyomalzemelere dönüştürülmesine, gıda güvenliği ve çevreye duyarlı ambalaj çözümlerinin geliştirilmesine özgün katkılar sağlamaktadır.

Bu çalışma, LAB kaynaklı THP'nin PAS gibi düşük maliyetli atıklardan üretilerek, sürdürülebilir ve antimikrobiyal biyoplastik üretimine bilimsel temel oluşturduğu özgün bir yaklaşımdır.

2025, 96 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal biyoplastik, Atık azaltımı, Biyoplastik, Çevresel biyoteknoloji, Ekzopolisakkarit, Laktik asit bakterisi, Peynir altı suyu, Tek hücre proteini, *Satureja hortensis*, Gıda Güvenliği

ABSTRACT

Ph.D THESIS

THE USE OF EXOPOLYSACCHARIDES and DEAD BACTERIAL CELLS IN BIOPLASTIC PRODUCTION

Halil İbrahim UZUN

Muş Alparslan University
Natural and Applied Science
Department of Food Safety

Advisor: Assist Prof. Harun ÖNLÜ

The persistent nature of plastics in the environment causes serious global environmental problems, and especially single-use products pose a major threat to sustainability. Therefore, biodegradable bioplastics derived from renewable resources have emerged as strong alternatives to fossil-based plastics. In this context, the utilization of food industry wastes for bioplastic production contributes to waste management while enabling the development of value-added products.

In this thesis, the production of both exopolysaccharides (EPS) and single-cell proteins (THP) was investigated using seven different lactic acid bacteria (LAB) strains (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus sakei*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis*, *Weissella confusa*, and *Lactiplantibacillus plantarum*) in a cheese whey (CW) medium for the purpose of bioplastic production.

For EPS production, the parameters of nitrogen and carbon sources, pH, temperature, and incubation time were optimized in MRS medium. As a result, the *L. cremoris* strain achieved an EPS yield of 10.031 g/L. EPS was formulated with glycerol, gelatin, and citric acid, and bioplastic films were produced via the solution casting method; however, the resulting EPS films were found to be excessively ductile, sticky, and mechanically weak, indicating that EPS cannot be used as the main carrier in the bioplastic matrix.

For THP production in CW medium, nitrogen and carbon sources, pH, temperature, and incubation time were optimized. Among the tested strains, *L. garvieae* provided the highest biomass yield, producing approximately 2.663 g/L THP. This biomass was formulated with glycerol, gelatin, and citric acid to develop bioplastic films using the solution casting method.

Characterization studies showed that the films had a tensile strength of 7.139 MPa and an elongation at break of 18.56%. Thermogravimetric analysis (TGA) results indicated that the first major degradation occurred between 200–400 °C. In soil biodegradation tests, the bioplastics exhibited over 65% biodegradation after 60 days.

In addition, *Satureja hortensis* essential oil (SH-EO) was incorporated into the films at concentrations of 1%, 2%, and 3% to impart antimicrobial properties. Disk diffusion analyses revealed inhibition zones of 13–19 mm against *Staphylococcus aureus* and 10–23 mm against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. The most pronounced effects were observed in bioplastics containing 3% essential oil, which exhibited inhibition zones of 15–16 mm against *Escherichia coli*—a response absent in the control group.

The results demonstrated that although EPS exhibited limited performance in bioplastics, CW-based LAB-THP provided a strong and sustainable alternative for producing antimicrobial bioplastics via the solution casting method. This study contributes uniquely to the valorization of dairy industry wastes into value-added biomaterials and to the development of environmentally friendly and food-safe packaging solutions.

Overall, this work represents an original approach by establishing a scientific foundation for the sustainable and antimicrobial bioplastic production from LAB-derived THP synthesized using low-cost waste such as CW.

2025, 96 Pages

Keywords: Antimicrobial bioplastic, Waste reduction, Bioplastic, Environmental biotechnology, Exopolysaccharide, Lactic acid bacteria, Whey, Single cell protein, *Satureja hortensis*, Food Safety

TEŞEKKÜR

Bu doktora serüveni boyunca emeği geçen herkese içtenlikle teşekkür ederim.

Bilimsel rehberliği, yönlendirmeleri ve sabırlı yaklaşımı için değerli danışmanım Dr. Harun ÖNLÜ'ye; tez izleme komitesinde yer alarak katkı sağlayan Prof. Dr. Sedat BOZARI ve Doç. Dr. Taha CEYLANI'ye; bilimsel olarak sürekli yönlendiren ve her aşamada yapıcı katkılarıyla destek veren Doç. Dr. Zeynal TOPALCENGİZ'e teşekkür ederim.

Akademik yolculuğun sabırla da yürütülebileceğini gösteren Doç. Dr. Hüseyin KOÇ'a; malzeme bilimi alanındaki katkıları için Dr. Arif KARADAĞ ve Burak ERGÜNEŞ'e teşekkür ederim.

Tez sürecimin en ilginç yol arkadaşlarından biri, sürekli bozulup bizi zor durumda bırakmasına rağmen vazgeçemediğimiz santrifüjümüz oldu. Onun inişli çıkışlı hallerinde desteğini esirgemeyen Ferdi AVCI'ya ayrıca teşekkür ederim.

Ve elbette, emekleri için sevgili anne ve babama, tüm bu süreç boyunca sabır ve destekleriyle bana en büyük gücü veren eşim Hilal'e ve hayatıma anlam katan kızım İncila Gülce'ye en derin şükranlarımı sunarım.

Halil İbrahim UZUN
MUŞ-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Plastiklerin Çevresel Sürdürülebilirlik Sorunu ve Biyobazlı Çözümler	5
2.2. Ekzopolisakkaritler	7
2.3. Tek Hücre Proteini	12
2.4. Antimikrobiyal Özellikli Biyoplastikler	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	20
3.1. EPS Çalışmaları	20
3.1.1. LAB Suşlarında EPS üretimi ve optimizasyonu	20
3.1.2. EPS ekstraksiyonu ve kurutma	21
3.2. THP Çalışmaları.....	22
3.2.1. LAB suşlarının peyniraltı suyunda THP üretim oranlarının tespiti	22
3.2.2. THP üretim optimizasyonu.....	23
3.3 LAB EPS ve THP Temelli Biyoplastik Üretimi	24
3.3. Antimikrobiyal Biyoplastik Üretimi	25
3.4. Kimyasal Analizler.....	26
3.5. İstatistiksel Analizler.....	27
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA.....	28
4.1 EPS Üretimi, Optimizasyonu ve Biyoplastik Üretimi	28
4.1.1 EPS üretimi için uygun suş seçimi.....	28
4.1.2 EPS üretiminde karbon kaynağı ve konsantrasyonunun etkisi	30
4.1.3 EPS üretiminde azot kaynağı ve konsantrasyonunun etkisi.....	32
4.1.4 EPS üretiminde pH etkisi	35
4.1.5 EPS üretiminde sıcaklık etkisi	36
4.1.6 EPS üretiminde inkübasyon süresi etkisi	37
4.1.7 EPS temelli biyoplastik üretimi	39
4.2. THP Üretimi, Optimizasyonu ve Biyoplastik Üretimi.....	39
4.2.1 THP üretimi için uygun suş seçimi	39
4.2.2 THP üretimi için azot kaynağı ve konsantrasyonunun etkisi.....	42
4.2.3 THP üretimi için karbon kaynağı ve konsantrasyonunun etkisi	44

4.2.4 THP üretimi için pH etkisi	47
4.2.5 THP üretimi için inkübasyon sıcaklığı etkisi	48
4.2.6 THP üretimi için inkübasyon süresi etkisi	50
4.2.7 THP ve peyniraltı suyu karakterizasyonu	51
4.2.8 THP üretimi ve temelli biyoplastik karakterizasyonu.....	52
4.2.8.1 Çekme mukavemeti analizi	53
4.2.8.2 Termal kararlılık.....	55
4.2.8.3 SEM analizi	56
4.2.8.4 FT-IR analizi	58
4.2.8.5 Suda çözünürlük, nem içeriği ve biyobozunum analizi	59
4.3. Antimikrobiyal Biyoplastik Üretimi	62
4.3.1 Antimikrobiyal biyoplastik çekme mukavemeti testi	62
4.3.2 Antimikrobiyal biyoplastik termal kararlılık analizi	63
4.3.3 Antimikrobiyal biyoplastik FT-IR analizi.....	64
4.3.4 Antimikrobiyal etkinlik analizleri	66
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	70
5.1 Sonuçlar	70
5.2 Öneriler	73
KAYNAKLAR	78
ÖZGEÇMİŞ	94

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

ε	: Gerilme (MPa)
σ	: Çekme dayanımı (MPa)
%E	: Kopmada uzama (%)
T	: Sıcaklık (°C)
pH	: Asidite/alkalinite derecesi
t	: İnkübasyon süresi (saat)
TG	: Termogravimetri eğrisi
DTG	: Türevsel termogravimetri eğrisi
DTA	: Diferansiyel termal analiz eğrisi
λ	: Dalga boyu (cm ⁻¹ , FTIR analizleri için)

Kısaltmalar

ANOVA	: Varyans Analizi (Analysis of Variance)
BOİ	: Biyolojik Oksijen İhtiyacı
CNC	: Selüloz Nanokristalleri (Cellulose Nanocrystals)
DTG	: Türevsel Termogravimetri (Derivative Thermogravimetry)
EPS	: Ekzopolisakkarit
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (Food and Agriculture Organization of the United Nations)
GRAS	: Genellikle Güvenli Tanımlanan (Generally Recognized As Safe)
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
LCA	: Yaşam Döngüsü Analizi (Life Cycle Assessment)
OECD	: Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (Organisation for Economic Co-Operation and Development)
PAS	: Peynir Altı Suyu
PHA	: Polihidroksialkanoatlar
PLA	: Polilaktik Asit
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy)
TGA	: Termogravimetrik Analiz (Thermogravimetric Analysis)
THP	: Tek Hücre Proteini
Tukey HSD	: Çoklu Karşılaştırma Testi (Tukey Honestly Significant Difference Test)
MRS	: De Man-Rogosa-Sharpe

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4. 1	ASTM D882 standartlarına göre hazırlanmış çekme numuneleri.....	53
Şekil 4. 2	%12,5 THP içeren biyoplastiğin TGA analiz diyagramı	55
Şekil 4. 3	Biyoplastik yüzeylerine ait SEM görüntüleri (250x)	57
Şekil 4. 4	Biyoplastiklerin Kırılma Noktalarına Ait SEM Görüntüleri (250x)	57
Şekil 4. 5	Biyoplastiklerin FT-IR Yüzey Analizleri.....	58
Şekil 4. 6	30 günlük biyobozunum sonunda THP temelli biyoplastik görüntüleri	62
Şekil 4. 7	%12,5 THP ve %1 SH-EY içeren biyoplastiğin TGA analiz diyagramı.....	63
Şekil 4. 8	Antimikrobiyal biyoplastiklerin FT-IR yüzey analizleri.....	65
Şekil 4. 9	Disk difüzyonu zon çapları görüntüleri.....	68



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4. 1 Farklı LAB Suşlarında EPS Üretim Miktarları	28
Çizelge 4. 2 Farklı LAB suşlarının EPS üretim miktarları için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	28
Çizelge 4. 3 Karbon kaynağının EPS üretimine etkisi	30
Çizelge 4. 4 Karbon kaynağının EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	30
Çizelge 4. 5 Sükroz oranının EPS üretim miktarına etkisi	31
Çizelge 4. 6 Sükroz oranının EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	31
Çizelge 4. 7 Azot kaynağının EPS üretim miktarına etkisi	32
Çizelge 4. 8 Azot kaynağının EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	32
Çizelge 4. 9 Yeast ekstraktı oranının EPS üretim miktarına etkisi	33
Çizelge 4. 10 Yeast ekstraktı oranının EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	34
Çizelge 4. 11 pH'nın EPS üretim miktarına etkisi	35
Çizelge 4. 12 pH'nın EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	35
Çizelge 4. 13 Sıcaklığın EPS üretim miktarına etkisi	36
Çizelge 4. 14 Sıcaklığın EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	37
Çizelge 4. 15 İnkübasyon Süresinin EPS üretim miktarına etkisi	37
Çizelge 4. 16 İnkübasyon Süresinin EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	38
Çizelge 4. 17 Farklı LAB suşlarında THP üretim miktarları	39
Çizelge 4. 18 Farklı LAB suşlarında THP üretim miktarları için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	40
Çizelge 4. 19 Farklı azot kaynaklarının THP üretim miktarına etkisi	42
Çizelge 4. 20 Farklı azot kaynaklarının THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	42
Çizelge 4. 21 Farklı nohut ekstraktı oranlarının THP üretim miktarına etkisi	44
Çizelge 4. 22 Farklı nohut ekstraktı oranlarının THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	44
Çizelge 4. 23 Farklı karbon kaynaklarının THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	45
Çizelge 4. 24 Farklı karbon kaynaklarının THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	45
Çizelge 4. 25 Farklı sükroz oranlarının THP üretim miktarına etkisi	46
Çizelge 4. 26 Farklı sükroz oranlarının THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	46
Çizelge 4. 27 pH'nın THP üretim miktarına etkisi	47
Çizelge 4. 28 pH'nın THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	47
Çizelge 4. 29 Sıcaklığın THP üretim miktarına etkisi	48
Çizelge 4. 30 Sıcaklığın THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	49
Çizelge 4. 31 İnkübasyon süresinin THP üretim miktarına etkisi	50

Çizelge 4. 32	İnkübasyon süresinin THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi	50
Çizelge 4. 33	THP içeriği	51
Çizelge 4. 34	PAS'ın kirlilik oranları	51
Çizelge 4. 35	Nişasta ve THP temelli biyoplastiklere dair çekme mukavemeti analiz sonuçları	53
Çizelge 4. 36	Çekme testi için Tukey HSD testi sonuçları	54
Çizelge 4. 37	Suda çözünürlük ve nem içeriği analizi sonuçları	60
Çizelge 4. 38	Biyoplastiklerin 30 ve 60 gün toprakta biyobozunum analizi sonuçları ..	61
Çizelge 4. 39	60 gün biyobozunum sonuçlarına ilişkin Tukey HSD testi sonuçları	61
Çizelge 4. 40	THP-SH-EY Temelli Biyoplastiklere Dair Çekme Mukavemeti Analiz Sonuçları	62
Çizelge 4. 41	THP-SH-EY çekme testi sonuçlarına ilişkin Tukey HSD testi sonuçları	63
Çizelge 4. 42	THP-SH-EY biyoplastik disk difüzyon analizi sonuçları	66
Çizelge 4. 43	<i>S. aureus</i> disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları	67
Çizelge 4. 44	<i>S. Typhimurium</i> disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları	67
Çizelge 4. 45	<i>E. coli</i> disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları	67
Çizelge 4. 46	THP-SH-EY biyoplastik buhar difüzyonu analizi sonuçları	68
Çizelge 4. 47	<i>S. aureus</i> disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları	69
Çizelge 4. 48	<i>E. coli</i> disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları	69
Çizelge 4. 49	<i>S. Typhimurium</i> disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları	69

1. GİRİŞ

Plastik kirliliği, günümüzde çevresel sürdürülebilirliği tehdit eden en büyük problemlerden biri haline gelmiştir. Fosil yakıtlardan elde edilen geleneksel plastiklerin üretim miktarı her yıl artmakta, kullanım ömürleri kısa olmasına rağmen doğada kalıcılıkları yüzyıllar sürebilmektedir. Çevrede biriken bu plastikler zamanla mikroplastiklere dönüşerek toprak, su ve hava ekosistemlerinde kalıcı kirleticiler haline gelmektedir. Yapılan çalışmalar, mikroplastiklerin yalnızca deniz ekosistemlerinde değil, içme suyu, tarımsal ürün sirkülasyon sisteminde de tespit edildiğini göstermektedir. Bu bulgular, plastik kirliliğinin yalnızca bir atık yönetimi meselesi olmadığını, aynı zamanda halk sağlığını doğrudan etkileyen küresel bir kriz haline geldiğini ortaya koymaktadır. Özellikle tek kullanımlık plastiklerin tüketimdeki artış, pandemi döneminde hijyen kaygılarıyla birlikte daha da hızlanmış, çevresel yükün boyutlarını dramatik biçimde büyötmüştür. Plastiklerin bozunma sürecinde ortaya çıkan toksik monomerler, katkı maddeleri ve ağır metaller, gıda zincirine dahil olarak canlıların sağlığı üzerinde uzun vadeli riskler yaratmaktadır. Bu nedenle geleneksel plastiklerin yerine biyobozunur, çevre dostu ve sürdürülebilir alternatiflerin geliştirilmesi, hem akademik camianın hem de endüstrinin öncelikli gündem maddelerinden biri haline gelmiştir.

Plastik kirliliğinin geldiği boyut, yalnızca ekolojik dengenin değil, aynı zamanda küresel politikaların da merkezinde yer almaktadır. Avrupa Birliği Yeşil Mutabakatı (European Green Deal), 2050 yılına kadar karbon nötr olma hedefini ortaya koymuş, bu kapsamda plastiklerin üretim, tüketim ve atık yönetiminde radikal değişiklikler öngörölmüştür. Tek kullanımlık plastiklerin yasaklanması, geri dönüştürülebilir materyallerin teşviki ve biyobazlı alternatiflerin geliştirilmesi, bu stratejinin temel taşlarını oluşturmaktadır. Paris Anlaşması, iklim değişikliğiyle mücadelede sera gazı emisyonlarını azaltmayı hedeflerken, plastik üretim ve bertaraf süreçlerinin bu emisyonlarda önemli paya sahip olması, biyoplastiklere olan ilgiyi artırmıştır. Benzer şekilde Birleşmiş Milletler Sürdürülebilir Kalkınma Amaçları da (özellikle 12. ve 14. hedefler) sürdürülebilir üretim-tüketim ve okyanus ekosistemlerinin korunmasına vurgu yapmaktadır. Tüm bu küresel politik çerçeveler, biyoplastiklerin yalnızca bilimsel bir arayış değil, aynı zamanda uluslararası regölasyonların bir gerekliliği haline geldiğini göstermektedir.

Döngüsel ekonomi vizyonu, bu bağlamda biyoplastiklerin en önemli dayanak noktasını oluşturmaktadır. Döngüsel ekonomi, ürünlerin yaşam döngüsü boyunca değerinin korunmasını, atıkların hammadde olarak yeniden değerlendirilmesini ve böylece kaynak verimliliğinin artırılmasını hedeflemektedir. Bu perspektiften bakıldığında, gıda endüstrisi yan ürünlerinin biyoplastik üretiminde kullanılması, hem atık yönetimi sorununu çözmekte hem de fosil kaynaklara bağımlılığı azaltmaktadır. Peynir altı suyu (PAS) gibi atıkların biyoplastik üretimine entegre edilmesi, klasik lineer ekonomiden farklı olarak, kaynakların kapalı döngüde tutulmasını sağlamaktadır. Böylece atık azaltımı, enerji tasarrufu ve çevresel etki minimizasyonu bir arada gerçekleştirilebilmektedir.

Mikrobiyal biyoplastiklerin çeşitliliği, araştırmacılara çok sayıda alternatif sunmaktadır. En bilinen mikrobiyal biyoplastiklerden biri olan polihidroksialkanoatlar (PHA), çeşitli bakteriler tarafından sentezlenmekte ve endüstriyel ölçekte üretilmektedir. Ancak PHA üretimi genellikle maliyetli substratlar gerektirmekte, ayrıca belirli koşullar altında sınırlı mekanik özellikler göstermektedir. Polilaktik asit (PLA), mısır nişastası veya şeker kamışından elde edilen laktik asidin polimerizasyonu ile üretilmekte, gıda ambalajı ve medikal alanlarda yaygın kullanılmaktadır. Bununla birlikte PLA'nın endüstriyel kompostlama koşulları dışında yavaş bozunması, çevresel açıdan bazı sınırlamalar getirmektedir. Nişasta temelli biyoplastikler ise ekonomik olmalarına karşın suya karşı düşük direnç göstermektedir. Bu tablo, yeni biyopolimer kaynaklarının araştırılmasının gerekliliğini net biçimde ortaya koymaktadır.

Son yıllarda gıda endüstrisi atıklarının mikrobiyal üretim süreçlerinde değerlendirilmesi, hem atık yönetimi sorunlarına çözüm üretmekte hem de biyoplastik hammaddelerinin düşük maliyetli kaynaklardan sağlanmasına imkân tanımaktadır. Bu yaklaşım, döngüsel ekonomi ve atıktan ürüne dönüşüm vizyonu ile uyumlu olup, sürdürülebilir biyoteknoloji stratejilerinin merkezinde yer almaktadır. Süt endüstrisinin yan ürünü olan PAS, bu kapsamda en dikkat çeken substratlardan biridir. PAS, yüksek laktoz içeriği, çözünür proteinleri, mineral tuzları ve vitaminleri sayesinde mikrobiyal gelişim için son derece uygun bir ortam sunmaktadır. Dünya genelinde yılda yaklaşık 120 milyon tonluk üretim kapasitesine sahip olan bu yan ürün, yüksek biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ) ve kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) nedeniyle çevresel risk oluşturmaktadır. Uygun şekilde değerlendirilmediğinde su kaynaklarının kirlenmesine ve ekosistemlerin dengesinin bozulmasına yol açabilmektedir. Buna karşın, PAS'ın mikrobiyal

fermentasyon süreçlerinde substrat olarak değerlendirilmesi, bu atığın hem çevresel yükünü azaltmakta hem de katma değerli ürünlere dönüştürülmesini sağlamaktadır.

PAS'ın değerlendirilmesine yönelik farklı yaklaşımlar geliştirilmiştir. Laktik asit, biyosüpfaktant, enzimler ve mikrobiyal biyokütle üretimi bu uygulamalara örnek olarak verilebilir. Özellikle laktik asit bakterileri (LAB) kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyon süreçleri, gıda güvenliği açısından GRAS (Generally Recognized as Safe – genellikle güvenli kabul edilen) statüsünde olmaları ve yüksek biyosentetik kapasiteleri nedeniyle avantajlıdır. LAB suşları, PAS'ı karbon ve azot kaynağı olarak etkin biçimde kullanabilmekte, çeşitli metabolitler ve polimerler sentezleyebilmektedir. Bu bağlamda, LAB temelli ekzopolisakkaritler (EPS) ve tek hücre proteinleri (THP), biyoplastik üretimi açısından dikkat çekici iki farklı hammadde sınıfı olarak değerlendirilmektedir.

LAB kaynaklı EPS'ler, genellikle hücre dışına sentezlenen ve homopolisakkarit ya da heteropolisakkarit sınıfına giren yüksek molekül ağırlıklı polimerlerdir. Bu polimerler, özellikle heteropolisakkaritler söz konusu olduğunda, biyoyumlu, düşük toksisiteli ve gıda kodeksine uygun yapılarıyla ön plana çıkmaktadır. EPS'ler, çözelti viskozitesini artırma, jel oluşturma ve bağlayıcı özellikleri nedeniyle gıda endüstrisinde kıvam artırıcı ve stabilizatör olarak geniş ölçüde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, son yıllarda EPS'nin biyoplastik üretiminde matrise doğrudan dahil edilip edilemeyeceği üzerine yapılan araştırmalar artış göstermiştir. EPS'nin mekanik dayanımı tek başına yetersiz olsa da, protein ve selüloz temelli sistemlerde ara faz bağlayıcı olarak kullanılmaları umut verici bir yaklaşım olarak görülmektedir.

Öte yandan THP, mikrobiyal biyokütlenin doğrudan değerlendirilmesiyle elde edilen, yüksek protein içeriğine sahip bir üründür. LAB kaynaklı THP, jelatin ve gliserol gibi yardımcı bileşenlerle formüle edildiğinde film ve kaplama materyali olarak işlev görebilmektedir. Protein temelli biyoplastikler, doğaları gereği biyobozunur olup, mekanik dayanımları formülasyona bağlı olarak değişmektedir. THP, özellikle PAS gibi düşük maliyetli substratlardan üretildiğinde, hem ekonomik hem de çevresel açıdan sürdürülebilir bir biyoplastik hammaddesi niteliği kazanmaktadır. Ancak literatürde LAB kullanılarak doğrudan PAS'da üretilen THP'nin biyoplastik üretiminde değerlendirilmesine yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu boşluk, araştırma alanında önemli bir yenilik potansiyeli barındırmaktadır.

LAB kaynaklı EPS ve THP, bu bağlamda literatürde görece daha az çalışılmış, fakat oldukça umut verici alternatiflerdir. EPS, polimer yapısı gereği viskoelastik özelliklere sahip olup, biyoplastik matrisinde bağlayıcı rol üstlenebilir. THP ise protein temelli yapısı sayesinde esneklik, biyobozunurluk ve bariyer özellikleri bakımından avantaj sağlayabilir. Özellikle THP, formülasyonuna bağlı olarak farklı mekanik profiller sergileyebilmekte, gıda ambalajında şeffaf film ya da biyomedikal uygulamalarda biyouyumlu materyal olarak değerlendirilebilmektedir. Ancak her iki malzemenin de laboratuvar ölçeğinden endüstriyel ölçeğe geçişte detaylı araştırmalara ihtiyacı vardır.

Son yıllarda biyoplastik araştırmalarında yalnızca mekanik ve biyobozunurluk özellikleri değil, aynı zamanda fonksiyonel özellikler de ön plana çıkmaya başlamıştır. Özellikle gıda ambalajı uygulamalarında biyoplastiklere antimikrobiyal özellik kazandırılması, ürünlerin raf ömrünü uzatma, patojen kontaminasyonunu azaltma ve gıda güvenliğini artırma açısından kritik bir strateji olarak değerlendirilmektedir. Bu amaçla bitkisel kökenli esansiyel yağlar, fenolik bileşikler ve metal nanopartiküller gibi doğal veya nanoteknolojik ajanların biyoplastik matrise dahil edilmesine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Esansiyel yağların antimikrobiyal etkinliği, biyoplastik filmlere doğrudan veya nanoenkapsülasyon yoluyla eklendiklerinde *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* ve *Escherichia coli* gibi gıda kaynaklı patojenlere karşı inhibitör etki sağlayabildiklerini göstermektedir. Bu yaklaşım, biyoplastiklerin yalnızca çevre dostu alternatifler değil, aynı zamanda aktif ambalaj materyalleri olarak da işlev görebileceğini ortaya koymaktadır.

Bu tez çalışmasında öncelikle MRS besiyerinde LAB kaynaklı EPS üretimi gerçekleştirilmiş ve biyoplastik matrisinde film oluşturma kapasitesi değerlendirilmiştir. Elde edilen EPS, gliserol ve jelatin ile formüle edilerek çözelti döküm yöntemiyle biyoplastik filmler hazırlanmış ve mekanik performansı incelenmiştir. Bununla birlikte, EPS'nin sınırlı mekanik dayanım sunduğu ve ana taşıyıcı olarak kullanılmasının kısıtlı olduğu görülmüştür.

Çalışmanın sonraki aşamasında PAS substratında LAB temelli THP üretimi yapılmış, elde edilen biyokütle gliserol ve jelatin ile formüle edilerek biyoplastik filmler geliştirilmiştir. Bu filmler üzerinde mekanik, termal ve morfolojik karakterizasyon çalışmaları yürütülmüş; ayrıca *Satureja hortensis* esansiyel yağı (SH-EY) ilavesiyle antimikrobiyal özellikler kazandırılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Plastiklerin Çevresel Sürdürülebilirlik Sorunu ve Biyobazlı Çözümler

İklim değişikliği, nüfusun dağılımdaki dengesizlik ve kaynakların verimsiz kullanımı, sürdürülebilirlik ve gıda güvenliği üzerinde ciddi baskılar oluşturmaktadır. Küresel ölçekte artan tüketim ve emtiaların dolaşımı, doğal kaynaklar üzerinde önemli riskleri de beraberinde getirmektedir (Sukan ve ark., 2015). Bu sürdürülemez kaynakların başında ham petrol gelmekte ve çıkarılan petrolün yaklaşık %4'ü plastik üretiminde kullanılmaktadır (Bayer ve ark., 2014). Plastik malzemeler, günümüzde endüstriyel üretimden evsel kullanıma kadar oldukça geniş bir alanda temel bir rol üstlenmektedir. Nitekim 2022'de petrol kökenli plastik üretiminin 400 milyon ton civarına ulaştığı raporlanmıştır (Plastic Europe, 2023).

Petrol bazlı plastiklerin üretim süreçleri, karbondioksit başta olmak üzere sera gazlarının salımını artırarak çevresel endişeleri derinleştirmektedir (Jain ve Tiwari, 2015). Düşük ve yüksek yoğunluklu polietilen (LDPE ve HDPE) gibi polimerler, plastik film üretiminde en yaygın kullanılan hammaddeler arasında yer almaktadır. Bununla birlikte, petrol kökenli plastiklerin en önemli dezavantajı, doğal ortamlarda uzun süre kalıcılığını koruyarak biyolojik olarak parçalanamamasıdır (Wang ve ark., 2020).

Plastik atıkların önemli bir bölümü yakılmakta veya depolama sahalarına gönderilmekte bu da çevre ve insan sağlığı açısından önemli sorunlara yol açabilmektedir (Wang ve ark., 2020). Çevresel etkilere karşı yüksek mukavemetli ve biyolojik olarak parçalanamayan yapıları nedeniyle plastik atıklar; okyanus ve denizlerdeki katı atıkların yaklaşık olarak %75'inden fazlasını oluşturmaktadır (Zhang ve ark., 2021).

Vahşi depolama alanları ve çevreye düzensiz olarak yayınlan plastik atıkların oluşturduğu önemli risklerden biri de bu atıkların su ve çeşitli kimyasallarla etkileşime girerek tehlikeli bileşikler oluşturması ve toprak ile yeraltı suyunu kirletebilmesidir (Emadian ve ark., 2017). Ayrıca plastikler çevresel zararın ötesinde insan sağlığı için de tehdit oluşturmaktadır. Özellikle gıdayla temas eden ambalajlar yüksek risk taşımaktadır (Jones ve ark., 2015). Lau ve Wong (2000), petrol türevli plastiklerin gıdaya yönelik üç potansiyel kontaminasyon yolunu tanımlamıştır: (i) plastiğin kademeli bozulması, (ii) benzen gibi uçucu bileşenlerin salınması ve (iii) monomere özgü kirletici maddelerin gıdaya geçişi. Plastik-materyal kaynaklı bileşiklerin gıdaya migrasyonunda ise üç aşama kritik rol oynar: (i) polimer içindeki difüzyon, (ii) gıda-polimer arayüzünde maddenin çözünmesi ve (iii) çözünmüş maddenin gıda matrisine yayılması (Jones ve ark., 2015).

Plastiklerin çevre üzerindeki etkileri bağlamında, özellikle son yıllarda popüler bir araştırma konusu olan mikroplastikler ve nanoplastikler, sucul yaşam başta olmak üzere insan sağlığı açısından ciddi tehditler oluşturmaktadır. Boyutları 5 mm'nin altında olan mikroplastik parçacıkların, hem ekosistemler hem de insan sağlığı üzerinde önemli olumsuz etkiler yarattığı belirlenmiştir (Osman ve ark., 2023). Nanoplastikler ise daha küçük boyutları ve yüksek kimyasal reaktiviteleri nedeniyle, biyolojik sistemler üzerinde mikroplastiklere kıyasla daha yüksek düzeyde toksik etki oluşturabilmektedir (Sharma ve ark., 2021). Bu küçük parçacıkların hücre zarlarını aşarak organizmalara nüfuz etme ve uzak mesafelere taşınma potansiyeli, çevresel risklerini daha da artırmaktadır. Akdeniz Havzası, biyolojik çeşitliliği ve besin kaynakları açısından kritik öneme sahip olmasına karşın, plastik ve mikroplastik kirliliğinden en fazla etkilenen bölgelerden biri olarak öne çıkmaktadır (Cózar ve ark., 2015). Yapılan çalışmalar, Akdeniz'e salınan plastiklerin büyük oranda çevresindeki beş ülkeden kaynaklandığını ortaya koymuştur. Bu ülkeler arasında Türkiye günlük yaklaşık 144 ton plastik atıkla en yüksek katkıyı sağlarken; İspanya 126 ton, İtalya 90 ton, Mısır 77 ton ve Fransa 66 ton ile listeyi takip etmektedir (Sharma ve ark., 2021). Mikroplastikler genellikle birincil ve ikincil kaynaklar yoluyla çevreye karışmaktadır. Kozmetik ürünler, deterjanlar, boyalar, ilaçlar, bebek bezleri ve pestisitler gibi çeşitli ürünlerde doğrudan kullanılan mikroplastikler birincil kaynakları oluştururken, araç lastiklerinin aşınması başta olmak üzere fiziki etkilerle aşınma neticesinde oluşan parçacıklar ikincil kaynaklar kapsamında değerlendirilmektedir (Andrady, 2017; Duis ve Coors, 2016). Bu parçacıklar, kalıcı organik kirleticiler (POP'lar) ve ağır metaller gibi toksik maddeleri yüzeylerinde adsorbe edebilmekte, böylece su kütlelerinde çevresel kirlenmeye neden olmaktadır (Van Emmerik ve ark., 2018).

Mikroplastikler yalnızca çevreyi değil, gıda zincirini de tehdit etmektedir. Sucul organizmalar tarafından besin olarak alınan bu partiküller, dokularda birikerek trofik seviyeler boyunca taşınmakta ve nihayetinde insan beslenme zincirine entegre olmaktadır (Caron ve ark., 2018; Hipfner ve ark., 2018; Matsuguma ve ark., 2017). Bu parçacıkların büyük yüzey alanları, zararlı mikroorganizmaların biyofilm oluşturmaya uygun zemin hazırlarken, güneş ışığını engelleyerek fotosentetik canlıların oksijen üretimini azaltmakta ve su ekosistemlerinin dengesini bozmaktadır. Ayrıca mikroplastiklerin yüzeylerine antibiyotikler dahil olmak üzere çeşitli çevresel kirleticilerin tutunabildiği ve bu kirleticilerin de besin zincirine taşınabileceği bildirilmektedir (Andrady, 2017).

Petrol türevi plastiklerin çevresel baskıları artırması ve fosil kaynakların hızla tükenmesi, geleneksel plastik üretimine alternatif olarak biyoplastiklerin geliştirilmesini teşvik etmektedir (Sukan ve ark., 2015). Biyoplastikler ya da “yeşil plastikler”, genellikle nişasta, selüloz, kitosan ve protein gibi yenilenebilir biyokütlelerden elde edilen ve nihai olarak karbondioksit ile suya dönüşerek çevrede parçalanabilen materyallerdir (Marichelvam ve ark., 2019). Türüne bağlı olarak evsel veya endüstriyel kompostlama, aerobik ve anaerobik gibi biyolojik süreçlerle mikrobiyal ayrışmaya elverişlidir (Azahari ve ark., 2011; Narancic ve ark., 2018; Varghese ve ark., 2022).

Biyoplastiklerin çevresel avantajları yalnızca biyolojik parçalanabilirlik ile sınırlı kalmayıp; bütünleşmiş biyoproseslerle üretilbilmesi, düşük karbon ayak izi bırakması ve çok çeşitli uygulamalara sahip olması açısından da öne çıkmaktadır (Marjadi ve ark., 2010). Bu özellikleri sayesinde, biyoplastikler akademik, endüstriyel ve toplumsal düzeyde yoğun ilgi görmektedir (Siakeng ve ark., 2019). 2018 ile 2022 yılları arasında biyoplastik üretimi, toplam plastik üretimi içinde %68 oranında artış göstermiştir. Ancak 2021 yılı itibarıyla biyoplastikler hâlen toplam 400 milyon tonluk plastik üretimin yalnızca %6'sını oluşturmaktadır (Plastic Europe, 2023). Buna rağmen, önümüzdeki beş yıl içinde küresel biyoplastik pazarının %40 oranında büyümesi beklenmektedir (Bassi ve ark., 2021).

2.2. Ekzopolisakkaritler

EPS'ler, mikroorganizmalar tarafından hücre dışına sentezlenen, tekrarlayan monosakkarit birimlerinden oluşan yüksek molekül ağırlıklı polimerlerdir. EPS'ler genellikle kapsüler (CPS) veya hücre dışına salınmış çözünür formlarda bulunur ve homopolisakkaritler ile heteropolisakkaritler olarak sınıflandırılır. Monomer kompozisyonu, glikozidik bağ tipleri [α -(1→6), β -(1→3) vb.], dallanma derecesi ve asetilasyon/fosforilasyon gibi yan gruplar, zincir sertliği, cam geçiş sıcaklığı, çözünürlük ve reolojik davranış gibi temel malzeme özelliklerini belirlemektedir. Bu yapısal farklılıklar, EPS'nin hücre yüzeyinde koruyucu bir zarf oluşturması, biyofilm matrisinin mekanik dayanımını artırması ve pH, tuzluluk, oksidatif koşullar gibi çevresel streslere karşı toleransı güçlendirmesi gibi biyolojik işlevlere de yansır (De Vuyst ve Degeest, 1999; Ruas-Madiedo ve De Los Reyes-Gavilán, 2005).

EPS biyosentezi, genellikle *wzy*-bağımlı veya ABC taşıyıcı temelli yollarla gerçekleşir. Şeker fosfatlardan aktif nükleotit-şeker ara ürünleri üretilir, tekrarlayan birimler membranda polimerize edilip hücre dışına taşınır. Gen kümelerinin (*eps*, *cps*)

dizilimi ve regülasyonu zincir uzunluğunu ve dallanmayı belirlerken karbon/azot kaynağı, pH, sıcaklık, iyonik kompozisyon gibi ortam koşulları hem verimi hem de yapı-mülkiyet ilişkisini etkiler. Yapılan bir çalışmaya göre sakaroz varlığı dekstran sentezini kolaylaştırırken maya özütü gibi azot kaynaklarının miktarı ve amino asit profili zincir mimarisini, dolayısıyla reolojiyi belirgin biçimde modüle etmektedir (De Vuyst ve Degeest, 1999; Welman ve Maddox, 2003). Deneysel olarak pH 6,0–6,8 ve 25–37°C aralıkları ile 24–48 saatlik inkübasyonların birçok LAB suşu için optimum EPS üretimine izin verdiği rapor edilmektedir (Ruas-Madiedo ve De Los Reyes-Gavilán, 2005; Zeidan ve ark., 2017).

Fizikokimyasal açıdan EPS'ler hidrofilik karakterleri, çoklu hidroksil grupları ve hidrojen bağları kurma yetenekleri nedeniyle sulu ortamlarda viskoziteyi artırmakta, jel oluşturabilmekte ve film oluşturma kabiliyeti gösterebilmektedir. Zincir dallanması arttıkça amorf alanlar ve su bağlama kapasitesi artmaktadır. Bu durum bariyer özellikleri ile çekme dayanımı, kopmada uzama gibi mekanik parametreler arasında denge gerektirmektedir. Ayrıca asetilasyon gibi kimyasal modifikasyonlar su buharı geçirgenliğini ve camsı geçiş davranışını etkilemektedir. LAB-EPS'lerin GRAS statüsü ve biyoyuumluluğu, gıda ve biyomalzeme uygulamalarında güvenlik profilini güçlendirmektedir (Jurášková ve ark., 2022; Korcz ve Varga, 2021; Welman ve Maddox, 2003).

EPS yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Gıda teknolojisinde tekstür düzenleyici, kıvam artırıcı ve stabilizatör olarak fermente süt ürünleri, bitki bazlı içecekler ve düşük yağlı et ürünlerinde yaygın şekilde değerlendirmektedir. Bu uygulamalar, zincir mimarisi ve molekül-ağ etkileşimleri üzerinden akış özelliklerinin hassas ayarlanmasına dayanmaktadır. Ayrıca ksanthan, gellan, kefiran gibi bazı bakteriyel EPS'ler biyomedikal/eczacılıkta taşıyıcı matris, yara örtüsü veya oral ince filmler gibi formlarda işlev görmektedir. Sürdürülebilir ambalaj alanında ise EPS'lerin biyobozunurluğu ve düşük toksisitesi, fosil bazlı plastiklere alternatif arayışında değerli bir başlangıç noktası sunabileceği düşünülmektedir (Guerrero ve ark., 2024; Korcz ve Varga, 2021; Mohd Nadzir ve ark., 2021).

LAB kökenli EPS'ler, teknolojik ve güvenlik avantajları nedeniyle ayrı bir öneme sahiptir. *Leuconostoc* türlerinin dekstran gibi homopolisakkaritleri ve *Lactobacillus kefiranofaciens*'in kefiranı detaylı olarak tanımlanan türlerdir. Buna karşılık, birçok LAB suşu heteropolisakkarit üretmekte ve bu polimerler ürüne özgü reolojik özellikler kazandırmaktadır. LAB-EPS'lerin kompozisyonunun ve dallanma derecesinin, jelasyon

ve film oluşum davranışlarına doğrudan yansiyabileceği kaydedilmektedir. MRS-benzeri kontrollü ortamlarda yapılan çalışmalar, karbon ve azot kaynağı seçiminin EPS verimini ve moleküler ağırlığını anlamlı biçimde etkilediğini göstermiştir (De Vuyst ve Degeest, 1999; Ruas-Madiedo ve De Los Reyes-Gavilán, 2005; Vaningelgem ve ark., 2004).

Bu bağlamda kefiran, film yapma kapasitesi yüksek, hidrofilik ve şeffaf filmler verebilen bir LAB-EPS örneğidir. Çözelti döküm yöntemi ile üretilen kefiran filmlerinde plastikleştirici konsantrasyonu arttıkça zincirler arası hareketlilik artmakta ve bu, kopmada uzamayı yükseltirken çekme dayanımında düşüşe yol açmaktadır. Konsantrasyon ve kurutma rejimi kalınlık, nem ve çözünürlüğü belirgin şekilde etkilemektedir. Literatür, kefiran filmlerinin gıda teması ve ambalaj uygulamaları için umut vadeden mekanik ve bariyer profillerine ulaşabildiğini ancak su buharı geçirgenliğinin formülasyonla dikkatle dengelenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (Exarhopoulos ve ark., 2022; Tan ve ark., 2020).

Dekstran temelli filmler ve kaplamalar da çözelti döküm yöntemiyle yaygın olarak üretilmektedir. Poligliserol gibi düşük molekül ağırlıklı plastikleştiricilerin artırılması çekme dayanımını düşürürken uzamayı anlamlı ölçüde artırmaktadır. Bu eğilim, polimer zincirleri arasında mesafenin artması ve hidrojen bağlarının yeniden düzenlenmesiyle açıklanmaktadır. Dekstran/jelatin veya dekstran/protein karışımlarında, elektrostatik ve hidrojen bağları üzerinden ara yüzey aderansı, cam geçiş davranışı ve nem alma kapasitesi birlikte şekillenmektedir (Davidović ve ark., 2021; Wu ve ark., 2024).

Levan, bazı bakteri türleri tarafından sentezlenen bir fruktan olup tek başına film yapımında sınırlı mekanik performans gösterebilmektedir. Ancak kitosan veya proteinlerle harmanlandığında esneklik/rijitlik dengesi iyileşmekte ve Young modülü artmaktadır. Çözelti döküm tabanlı levan–kitosan kompozitleri, hidrojen bağları ve polielektrolit etkileşimleri sayesinde daha sıkı bir ağ yapısı sergilemektedir (Bouallegue ve ark., 2020; Haddar ve ark., 2021; Wang ve ark., 2022).

Gellan gum ve ksanthan gibi mikrobiyal EPS'ler, tek başlarına veya protein/nişasta matrisleriyle birlikte kullanıldıklarında bariyer ve mekanik özellikleri hedefe göre ayarlama imkânı sunmaktadır. Gellan/gelatin bileşimlerinde oran ve tuz derişimi mekanik davranışı güçlü biçimde belirlemektedir. Polivinil alkol (PVA) ile birlikte çözelti döküm yapılan gellan bazlı filmlerde çözücü buharlaştırma rejimi ve (ör., sitrik asit, Ca^{2+} gibi çapraz bağlayıcılar oksijen bariyeri ve ısıl stabiliteyi belirgin biçimde etkileyebilmektedir (Elsaeed ve ark., 2023; Li ve ark., 2024).

Biyoplastik üretiminde EPS'nin kullanıldığı başlıca işleme yöntemleri: çözelti döküm, termo-kompresyon/kalıpta sıcak presleme (compression molding), ekstrüzyon (tek/çift vidalı), ve elektrospinning olarak özetlenebilir. Çözelti döküm, düşük sıcaklık gerekliliği nedeniyle ısıl bozulmaya duyarlı EPS'ler için birincil yöntem olarak ele alınmaktadır. Ayrıca film kalınlığı, kuruma profili ve plastikleştirici tipiyle bariyer-mekanik dengesi rafine edilebilir (Pires ve ark., 2024; Uranga ve ark., 2020a; Yermagambetova ve ark., 2024).

Sıkıştırma kalıplama yöntemi ise protein ve bazı polisakkarit-zengin kompozitlerde zincir hareketliliğini artırmak üzere ısı-basınç kombinasyonunu kullanmaktadır. Kitosan, jelatin, nişasta ve bitkisel protein esaslı biyoplastiklerde 90–150°C aralığında, birkaç dakika ile onlarca dakika arasında değişen baskı süreleri rapor edilmiştir. Sitrik asit gibi reaktif plastikleştiriciler, esterifikasyon/nükleofilik substitüsyon yoluyla suya dayanımı artırabilir. Bu yöntem, yüksek katı madde içeriklerinde homojen kalıp dolumu, daha düzgün yüzey ve yüksek üretim hızları sağlayarak çözelti döküme kıyasla ölçeklenebilirlik avantajı sunabilmektedir. Ancak EPS'lerin termal stabilitesi göz önünde bulundurulmalı, protein/EPS oranı ve nem içeriği dikkatle optimize edilmelidir (Guerrero ve ark., 2019; Jerez ve ark., 2007; Qazanfarzadeh ve Kumaravel, 2023).

Ekstrüzyon ve sıcak preslemenin ardışık kullanımı, nişasta-protein-EPS sistemlerinde yapısal yönlendirme ve gözeneksizliği kontrol etmek için tercih edilmektedir. Tapioka nişastasına ksanthan eklenerek ekstrüde edilen filmlerde su buharı geçirgenliği ve mekanik parametrelerin formülasyon ve işlem parametrelerine duyarlı şekilde değiştiği gösterilmiştir. Çift vidalı ekstrüzyon sonrası sıkıştırma kalıplama ile film/kart tabakaları üretmek, sürekli proses avantajı ve endüstriyel uygunluk sağlamakta ancak EPS'nin ısıya duyarlılığı nedeniyle ekstrüzyon sıcaklık profillerinin dikkatle seçilmesi gerekmektedir (Alonso ve ark., 2024; Bangar ve ark., 2021; Flores ve ark., 2010).

Elektroeğirme (Electrospinning), özellikle pullulan gibi film-yapıcı mikrobiyal polisakkaritlerin nanolif formunda işlenmesine olanak sağlamaktadır. EPS'nin viskoelastik çözelti reolojisi, iletkenliği ve çözücü seçimi jet kararlılığını belirlemektedir. Pullulan-protein hibritleri veya pullulan-pektin karışımları, gıda ve biyomedikal uygulamalar için nanolifli filmler üretmekte kullanılmıştır. Bu yaklaşımın, yüksek yüzey alanı ve hızlı çözünme/dağılım gibi performans kazanımları sağlamıştır (Chen ve ark., 2024; Falsafi ve ark., 2023).

EPS'nin biyoplastik matrislerdeki fonksiyonu, tek başına film oluşturu olmaktan ara faz bağlayıcı/uyumlulaştırıcı olarak davranmaya kadar uzanmaktadır. Protein temelli sistemlerde EPS'nin hidroksil zengin omurgası, karbonil/amin fonksiyonlarıyla çoklu hidrojen bağları kurarak ara yüzey aderansını güçlendirebilmektedir. Bu durum kırılabilirliği azaltıp tokluğu artırabilir. Öte yandan, EPS'nin hidrofilikliği su buharı geçirgenliğini yükseltebileceğinden, plastikleştirici ve çapraz bağlayıcı seçimi kritik hale gelmektedir. Jelatin-dekstran, jelatin-gellan ve levankitosan türevi kompozitlerde, oran ve iyonik ortam ayarıyla hedeflenen Young modülü, uzama ve bariyer dengesine ulaşılabileceği kaydedilmektedir (Liao ve ark., 2024; Wang ve ark., 2022).

Yöntem-özellik örnekler üzerinden özetlemek gerekirse: i) Çözelti döküm ile kefiran filmlerinde konsantrasyon ve plastikleştirici artışı kalınlığı ve uzamayı artırırken çekme dayanımını düşürebilmekte, kurutma rejimi su aktivitesini ve su buharı geçirgenliği (WVP, water vapour permeability)'yi belirlemektedir (Exarhopoulos ve ark., 2022; Tan ve ark., 2020). ii) Sıkıştırma kalıplama ile jelatin-temelli filmlerde, sitrik asit varlığında 90–105°C'de termal kütleme film ağırlığını sıkılaştırarak suya dayanımı artırabilmektedir. Ön ısıtma işlem ve gliserol düzeyi, camsı-lastiksi geçişleri yeniden düzenlemektedir (Uranga ve ark., 2020a). iii) Ekstrüzyon + sıcak baskı ile nişasta/ksanthan veya nişasta/EPS sistemlerinde sürekli üretimin mümkün olduğu kaydedilmektedir. Çizgisel viskoelastik modüller ve WVP, vidalama profili ve soğutma hızıyla hassas biçimde kontrol edilebilmektedir (Alonso ve ark., 2024; Flores ve ark., 2010). iv) Elektrospinning ile pullulan-temelli nanolifli filmler, yüksek yüzey alanı ve hızlı çözünme sayesinde fonksiyonel taşıyıcılara dönüştürülebilmektedir (Chen ve ark., 2024; Zhou ve ark., 2024).

Bütüncül bakış açısından, EPS içeren biyoplastiklerde üç temel tasarım ilkesi öne çıkmaktadır: (1) zincir-mimari uyumu: EPS-protein/nişasta oranı, dallanma derecesi ve plastikleştirici tipi, camsı geçiş ve mekanik profilin ana belirleyicisidir; (2) işleme-uyumluluk: EPS'nin ısı kararlılığı ve nem içeriği çözelti döküm/kompresyon/ekstrüzyon pencerelerini tanımlar; (3) ara yüzey mühendisliği: hidrojen bağları ve iyonik köprüler (Ca^{2+} , sitrik asit esterleri vb.) aracılığıyla fazlar arası yük transferi ve suya dayanım yönetilir. Güncel derlemeler, EPS-tabanlı filmlerin çevreye duyarlı ambalajlarda güçlü bir aday olduğunu, ancak uzun dönem nem-bariyer performansı ve sıcaklık/nem çevrimlerinde boyutsal kararlılık gibi metriklerde süreç-formülasyon eşleştirmelerinin

kritik kaldığını vurgulamaktadır (Abe ve ark., 2021; Korcz ve Varga, 2021; Li ve ark., 2025).

2.3. Tek Hücre Proteini

Son yıllarda biyoplastik üretiminde artan ilgi, bitkisel ve hayvansal kaynaklı proteinlerin çevre dostu ve yenilenebilir hammaddeler olarak değerlendirilmesini gündeme getirmiştir. Bu proteinlerin, film oluşturma yeteneklerinin yüksek olması ve biyolojik olarak parçalanabilirlikleri, özellikle gıda ambalajlama uygulamalarında cazip hale gelmelerini sağlamaktadır (Assad ve ark., 2020; Bourtoom, 2008). Günümüzde protein bazlı biyoplastikler; buğday glütenu, soya, bezelye, mısır zeini, pamuk tohumu proteini gibi bitkisel kaynaklardan ve PAS, kazein, kollajen, jelatin, keratin, balık miyofibril proteini gibi hayvansal ürünlerden elde edilmektedir (Dubey ve Dubey, 2020; Kouhi ve ark., 2020; Mohamed ve ark., 2020). Ancak, özellikle bitkisel kaynaklı proteinlerin üretimi için tarıma elverişli arazi ve tatlı su gereksinimi bulunması, Birleşmiş Milletler'in sürdürülebilir kalkınma hedefleriyle örtüşmeyen çevresel sınırlamalar yaratmaktadır (Matassa ve ark., 2015). Gıda arzında öncelikli olan bu ürünlerin biyoplastik üretiminde kullanılması, sürdürülebilirlik açısından da ciddi bir sorun teşkil etmektedir (Ezeh ve ark., 2012). Bu bağlamda, protein temini açısından bitkisel ve hayvansal kaynaklara alternatif oluşturabilecek seçenekler geliştirilmesi gerekmektedir.

Mikroorganizmalar, yüksek protein içerikleri sayesinde biyopolimerler dahil olmak üzere çeşitli protein bazlı ürünlerin üretiminde potansiyel sunmaktadır (Kunasundari ve ark., 2013; Matassa ve ark., 2016). Bu mikroorganizmalar, doğrudan ham biyokütle olarak biyoplastik üretiminde kullanılabilmekte ve böylece polihidroksibütirat (PHB) gibi mikrobiyal polimerlerin üretiminde genellikle gerekli olan ekstraksiyon kimyasallarına duyulan ihtiyaç ortadan kaldırılabilir. Mikroorganizmal protein (MP) temelli biyoplastikler; yüksek mekanik dayanım, biyobozunabilirlik ve çevreyle uyumlu özellikleri ile mikroplastik oluşumunun önlenmesine katkı sunan yenilikçi çözümler arasında gösterilmektedir (Singha ve ark., 2021). Ayrıca, fonksiyonel özellikleri ve potansiyel yenilebilirlikleri göz önüne alındığında, bu biyopolimerlerin özellikle gıda ambalajlama ve biyomedikal uygulamalarda kullanıma uygun olduğu bildirilmektedir (Areniello ve ark., 2023). Bununla birlikte, MP bazlı biyoplastiklerin fiziksel ve mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi ve uygulama alanlarının genişletilmesi için daha fazla bilimsel araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Garavand ve ark., 2017; Ghanbarzadeh ve Oromiehi, 2008).

Bu kapsamda, günümüzde yem ve besin takviyesi olarak kullanılan mikroorganizma temelli THP (literatürde "Single Cell Protein – SCP" olarak da ifade edilmektedir) alternatif biyoplastik hammaddesi olarak dikkat çekmektedir. Bu proteinler; bakteri, mantar ve alg gibi mikroorganizmaların tarımsal atıklar ve endüstriyel yan ürünler gibi düşük maliyetli karbon kaynakları üzerinde yetiştirilmesiyle elde edilen ölü ve kurutulmuş mikrobiyal biyokütlelerdir (Matassa ve ark., 2020; Ravindra ve ark., 2000; Sharif ve ark., 2021). THP üretimi, mikroorganizmaların uygun substratlar üzerinde kültürlenmesi, ardından protein açısından zengin hücrelerin hasat edilip işlenmesi ile gerçekleştirilmektedir (Nasseri ve ark., 2011).

Singha ve ark. (2021), bitkisel THP bazlı biyoplastik üretimine yönelik çalışmalarında, %66 protein, %6,3 yağ ve %12,5 karbonhidrat içeren mikrobiyal hücreleri THP olarak tanımlamıştır. Nasseri ve ark. (2011) de benzer şekilde THP'yi mikroorganizmanın kurutulmuş hücresi olarak tanımlamaktadır. Ayrıca THP, selüloz, kitin ve aljinat gibi diğer biyopolimerlerin üretiminde de kullanılmakta ve bu yönüyle sürdürülebilir malzeme teknolojilerine katkı sunmaktadır.

Mikroorganizmaların toplam kuru ağırlığının %60–80'i proteinlerden oluşurken, kalan kısmı karbonhidrat, lipit, vitamin ve mineraller gibi biyoaktif bileşenlerden oluşmaktadır (Singha ve ark., 2021). Bitki veya hayvan bazlı proteinlere kıyasla mikroorganizmaların avantajları şu şekilde sıralanabilir:

1. Yüksek verim ve zengin içerik: Mikroorganizmalar hızlı büyür, yüksek protein içerir ve daha fazla kükürtlü amino asit barındırır (Khoshnevisan ve ark., 2019; Rudravaram ve ark., 2009).
2. Atık bazlı üretim: Tarımsal, evsel ve endüstriyel atıklar substrat olarak kullanılabilir; arazi ve temiz su ihtiyacı yoktur (Pikaar ve ark., 2018).
3. Lojistik avantaj: Tarımsal ürünlerden farklı olarak sezonluk ve yerelleşmiş üretim riski taşımamakta, ön işleme ihtiyaç duymamaktadır (Coppola ve ark., 2021).
4. Düşük su gereksinimi: Mikroalg ve makroalg üretiminden farklı olarak büyük ölçekli su ihtiyacı bulunmaz (Singha ve ark., 2021).
5. Düşük çevresel etki: Geleneksel tarıma göre daha düşük karbon ayak izine sahiptir, yeraltı suyu ve toprak kirliliği yaratmaz (Matassa ve ark., 2015; Pikaar ve ark., 2018).
6. Karbon tutma özelliği: Mikrobiyal büyüme sırasında karbondioksit tüketildiği için karbon nötr sistemlere katkı sağlar (Crippa ve ark., 2019).

7. İklim bağımsız üretim: Her mevsim kontrollü koşullarda üretim yapılabilir (Nasseri ve ark., 2011).

Mikroorganizma temelli THP bazlı biyopolimerler; çevresel sürdürülebilirliğin sağlanması, çevresel tahribatın azaltılması ve ekonomik üretim avantajları açısından umut verici bir alternatif oluşturmaktadır. Biyomalzemelerin biyobozunur filmler, gıda ambalajları ve plastik alternatifleri gibi uygulamalarda kullanılabilirliği büyük ölçüde mekanik dayanım ve su emme kapasitesi gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır (Jerez ve ark., 2007). Bu bağlamda, bağıl nem düzeyi ve kullanılan plastikleştirici miktarı (örneğin gliserol) gibi değişkenler göz önünde bulundurulduğunda dahi, THP) temelli filmlerin su emme kapasitelerinin diğer protein bazlı filmlerle karşılaştırıldığında eşit ya da daha düşük olduğu bildirilmektedir (Singha ve ark., 2021). THP'nin biyomalzeme seçiminde öne çıkmasının bir diğer önemli nedeni ise, dünya nüfusunun yaklaşık %1'ini etkileyen çölyak hastalığıdır (Renzetti ve ark., 2012). Gluten içeren proteinlerden üretilen biyoplastiklerin gıda ile temas eden uygulamalarda kullanılması, sağlık açısından risk oluşturduğundan dolayı, glutensiz hammadde alternatiflerinin değerlendirilmesi gerekmektedir (Gómez-Heincke ve ark., 2016).

Bakteriyel THP üretimi sürecinde, yalnızca protein bazlı biyokütle değil; aynı zamanda polihidroksibütirat (PHB), polilaktik asit (PLA), ektoin, lipitler, EPS ve vitaminler gibi değerli ikincil ürünlerin de eşzamanlı olarak elde edilebildiği bildirilmektedir (Nasseri ve ark., 2011). Bu durum, THP üretim süreçlerini çevre dostu ve sürdürülebilir biyoplastik geliştirme stratejileriyle örtüşen döngüsel biyoekonomi paradigmasıyla bütünleşmiş hale getirmektedir (Karan ve ark., 2019; Kaur ve ark., 2018). Ancak çölyak riskiyle sınırlı kalmaksızın, THP'nin diğer biyogüvenlik parametreleri açısından da güvenliğinin sağlanması elzemdir. Bu bağlamda; toksin (endo/ekzo) üretimi, ağır metal birikimi veya zararlı metabolit oluşumu gibi unsurların bulunmaması büyük önem taşımaktadır (Bourdichon ve ark., 2012; Murali Sankar ve ark., 2023). Bu nedenle, biyoplastik üretiminde kullanılacak mikroorganizmaların biyogüvenli türler arasından seçilmesi gerekmektedir.

Laktik asit bakterileri (LAB), başlıca metabolit olarak laktik asit üreten, gram-pozitif, katalaz-negatif, sitokrom içermeyen, aerotolerant ve fermentatif mikroorganizmalardır (Liu ve ark., 2021; Plavec ve Berlec, 2020). LAB'lar yalnızca güvenli (GRAS) mikroorganizmalar olarak tanımlanmakla kalmamakta; aynı zamanda gıda güvenliği açısından önem taşıyan küf ve maya türlerinin gelişimini engelleyen organik asitler, H₂O₂, CO₂, siklik dipeptitler ve yağ asitleri gibi antimikrobiyal bileşenler

üretme kapasitesine de sahiptirler (Akpınar ve Kılıç, 2012). Bu nedenle, LAB'ların biyoplastik üretiminde kullanımı, biyogüvenlik avantajı sağlamanın yanı sıra fonksiyonel katkılar da sunmaktadır.

LAB ile ilişkili olarak öne çıkan polimerlerden biri olan polilaktik asit (PLA), laktik asidin polimerizasyonu ile üretilen biyobozunur bir polyesterdir (Zhang ve ark., 2016). 2019 yılı itibarıyla dünya biyoplastik üretiminin %13,9'unu PLA oluşturmaktadır (Simangunsong ve ark., 2018; Varghese ve ark., 2022). PLA üretiminde; mısır, odunsu biyokütle ve diğer tarımsal atıklar gibi biyolojik kaynaklar substrat olarak kullanılabilir. Ancak bu üretim modeli, tarımsal girdilere olan bağımlılığı ve lignoselülozik materyallerin ön arıtma gereksinimini artırmakta, dolayısıyla hem üretim maliyetini hem de ekosistem üzerindeki baskıyı artırmaktadır (Varghese ve ark., 2022). Ayrıca, PLA üretiminde kullanılan organik solventler hem ekonomik yük hem de kimyasal kirlilik riski taşımaktadır (Castro-Aguirre ve ark., 2016). Bu açıdan değerlendirildiğinde, LAB temelli THP kullanımı, hem biyogüvenlik açısından hem de çevresel sürdürülebilirlik açısından daha avantajlı ve ekonomik bir yaklaşım sunmaktadır.

Mikroorganizma üretiminde verimlilik ve ekonomik sürdürülebilirlik açısından en kritik bileşenlerden biri kullanılan substrattır. Pikaar ve ark. (2017), mikrobiyal THP dayalı biyoplastik üretiminde çeşitli atık bazlı substratların başarılı bir şekilde değerlendirilebileceğini bildirmiştir. Bu bağlamda, dünya çapında önemli bir gıda endüstrisi olan süt endüstrisi, yüksek hacimli yan ürünler üretmekte ve bu yan ürünler, katma değerli biyoürünlerin üretimi için potansiyel kaynaklar sunmaktadır (Talan ve ark., 2022).

Süt endüstrisinin başlıca yan ürünü olan PAS; laktoz, laktik asit, protein, yağ, çözünür vitaminler, mineraller ve diğer temel besin bileşenlerini içeren kompleks bir matrise sahiptir. OECD ve FAO verilerine göre yıllık küresel PAS üretimi yaklaşık 120 milyon ton düzeyindedir (Pescuma ve ark., 2015). Yüksek BOİ ve KOİ değerlerine sahip olması nedeniyle PAS'ın çevresel yönetimi kritik önemdedir. 2018 yılı itibarıyla PAS'ın yaklaşık %50'si kanalizasyon sistemine deşarj edilmekte ya da doğrudan hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Pescuma ve ark., 2015). Ancak PAS, içerdiği zengin besin profili sayesinde mikroorganizmaların büyümesi için uygun bir substrat olma potansiyeli taşımaktadır.

Revin ve ark. (2018), *Gluconobacter* B11267 suşu ile PAS'ı kullanarak bakteriyel selüloz üretiminde 5,45 g/L kuru ağırlık elde etmiş, bu değer Hestrin-Schramm ortamına kıyasla (2,14 g/L) oldukça yüksek olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde

Tsouko ve ark. (2015)'de PAS'ı farklı bakterilerle başarılı şekilde substrat olarak kullanmıştır. Alkan ve ark. (2019), *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus rhamnosus* suşlarıyla PAS kullanarak elde ettikleri biyosüpfaktant üretim sonuçlarının MRS ortamındaki verimle karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu bildirmiştir.

PAS'ın, özellikle LAB'lar aracılığıyla laktik asit üretimi için fermentasyon ortamı olarak kullanımına ilişkin çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Benaissa ve ark. (2017) *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus casei* ile PAS ortamına domates suyu ve maya ekstraktı ilave ederek MRS ile karşılaştırmalı deneyler yapmış ve benzer biyokütle verimleri elde etmiştir. Krischke ve ark. (1991), *L. casei* subsp. *casei* ile maya ekstraktı ve hidrolize PAS kullanılarak 0,92 g/g laktik asit dönüşüm oranı raporlamıştır. Aeschlimann ve Von Stockar (1990) ise, maya ekstraktı ilavesiyle *Lactobacillus helveticus* kullanarak bu değeri 0,34 g/g'den 0,92 g/g'e yükseltmiştir. Chiarini ve ark. (1992) pancar melası kullanımı ile benzer verim elde etmişlerdir. Ancak Guerra ve ark. (2001), *Lactococcus lactis* ile PAS ortamında 0,41 g/L biyokütle üretirken, MRS ortamında bu değerin 1,56 g/L'ye çıktığını raporlamıştır.

Ghasemi et al (2009), Macwan et al (2016), Rama et al (2019), Panesar et al (2010) ve Sharma et al (2021) gibi farklı araştırmacılar; *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus mesenteroides*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ve *L. plantarum* gibi LAB suşlarıyla PAS'ın hücre canlılığı, laktoz tüketimi, laktik asit üretimi, proteolitik aktivite ve amino asit salınımı gibi parametreler üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir. Ortaya çıkan genel eğilim, PAS'ın karbon ve peptit kaynağı olarak yeterli olmakla birlikte, ortamda ek azot kaynağına ihtiyaç duyulduğudur. Bu amaçla, Hayek ve ark. (2019), LAB büyümesini desteklemek için ortama mangan sülfat ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) ve magnezyum sülfat ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) gibi iz elementlerin dahil edilmesini önermektedir.

2.4. Antimikrobiyal Özellikli Biyoplastikler

Biyoplastiklerin üretimi kadar, bu malzemelerin işlevsel niteliklerle donatılması da son yıllarda araştırmacıların ilgisini çeken önemli konulardan biridir (Syafiq ve ark., 2020). Bu bağlamda, biyoplastiklere antimikrobiyal özellik kazandırılması yaygın bir strateji olup, özellikle gıda ambalaj uygulamalarında oldukça etkilidir. Esansiyel yağlar (EY), bu tür işlevselleştirmelerde en sık kullanılan doğal katkı maddeleri arasında yer almakta ve gıdaların raf ömrünü uzatma potansiyelleriyle dikkat çekmektedir (Klinmalai ve ark., 2021; Syafiq ve ark., 2020). Bitkilerden elde edilen bu uçucu bileşikler,

bakteriyel, fungal ve maya kaynaklı kontaminasyonlara karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal etki göstermektedir (Campos-Requena ve ark., 2017, 2018; Suppakul ve ark., 2003).

Ayrıca EY'ler; kozmetik, farmasötik ve gıda endüstrilerinde doğal ve güvenli antimikrobiyal ajanlar olarak da önerilmektedir (Cruz-Tirado ve ark., 2020; Feyaerts ve ark., 2020; Klimek-Szczykutowicz ve ark., 2020; Taban ve ark., 2020). Elektron mikroskobu kullanılarak yapılan çalışmalarda, örneğin *Escherichia coli* hücrelerinde, EY'lerin hücresel yapıları bozarak sitoplazmik bileşenlerde pıhtılaşmaya neden olduğu gösterilmiştir (Cox ve ark., 2000; Song ve ark., 2018). Geleneksel plastiklerle karşılaştırıldığında biyopolimerlerin; kırılkan yapı, düşük mekanik mukavemet, yüksek gaz geçirgenliği ve düşük su bariyeri gibi dezavantajlara sahip olduğu bilinmektedir (dos Santos Caetano ve ark., 2018). Ancak, bocaiuva unu ve karanfil yağı içeren biyopolimer filmler üzerine yapılan çalışmalarda, EY ilavesiyle kopma uzaması gibi fiziksel özelliklerin geliştirilebildiği tespit edilmiştir (da Silva ve ark., 2020).

Klinmalai ve ark. (2021), PLA ve PBAT temelli polimerlere %30–70 oranında karvakrol ilavesiyle gerçekleştirdikleri çalışmalarında, karvakrolün yalnızca antimikrobiyal etki değil aynı zamanda plastikleştirici ve mekanik iyileştirici etkiler de sunduğunu raporlamışlardır. Bu çalışmalarda, polimer–EY kombinasyonlarının mantar gelişimini geciktirdiği ve gıdaların raf ömrünü 2,0–2,3 kat artırdığı gösterilmiştir. Benzer şekilde, nişasta bazlı biyoplastiklerin EY takviyesiyle stabilite ve fonksiyonelliklerinin korunduğu da çok sayıda çalışmada rapor edilmiştir (de Barros Fernandes ve ark., 2014; do Evangelho ve ark., 2019; dos Santos Caetano ve ark., 2018; Ghasemlou ve ark., 2013; Liang ve ark., 2012; Oriani ve ark., 2014; Sari ve ark., 2020; Varona ve ark., 2011). Bununla birlikte, EY'lerin antimikrobiyal etkinliği hem kullanılan EY türüne hem de biyopolimerin kimyasal yapısına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Syafiq ve ark., 2020).

Nişasta bazlı biyoplastiklere EY ilavesiyle antimikrobiyal özellik kazandırılması üzerine yapılan çalışmalar giderek artmaktadır. Syafiq ve ark. (2020), bu çalışmaları gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ve gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* bazında inhibisyon zonu ölçümlerine göre sınıflandırmıştır. Bu çalışmalar, *Citrus* × limon, *Mentha pulegium*, *Cinnamomum L.*, *Lavandula*, *Lippia graveolens HBK*, *Origanum vulgare*, *Oleum Azadirachta indica*, *Melissa officinalis*, *Melaleuca alternifolia*, *Lavandula angustifolia*, *Curcuma longa*, *Ziziphora clinopodioides*, *Vitis vinifera* ve *Zataria multiflora Boiss* gibi birçok bitki türünden elde edilen uçucu yağların,

geniş mikrobiyal ve fungal spektruma karşı etkili antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Syafiq ve ark., 2020).

Bu bağlamda, *Lamiaceae* familyasına ait aromatik bir bitki olan *Satureja hortensis* (SH), hem baharat hem de doğal gıda koruyucu olarak uzun süredir kullanılmakta olup, ekstraktlarının ve uçucu yağlarının güçlü antioksidan, antibakteriyel ve antifungal özellikler taşıdığı bildirilmektedir (Seyedtaghiya ve ark., 2021). Alan ve ark., (2016), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşlarına karşı SH-EY'nin en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ve 60 µL konsantrasyonunda 27 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğunu raporlamışlardır. Aynı çalışmada, SH-EY'nin *S. cerevisiae* üzerinde 20 mm çapında inhibisyon oluşturarak en güçlü antifungal etkiyi sağladığı belirtilmiştir.

Dönmez ve ark. (2022) farklı *Satureja* türlerinin (*Satureja cuneifolia*, *Satureja spicigera*, *Satureja thymbra*, *Satureja hortensis*, *Satureja cilicica*) EY'lerinin, fasulye bitkilerinde yaygın yaprak yanıklığına neden olan *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* ve *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans* suşlarına karşı in vitro antimikrobiyal etkinliklerini değerlendirmiştir. SH-EY, bu çalışmada 43,16 mm ile en geniş inhibisyon zonunu oluşturmuştur.

SH-EY'nin kimyasal bileşimi üzerine yapılan analizlerde ana bileşenlerin timol (%41,28), γ-terpinen (%37,63), p-simen (%12,2) ve α-terpinen (%3,52) olduğu ortaya konmuştur. Aynı çalışmada, SH-EY'nin *E. coli* O78:K80 ve *Salmonella enteritidis* ATCC13076 suşlarına karşı sırasıyla 32 ± 3 mm ve 38 ± 4 mm çapında inhibisyon zonları oluşturduğu ve *E. coli*'de biyofilm oluşumunu anlamlı düzeyde engellediği belirtilmiştir (Seyedtaghiya ve ark., 2021).

Shojaee-Aliabadi ve arkadaşları (2013), SH-EY ile formüle edilmiş biyolojik olarak parçalanabilir kappa-karragenan bazlı filmleri optik, mekanik, bariyer ve antioksidan özellikler açısından değerlendirmiştir. Ayrıca bu filmlerin *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *E. coli*, *S. Typhimurium* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. SH-EY katkısı ile hazırlanan filmler su buharı bariyerinde anlamlı artış göstermiş, esneklik ve apaklık kazanırken, kırılma dayanımı azalmıştır. %3 SH-EY içeren filmlerin, doğrudan temas yoluyla bu bakterilere karşı sırasıyla 20 mm, 14,8 mm, 18,08 mm, 12,76 mm ve 11,84 mm çaplarında inhibisyon zonu oluşturduğu; buhar difüzyon yöntemiyle ise 19 mm, 12 mm, 16 mm, 11 mm ve 7,95 mm inhibisyon bölgeleri sağladığı rapor edilmiştir.

SH-EY'nin doğrudan mikrobiyal inhibisyona dair etkileri literatürde geniş yer bulmuş olmakla birlikte, SH-EY katkılı biyoplastiklerin hem antimikrobiyal etkinliği hem de mekanik özelliklerine etkileri üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu alandaki bilgi eksikliği, SH-EY temelli biyoplastiklerin potansiyelini tam anlamıyla ortaya koyabilmek için ileri araştırmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. EPS Çalışmaları

3.1.1. LAB Suşlarında EPS üretimi ve optimizasyonu

LAB EPS üretimi için MAUN Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan ve daha önceki çalışmalarda gıda kaynaklı ürünlerden (Muş Kaşarı, anne sütü, manda sütü, eşek sütü, ev yapımı fermente sucuk gibi) izole edilmiş ve bazı probiyotik özellikleri araştırılmış olan *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus sakei*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis cremoris*, *Lactococcus lactis*, *Weissella confusa*, *Lactobacillus plantarum* suşları kullanılmıştır (Onur ve Önlü, 2021, 2024). Üretim öncesinde bu suşlar öncelikle aktivasyon işlemine tabi tutulmuştur. Aktivasyon amacıyla, her bir donmuş stok kültürden aseptik koşullar altında steril bir öze yardımıyla örnek alınarak, 10 mL MRS (De Man, Rogosa and Sharpe, Biolife, İtalya) besiyerine inoküle edilmiş ve 37 °C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir (WiseCube WIG 105, Güney Kore). Bu işlemle birlikte bakterilerin canlılık kazanması ve logaritmik faza geçişi sağlanmıştır. Aktivasyon sonrasında, elde edilen kültürden 1 mL alınarak taze MRS ortamına 1:100 oranında transfer edilmiş ve ikinci bir geçiş inkübasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu ardışık geçiş, suşların metabolik aktivitesini artırmak ve olası stres yanıtlarını en aza indirmek amacıyla uygulanmıştır.

İnkübasyonun ardından, her bir aktif kültürden alınan 1 mL örnek, seri dilüsyon yöntemi kullanılarak steril peptonlu su (%0.1 pepton Merck, Almanya) içerisinde 10^{-1} 'den 10^{-7} 'ye kadar seyreltilmiştir. Her bir dilüsyondan 100 µL'lik hacim, MRS içeren steril petri kutularına yüzey yayma yöntemiyle ekilmiş ve plaklar 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, üzerinde 30–300 koloni oluşan petri kutuları seçilerek koloni oluşturan birim sayısı (KOB/mL) hesaplanmıştır. Bu değerlere göre başlangıç kültürleri uygun hacimlerde seyreltilmiş ve her suş için canlı hücre konsantrasyonu yaklaşık 10^8 KOB/mL olacak şekilde standardize edilmiştir. Bu sayede deneysel çalışmalarda tüm suşların eşit başlangıç yoğunluğuna sahip olması sağlanmış ve karşılaştırmalı değerlendirmelerin biyolojik geçerliliği güvence altına alınmıştır.

Azot kaynağı taramasında MRS'nin baz kompozisyonu korunmuş, ilave azot kaynağı olarak pepton, yeast ekstrakt ve beef ekstrakt ayrı deney kollarında %2 (w/v) düzeyinde denenmiştir. Başlangıç pH'sı 6,7'ye ayarlanmış erlenlerde 37 °C'de 24 saat süre yürütülen fermentasyonlar sonunda hücreler uzaklaştırılarak süpernatantlar EPS

verimi açısından değerlendirilmiştir. Bu ilk taramada yeast ekstrakt, suşların çoğunda anlamlı düzeyde daha yüksek EPS vermiş; bunun üzerine yeast ekstrakt için %1, %2, %3 ve %5 (w/v) konsantrasyon gradyanı test edilmiştir (Jurášková ve ark., 2022; Sørensen ve ark., 2022a; Yadav ve ark., 2024).

Karbon kaynağı taraması yeast ekstrakt için en iyi konsantrasyon sabitlenerek yürütülmüştür. Sükroz, laktoz, glikoz ve fruktoz, her biri %5 (w/v) düzeyinde denenmiş; 37 °C ve 24 saat inkübasyon koşullarında en yüksek verim sükrozda gözlenmiştir. Ardından sükroz için %5, %10, %15 ve %20 (w/v) gradyanı çalışılmış; yüksek sükroz derişimlerinde ortam viskozitesi ve ozmotik baskının kütle transferini sınırlama ihtimali izlenmiş, pH düşüş profilleri kayda geçirilmiştir (Fuso ve ark., 2023; Nguyen ve ark., 2020; Sørensen ve ark., 2022b).

Proses optimizasyonunda azot ve karbon için belirlenen en iyi koşullar sabit tutularak başlangıç pH (5,5; 6,0; 6,5; 7,0), sıcaklık (25 °C; 30 °C; 37 °C) ve inkübasyon süresi (24; 36; 48; 72 saat) ardışık tek-değişken yaklaşımıyla taranmıştır. Tüm koşullarda birincil yanıt EPS verimi (g/L); ikincil yanıtlar reolojik gözlemler ve kurutulmuş polimerin işlenebilirliği olmuştur (Yadav ve ark., 2024; Jurášková ve ark., 2022).

3.1.2. EPS ekstraksiyonu ve kurutma

Fermentasyon sonunda kültürler 4 °C’de yüksek hızda santrifüj (Nüve 800r, Belçika) edilerek hücresiz süpernatant elde edilmiş ve EPS ilk olarak etanol ile çöktürülmüştür. Bu amaçla süpernatant üzerine buz banyosunda ve sürekli nazik çalkalama altında hacmin 2,5–3 katı soğuk mutlak etanol damla damla eklenmiş; karışım 4 °C’de 24 saat boyunca orbital çalkalayıcıda tutulmuştur. Etanol varlığında polimer–çözücü etkileşimlerinin zayıflamasıyla EPS agregasyonu sağlanmış, ardından 4 °C’de santrifüjle yarı saydam-beyaz pelet toplanmıştır. Elde edilen çökelti minimal hacimde soğuk saf suda çözündürülmüş ve ko-çökelmiş olabilecek protein safsızlıklarını uzaklaştırmak üzere trikloroasetik asit (TCA) ile deproteinizasyon yapılmıştır. TCA ilavesi buz üzerinde yavaşça gerçekleştirilmiş, 4 °C’de bekleme ve santrifüj sonrasında protein fraksiyonu çöktürülmüştür. TCA işlenmiş üst faz, asit kalıntıları ve lipofilik safsızlıkları azaltmak amacıyla soğuk dietil eterle yıkanmış, bu noktada DNA giderimi uygulanmamıştır. Sonrasında EPS fraksiyonları önceden tartılmış kapsüllere alınarak 37 °C’de inkübatörde sabit kütleye ulaşınca kadar kurutulmuştur (Yadav ve ark., 2024; Jurášková ve ark., 2022; Sørensen ve ark., 2022).

Azot ve karbon taramalarında tek yönlü ANOVA, konsantrasyon gradyanlarında tek faktörlü ANOVA ve Tukey HSD, proses optimizasyonunda ise ardışık tek-değişken stratejisi kullanılmış; anlamlılık düzeyi $\alpha = 0,05$ olarak alınmıştır. Optimum koşullar, EPS verimi yüksek, kurutma ve yeniden çözündürme kolaylığı iyi ve proses ölçeklenebilirliği elverişli olan kombinasyonlar arasından seçilmiştir (Nguyen ve ark., 2020; Sørensen ve ark., 2022a).

3.2. THP Çalışmaları

3.2.1. LAB suşlarının peyniraltı suyunda THP üretim oranlarının tespiti

LAB THP üretimi için EPS çalışmasında kullanılan suşlar değerlendirilmiştir. Ayrıca aktivasyon çalışmaları EPS çalışmasında olduğu gibi yürütülmüştür.

Bu çalışmada kullanılan LAB suşları, 90 mL hacminde PAS içeren steril 100 mL'lik cam şişelerde aerobik koşullar altında kültürlenmiştir. PAS, yerel bir peynir üreticisinden (Muş, Türkiye) temin edilmiştir. Temin edilen PAS, peynir üretimi sonrasında lor üretimi amacıyla ısıtılma tabi tutulmuş durumdadır. PAS, kullanılmadan önce 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavlanmış, ardından 4 °C'de ön soğutulmuş ve 6500 × g'de 10 dakika boyunca santrifüj edilerek içerisinde bulunan kaba partiküller ve tortular uzaklaştırılmıştır. Elde edilen süpernatant, pH 6.7'ye ayarlanmak üzere 5N NaOH çözeltisi ile nötralize edilmiştir. pH ayarının ardından ikinci kez 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavlanarak mikrobiyal kontaminasyona karşı güvenli ve rafine bir besiyeri elde edilmiştir (Alkan ve ark., 2019). Bu hazırlanan PAS ortamına daha önceden 10⁸ KOB/mL'ye ayarlanmış bakteri kültürleri inoküle edilmiştir. Tüm suşlar, 37 °C'de 24 saat boyunca sabit sıcaklıkta inkübe edilerek büyümeleri sağlanmıştır (Zhang ve ark., 2016). İnkübasyon süresi sonunda, gelişmiş kültürler 4 °C'de 20 dakika süreyle 5000 rpm'de santrifüjlenerek THP elde edilmiştir. Elde edilen peletler, hücre dışı safsızlıkların uzaklaştırılması amacıyla hacminin üç katı kadar %0.9'luk steril NaCl çözeltisi ile süspanse edilmiş ve bu süspansiyon tekrar 4 °C'de 20 dakika boyunca 5000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Bu yıkama işlemi bir kez daha tekrarlanarak daha saf bir hücre biyokütlesi elde edilmiştir. Nihai olarak elde edilen hücre pelletleri oda sıcaklığında steril koşullar altında kurutulmuş ve ileri analizler için kullanılmak üzere saklanmıştır (Kunasundari ve ark., 2013). Elde edilen kuru hücre biyokütlesinde (THP) temel makro bileşen analizleri gerçekleştirilmiştir. Protein içeriği, toplam azotun 6.25 ile çarpılması esasına dayanan klasik Kjeldahl yöntemi ile hizmet alımı yoluyla belirlenmiştir (Horwitz,

1975; ISO 1871, 2009). Yağ içeriği, gravimetrik yöntem esas alınarak belirlenmiş (ISO 1443, 1973), toplam karbonhidrat miktarı ise fenol-sülfürik asit yöntemi kullanılarak glikoz eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır (DuBois ve ark., 1956).

3.2.2. THP üretim optimizasyonu

PAS, içerdiği proteinler sayesinde LAB'lar için kısmen yeterli bir azot kaynağı olarak değerlendirilse de, pek çok LAB türü optimum büyüme ve metabolik aktivite için dışsal azot takviyelerine ihtiyaç duymaktadırlar (Benaissa ve ark., 2017). Bu doğrultuda, PAS ortamında LAB üretim verimliliğini artırmak amacıyla, etkili azot kaynağının seçimine yönelik olarak yerel satıcılardan temin edilmiş, son kullanma tarihi geçmiş atık durumundaki kırmızı mercimek, yeşil mercimek ve nohut unlarından bitkisel ekstraktlar elde edilmiştir. Azot ekstraktları, Aydemir ve ark. (2014) tarafından önerilen yöntemle uygun olarak hazırlanmıştır. Bu kapsamda, 500 mg nohut unu 5 mL deiyonize su içinde 25 °C'de orbital çalkalayıcıda 18–20 saat boyunca karıştırılmıştır. Elde edilen süspansiyon 5000 rpm'de, 25 °C'de 30 dakika santrifüjlenmiş ve berrak süpernatant etüvde 24 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutulan ekstraktlar kazınarak havanda öğütülmüş ve 150 mikron eleklerden geçirilerek standart hale getirilmiştir.

Çalışmanın bu adımında LAB-THP üretim oranına göre *L. garvieae* seçilmiştir. THP içeriğinde protein üretiminin artırılmasına yönelik olarak PAS, %1 (w/w) oranında farklı azot kaynakları (kırmızı mercimek unu, yeşil mercimek unu, nohut unu) ile desteklenmiştir. Hazırlanan ortama daha önceden 10^8 KOB/mL'ye ayarlanmış bakteri kültürü inoküle edilmiş ve 37 °C'de 24 saat boyunca sabit sıcaklıkta inkübe edilerek büyümeleri sağlanmıştır. Çalışmalar sonucunda nohut ekstraktı en yüksek verimi sağlamış ve bu ekstraktın etkili konsantrasyonunun tespiti için %1, 1,5, 2 ve 3 oranları ile çalışma sürdürülmüştür.

Karbon kaynaklarının etkisinin tespit edilmesi için en uygun nohut ekstraktı konsantrasyonu ile desteklenmiş PAS ortamı %5 oranında farklı karbon (glikoz, fruktoz, sükroz ve laktoz) kaynakları ile hazırlanmıştır. İnkübasyon şartları (10^8 KOB/mL, 37 °C, 24 saat) sabit tutulmuştur. En uygun karbon kaynağı olarak sükrozun tespitinden sonra sükroz konsantrasyonları %10, %15, %20 (w/w) oranlarında azot kaynağı ile desteklenmiş PAS ortamına ilave edilerek çalışmalar sürdürülmüştür. Daha sonra fermentasyon sırasıyla azot ve karbon kaynağı ile desteklenmiş PAS ortamında farklı sıcaklık (30, 37, 40 veya 42°C), pH (5, 6, 7 (kontrol) ve 8) ve inkübasyon koşullarında (24, 36, 48 ve 72 saat) THP üretimi gerçekleştirilmiştir (Hussein ve ark., 2015).

3.3 LAB EPS ve THP Temelli Biyoplastik Üretimi

LAB-THP ve LAB-EPS kullanılarak biyoplastik üretimi için Marichelval ve diğerleri (2019) tarafından önerilen mısır ve pirinç nişastası temelli biyoplastik üretimindeki nişasta, THP ve EPS ile ikame edilmiştir. Burada önerilen nişasta, gliserol, sitrik asit, jelatin için (X:3:1:2 – w/w) oranları kullanılmıştır. Çalışmada THP ve EPS oranının etkisinin tespiti için literatürde ifade edildiği gibi gliserol, sitrik asit ve jelatin 3:1:2 oranında sabit tutularak THP ve EPS miktarı (ağırlıkça %5, 7,5 ve 10, 12,5) değiştirilmiştir. Karışım 100 mL distile suya tamamlanmış (Marichelvam ve ark., 2019) 180 rpm'de 10 dakika karıştırılmış daha sonra karışım 70 °C'de ısıtıcı plaka (Velp Scientifica Are, İtalya) üzerinde ısıtılarak plastikleşme gerçekleşene kadar manuel karıştırma yapılmıştır (Muscat ve ark., 2012; Souza ve ark., 2013). Homojenizasyon probleminin bertaraf edilmesi için biyoplastikler kalıba alınmadan önce 15 dakika ultrasonik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra teflon kaplı kalıp üzerine karışım düzgün biçimde dökülerek 3-4 gün oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

Biyoplastikler için en önemli analiz serisi olan mekanik testler ASTM D882 (1mm altında kalınlığa sahip malzemeler) standartlarına göre yürütülmüştür (ASTM, 2018).

Çekme testi, Testometric Machine kullanılarak hizmet alımı yolu ile gerçekleştirilmiştir. Numuneler oda sıcaklığında saklanarak testler aynı sıcaklık ve nem koşullarında gerçekleştirilmiştir (Marichelvam ve ark., 2019).

Nem içeriği testi, filmlerin ağırlık kaybı ölçülerek hesaplanmıştır. Yaş ağırlıkları belirlenen biyoplastikler, sabit bir kuru ağırlık elde edilene kadar 110 °C'de etüvde kurutulduktan sonra tekrar tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir (Marichelvam ve ark., 2019). Nem içerikleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Nem İçeriği (\%)} = [(W_i - W_f) / W_i] \times 100 \quad (1)$$

W_i : başlangıçtaki ağırlık

W_f : son ağırlıktır.

Suda çözünürlük testi için film numuneleri 2.0 cm²'lik kesitler halinde kesilerek kuru film kütlesi ölçülmüştür. Numuneler 100 mL distile suya daldırılarak 25 °C'de 6 saat boyunca 180 rpm'de sabit çalkalama yapılmıştır (Ghasemlou ve ark., 2013). Filmin kalan kısımları 6 saat sonra süzülecek ve nihai bir sabit ağırlık bulunana kadar 110°C'de etüvde kurutulmuştur (Gaspar ve ark., 2005). Toplam çözünür madde yüzdesi (% çözünürlük) denklem (2)'ye göre hesaplanacaktır:

$$\text{WS (\%)} = [(W_0 - W_f) / W_0] \times 100, \quad (2)$$

burada WS suda çözünürlüktür; W₀, biyoplastiklerin başlangıç ağırlığı ve W_f, biyoplastiklerin nihai ağırlığıdır.

Biyobozunurluk testi için büyük ebatta hazırlanan plastik numunesi 4.0 cm²'lik parçalar halinde kesilerek bitki köklerinin yakınından alınan hafif nemli 500 gr toprak numunesinde oda koşullarında 60 gün boyunca 2 ve 3 cm derinlikte bekletilmiştir. Bekleme süresinin 15., 30. Ve 60 günlerinde numuneler alınarak biyobozunurluk hesaplamaları denklem 3'e göre yapılmıştır.

$$\text{Kilo Kaybı (\%)} = [(W_0 - W)/W_0] \times 100, \quad (3)$$

W₀ ve W, numunelerin testten önceki ve sonraki ağırlıklarıdır (Marichelvam ve ark., 2019).

Filmlerin yüzey ve kesit mikro yapıları sırasıyla 100x, 250x, 500x ve 1000x büyütmelemlerle hizmet alımı yoluyla taramalı elektron mikroskobu (FESEM, Zeiss Gemini 500, Almanya) kullanılarak değerlendirilmiştir. Altın kaplama işlemleri hizmet alımının gerçekleştirildiği (Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi) SEM numune hazırlama laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Marichelvam ve ark., 2019).

Termal kararlılığın tespiti optimum numunede termogravimetrik analiz cihazı (Perkin Elmer, Diamond, Amerika) ile hizmet alımı (Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi) yoluyla yapılmıştır.

3.3. Antimikrobiyal Biyoplastik Üretimi

Optimum oranları "LAB THP Temelli Biyoplastik Karakterizasyonu" aşamasında tespit edilmiş %12.5 oranında LAB-THP; Gliserol; Jelatin karışımına Prof. Dr. Sedat BOZARI'dan temin edilen SH-EY farklı oranlarda (ağırlıkça %1, 2, 3) ilave edilerek antimikrobiyal özellikli biyoplastik üretilmiştir (Bozari ve ark., 2017). SH-EY matrisine ilave edilmeden önce homojen dispersiyon için SH-EY, Tween 80 ile 1:1 (w/w) oranda ön-emülsifiye edilmiş, böylece Tween 80 miktarı SH-EY'ye sabit oranda bağlanmıştır. Antimikrobiyal özellik belirleme testlerinde negatif kontrol olarak %12.5 LAB THP temelli biyoplastikler kullanılmıştır.

Hazırlanan aktif biyoplastiklerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için literatürde biyoplastik testlerinde yaygın olarak kullanılan Kirby-Bauer testi uygulanmıştır (Bauer ve ark., 1966). Bu amaç için patojen olarak seçilen 2×10^8 KOB/ml standardize edilmiş Jenerik *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. Typhimurium* uygun katı besiyerlerine (Tryptik Soy Agar, Merck, Almanya) yayma ekim yöntemi ile inoküle edilmiş ve 1 cm²'lik LAB THP temelli biyoplastik parçalar steril pens

yardımı ile petrilere yerleştirilmiştir. 24 saat 37°C’de inkübasyonun ardından zon oluşumu gözlenmiş ve sonuçlar inhibisyon zonlarının çapı (numune etrafındaki berrak hale) milimetre (mm) cinsinden ölçülerek değerlendirilmiştir (Gómez-Heincke ve ark., 2016). Daha sonra biyoplastik kültür ortamından ayrılmış olarak Petri kabı kapağının iç kısmına yerleştirilerek buharlaşma yoluyla antimikrobiyal etkinlik test edilmiştir (Gómez-Heincke ve ark., 2016). Deneylerde kullanılan bakteri türleri *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. Typhimurium* olup, her biri yaklaşık 2×10^8 KOB/mL başlangıç konsantrasyonuna ayarlanmıştır. Her bakteri türü için 3 kontrol örneği (biyoplastik içermeyen) ve her EY konsantrasyonu (%1, %2 ve %3) için 3’er deneysel tekrar olmak üzere toplamda 12 tekrar yapılmıştır. Uçucu bileşiklerin etkisini test etmek amacıyla, her Petri kabının kapağına 1 cm² biyoplastik film yerleştirilmiş ve kapaklar kapatılmıştır. Petri kapları 24 saat boyunca 37°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından her Petri kabının yüzeyi 2 mL steril %0.1 pepton suyu ile nazıkçe kazınarak süspansiyon haline getirilmiştir. Bu süspansiyondan 1 mL alınarak ardışık olarak 6 tüpte seri 1:10 dilüsyon yapılmıştır. Altıncı tüpten (10^{-6} seyreltme) 100 µL alınarak steril besiyeri içeren 3 farklı petri kabına (kontroller dahil 36 adet) yüzey ekimi yapılmış ve koloniler 24 saatlik inkübasyon sonunda sayılmıştır. Her bir koşul için koloni sayılarının ortalaması alınarak antimikrobiyal etkinlik belirlenmiştir.

Veriler, tekrarların ortalama $\pm$ standart sapması (SD) ile sunulmuştur. Son olarak üretilen antimikrobiyal biyoplastik için; SH-EY’nin biyoplastik yapısına etkilerinin tespitine yönelik “Biyoplastik Karakterizasyonu” aşamasında belirtilen karakterizasyon çalışmaları uygulanmıştır.

3.4. Kimyasal Analizler

PAS ve THP karakterizasyonu için yapılan kimyasal analizlerde literatürde kullanılan standart yöntemler dikkate alınmış, analizler üç tekrarlı olarak yapılarak ortalama değerler raporlanmıştır.

KOİ analizi, numunelerdeki oksitlenebilir organik madde miktarını belirlemek için kullanılmıştır. Analizlerde ticari dichromate KOİ kiti (Matriks 1.199.15000 KOİ Test Kiti 0-15000 mg/L) kullanılmıştır. Yöntemin prensibi, potasyum dikromat ile sülfürik asit varlığında organik maddelerin oksitlenmesine dayanmaktadır. KOİ testine 2 ml numune ilave edilerek 150 °C’de 2 saat reaksiyon gerçekleştirilmiş, kitlerin soğutulması sonrasında Matriks fotometrede doğrudan mg/L cinsinden KOİ ölçümü yapılmıştır (ISO, 2002).

Toplam azot ve ham protein içerikleri, hizmet alımı yoluyla (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilim Uygulama ve Araştırma Merkezi) Kjeldahl metodu kullanılarak analiz edilmiştir (ISO, 2009). PAS numunelerindeki toplam fosfor, nem oranı ve kül içeriği atıksulara dair standart metodlarla belirlenmiştir (Bridgewater, 2017).

Toplam karbonhidrat miktarı fenol-sülfürik asit yöntemi ile belirlenmiştir. Bu kolorimetrik yöntemde, numunedeki karbonhidratlar sülfürik asit varlığında ısı etkisiyle furfural türevlerine dönüştürülmüş, oluşan bileşikler fenol ile reaksiyona girerek sarı-turuncu renkli bir kompleks oluşturmuştur. Renk yoğunluğu, karbonhidrat konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak 490 nm dalga boyunda spektrofotometrik (Agilent Cary 60 UV-Vis) olarak ölçülmüş ve standart glikoz eğrisi kullanılarak toplam karbonhidrat miktarı hesaplanmıştır (Nielsen, 2010).

THP ve PAS örneklerindeki yağ miktarı, klasik soxhlet yöntemiyle belirlenmiştir (Min ve Steenson, 1998). Numuneler tamamen kurutulduktan sonra öğütülerek yüzey alanı artırılmıştır ve selüloz kapsüller içine yerleştirilmiştir. Soxhlet düzeneğinde uygun n-heksan kullanılarak 6 saat boyunca sürekli ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon tamamlandığında çözücü rota evaporatörde uzaklaştırılmış, geri kalan yağ kurutulup tartılmıştır.

3.5. İstatistiksel Analizler

Tüm deneysel veriler üç tekerrür (n=3) üzerinden elde edilmiş ve ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir. Elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek amacıyla ANOVA uygulanmıştır. Gruplar arası farkların hangi düzeyde anlamlı olduğunu tespit etmek için Tukey'nin Dürüstçe Önemli Fark (Tukey HSD – Honestly Significant Difference) testi kullanılmıştır. Tüm analizlerde anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel hesaplamalar IBM SPSS Statistics (v25.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

4.1 EPS Üretimi, Optimizasyonu ve Biyoplastik Üretimi

4.1.1 EPS üretimi için uygun suş seçimi

Biyoplastik üretimi için suşların EPS üretim potansiyeli araştırılmıştır. EPS üretimi kullanılan LAB suşunun genetik ve metabolik kapasitesine bağlı olarak önemli farklılıklar gösterebilmektedir. Bu nedenle, çalışmada farklı LAB türleri değerlendirilmiş ve EPS sentezi açısından en yüksek verim sağlayan suşların belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalara dair sonuçlar Çizelge 4.1 sunulmuştur.

Çizelge 4. 1 Farklı LAB Suşlarında EPS Üretim Miktarları

Bakteri	EPS (mg/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD
<i>L. sakei</i>	376,0	382,0	374,0	377,40 $\pm$ 4,20
<i>L. garvieae</i>	406,0	446,0	398,0	416,60 $\pm$ 24,80
<i>L. lactis cremoris</i>	696,0	608,0	652,0	652,00 $\pm$ 44,00
<i>E. faecium</i>	266,0	258,0	268,0	264,00 $\pm$ 5,20
<i>W. confusa</i>	486,0	504,0	456,0	482,00 $\pm$ 25,40
<i>L. lactis</i>	392,0	378,0	402,0	390,60 $\pm$ 12,20
<i>L. plantarum</i>	536,0	496,0	528,0	520,00 $\pm$ 20,60

Çizelge 4.1’de elde edilen ortalama EPS üretim miktarlarının karşılaştırmalı olarak istatistiksel anlamlılığını ortaya koymak amacıyla ise Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulanmış ve sonuçlar Çizelge 4.2’de sunulmuştur.”

Çizelge 4. 2 Farklı LAB suşlarının EPS üretim miktarları için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
<i>E. faecium</i>	<i>L. garvieae</i>	152.67	0.0000	87.50	217.83
<i>E. faecium</i>	<i>L. lactis</i>	126.67	0.0002	61.50	191.83
<i>E. faecium</i>	<i>L. lactis cremoris</i>	388.00	0.0000	322.84	453.16
<i>E. faecium</i>	<i>L. plantarum</i>	256.00	0.0000	190.84	321.16
<i>E. faecium</i>	<i>L. sakei</i>	113.33	0.0006	48.17	178.50
<i>E. faecium</i>	<i>W. confusa</i>	218.00	0.0000	152.84	283.16
<i>L. garvieae</i>	<i>L. lactis</i>	-26.00	0.8120	-91.16	39.16
<i>L. garvieae</i>	<i>L. lactis cremoris</i>	235.33	0.0000	170.17	300.50
<i>L. garvieae</i>	<i>L. plantarum</i>	103.33	0.0014	38.17	168.50
<i>L. garvieae</i>	<i>L. sakei</i>	-39.33	0.4227	-104.50	25.83
<i>L. garvieae</i>	<i>W. confusa</i>	65.33	0.0492	0.17	130.50
<i>L. lactis</i>	<i>L. lactis cremoris</i>	261.33	0.0000	196.17	326.50
<i>L. lactis</i>	<i>L. plantarum</i>	129.33	0.0001	64.17	194.50
<i>L. lactis</i>	<i>L. sakei</i>	-13.33	0.9905	-78.50	51.83
<i>L. lactis</i>	<i>W. confusa</i>	91.33	0.0042	26.17	156.50
<i>L. lactis cremoris</i>	<i>L. plantarum</i>	-132.00	0.0001	-197.16	-66.84
<i>L. lactis cremoris</i>	<i>L. sakei</i>	-274.67	0.0000	-339.83	-209.50
<i>L. lactis cremoris</i>	<i>W. confusa</i>	-170.00	0.0000	-235.16	-104.84
<i>L. plantarum</i>	<i>L. sakei</i>	-142.67	0.0000	-207.83	-77.50
<i>L. plantarum</i>	<i>W. confusa</i>	-38.00	0.4600	-103.16	27.16
<i>L. sakei</i>	<i>W. confusa</i>	104.67	0.0012	39.50	169.83

Bu çalışmada elde edilen verilerde en yüksek üretim *L. lactis cremoris* ($652,00 \pm 44,00$ mg/L), ardından sırasıyla *L. plantarum* ($520,00 \pm 20,60$ mg/L) ve *W. confusa* ($482,00 \pm 25,40$ mg/L) olarak belirlenmiştir. En düşük üretim ise *E. faecium*'da ($264,00 \pm 5,20$ mg/L) saptanmıştır. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) gruplar arasındaki farklılıkların oldukça anlamlı olduğunu göstermiştir ($F = 83,21$, $p < 0,0001$). Tukey testi sonuçlarına göre *L. lactis cremoris* diğer tüm suşlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek üretim göstermiş, *L. plantarum* ve *W. confusa* da *L. sakei*, *L. lactis* ve *L. garvieae*'ye kıyasla üstün bulunmuştur. *L. plantarum* ile *W. confusa* arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).

Literatürde *L. lactis cremoris* suşlarının genellikle 25–600 mg/L aralığında EPS ürettiği, glikoz zenginleştirilmiş ortamlarda ise 956 mg/L seviyelerine ulaşılabilirdiği bildirilmektedir (Imran ve ark., 2016; Ruas-Madiedo ve De Los Reyes-Gavilán, 2005). Bu bağlamda, çalışmamızda ölçülen değerlerin üst sınırla uyumlu ve yüksek üretim potansiyelini yansıttığı söylenebilir. *L. plantarum* için yapılan çalışmalarda optimizasyon yapılmadığı koşullarda yüzlerce mg/L düzeylerinde üretim gerçekleştiği, yanıt yüzey metodolojisi (RSM) gibi optimizasyon teknikleriyle 600 mg/L seviyelerine ulaşılabilirdiği ifade edilmektedir (Wang ve ark., 2017). *W. confusa* suşlarının ise özellikle sukroz zenginleştirilmiş ortamlarda çok daha yüksek verimler gösterebildiği ve bazı raporlarda gram/L seviyelerine ulaşılabilirdiği aktarılmıştır (Adesulu-Dahunsi ve ark., 2018; Jin ve ark., 2019). *E. faecium*'un ise tür ve ortam bileşimine bağlı olarak daha düşük seviyelerde üretim gösterdiği, ancak karbon kaynağı optimizasyonu ile g/L düzeylerine çıkabileceği bilinmektedir (Abdel-monem ve ark., 2025). *L. sakei* ve *L. garvieae*'nin ise literatürde EPS üretimi bildirilmiş olmakla birlikte, elde edilen verimlerin genellikle düşük olduğu ancak pH ile karbon kaynağına oldukça duyarlı değişkenlik gösterdiği vurgulanmaktadır (Elmansy ve ark., 2022; Imran ve ark., 2016; B. Wang ve ark., 2019).

Sonuç olarak, *L. lactis cremoris*'in EPS üretiminde temel üretici suş olarak öne çıktığı, *L. plantarum* ve *W. confusa*'nın ise uygun ortam koşullarında optimizasyon ile yüksek verim sağlayabilecek potansiyele sahip oldukları görülmektedir. Bu durum, çalışmada elde edilen istatistiksel bulgular ile literatür verilerinin uyumlu olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, EPS üretiminde pH, karbon ve azot kaynakları ile iz elementlerin kritik rol oynadığı dikkate alındığında, ilerleyen aşamalarda bu parametrelerin optimize edilmesinin özellikle yüksek verim potansiyeli gösteren suşlarda üretim kapasitesini artırabileceği değerlendirilmektedir (Nguyen ve ark., 2020).

4.1.2 EPS üretiminde karbon kaynağı ve konsantrasyonunun etkisi

Mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri ve polimer sentez kapasiteleri, kullanılan karbon kaynağının türüne ve konsantrasyonuna doğrudan bağlıdır. Bu nedenle farklı karbon kaynaklarının EPS üretim miktarına etkisinin belirlenmesi, optimum üretim koşullarının saptanması açısından kritik öneme sahiptir. Karbon kaynağının EPS üretimine etkilerine dair sonuçlar Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4. 3 Karbon kaynağının EPS üretimine etkisi

Karbon Kaynağı	EPS (mg/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD (mg/L)
Fruktoz	552	363	427	447.33 $\pm$ 94.38
Glikoz	364	291	328	327.67 $\pm$ 36.51
Sükroz	788	695	850	777.67 $\pm$ 77.97

Çizelge 4.3'te farklı karbon kaynakları ile elde edilen ortalama EPS üretim miktarları gösterilmiş olup, bu farklılıkların istatistiksel anlamlılığını ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilen Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.4'te sunulmuştur.

Çizelge 4. 4 Karbon kaynağının EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
Fruktoz	Glikoz	119,67	0,1192	-25,53	264,87
Fruktoz	Sükroz	-330,33	0,0010	-475,53	-185,13
Glikoz	Sükroz	-450,00	0,0002	-595,20	-304,80

Çalışmada karbon kaynağı olarak glikoz, fruktoz ve sükrozun %5 oranında MRS ortamına ilavesiyle yürütülen denemelerde, EPS üretim miktarları sırasıyla sükrozda 777,67 $\pm$ 77,97 mg/L, fruktozda 447,33 $\pm$ 94,38 mg/L ve glikozda 327,67 $\pm$ 36,51 mg/L olarak belirlenmiştir. ANOVA sonucunda karbon kaynakları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($F = 29,35$, $p = 0,0008$). Tukey çoklu karşılaştırma testi, sükrozun hem fruktoz hem de glikoza göre anlamlı biçimde daha yüksek üretim sağladığını ($p < 0,01$), fruktoz ile glikoz arasındaki farkın ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ortaya koymuştur ($p > 0,05$).

Sükrozun, birçok LAB'da hücre dışı glukansükraz/levansükraz enzimleriyle doğrudan homopolisakkarit (HoPS) sentezine (glukan/levan) girebildiği için, nükleotid-şeker basamağını atlayarak akışı hızlandırdığı kaydedilmektedir. Bu sebeple sükroz varlığında EPS üretimi birçok suşta belirgin bir şekilde artmaktadır. Sistematik derlemeler ve yapısal/biyokimyasal çalışmalar, sükrozun HoPS üretimini tetiklediğini, bu yolda verimin mg/L'den g/L mertebesine çıkabildiğini göstermektedir. Bulgularınızın

“sükroz > fruktoz≈glikoz” sıralaması, bu genel deseni desteklemektedir (Hussein ve ark., 2015; Korcz ve Varga, 2021; van Hijum ve ark., 2006).

Farklı LAB türlerinde glikoz ve fruktozun benzer düzeyler üretebildiği ya da suş-ortam kombinasyonuna göre yer değiştirdiği de raporlanmaktadır. Bulgularımızda fruktoz-glikoz farkının anlamsız çıkması söz konusu literatürle uyumludur Optimize edilmemiş koşullarda LAB EPS üretimi çoğu çalışmada yaklaşık 10–400 mg/L bandında rapor edilmektedir (Fuso ve ark., 2023; Looijesteijn ve ark., 1999).

Çalışmalar elde edilen verilere göre sükroz ile sürdürülmüştür. Sükroz laktik asit bakterilerinin karbon metabolizmasında önemli bir rol oynamakta ve EPS üretiminde sıklıkla tercih edilen bir kaynak olarak öne çıkmaktadır. Bu nedenle farklı sükroz oranlarının EPS sentezine etkisi araştırılmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.5’te sunulmuştur.

Çizelge 4. 5 Sükroz oranının EPS üretim miktarına etkisi

Sükroz Oranı	EPS (mg/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama ± SD (mg/L)
%5	788	695	850	777,67 ± 77,97
%10	898	840	1075	937,67 ± 124,65
%15	1090	1116	1198	1134,67 ± 55,66

Çizelge 4.5’te verilen ortalama üretim değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testinin sonuçları ise Çizelge 4.6’da gösterilmiştir.

Çizelge 4. 6 Sükroz oranının EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
%5	%10	-160,00	0,1644	-377,55	57,55
%5	%15	-357,00	0,0063	-574,55	-139,45
%10	%15	-197,00	0,0915	-414,55	20,55

Bu çalışmada, farklı sükroz konsantrasyonlarının (% 5, 10 ve %15) EPS verimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sükroz düzeyinin artmasıyla EPS üretimi anlamlı biçimde yükselmiştir. Ortalama değerler incelendiğinde % 5 konsantrasyonda 777,7 ± 77,9 mg/L, % 10’da 937,7 ± 124,7 mg/L ve % 15’te 1134,7 ± 55,7 mg/L EPS üretimi tespit edilmiştir. Tek yönlü ANOVA analizi, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğunu göstermiştir (F = 11,87; p = 0,0082). Tukey testi sonuçları ise bu farkın özellikle yüzde 5 ve yüzde 15 sükroz düzeyleri arasında belirgin olduğunu ortaya koymuştur.

Sükroz düzeyindeki artışın, yalnızca metabolik substrat bolluğu değil, aynı zamanda ozmotik stres koşullarını da artırarak hücrelerin koruyucu bir mekanizma olarak EPS üretimini tetiklemiş olabileceği düşünülmektedir (Looijesteijn ve ark. 1999). Literatürde, sükroz varlığında LAB'nin EPS sentezini artırmasının hücrelerin çevresel strese adaptif bir yanıtı olabileceği bildirilmiştir (Ruas-Madiedo ve De Los Reyes-Gavilán, 2005). Bu biyokimyasal mekanizma, çalışmamızda gözlenen konsantrasyon artışıyla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak, *L. cremoris* ile yürütülen bu çalışmada sükroz konsantrasyonunun EPS verimi üzerinde belirleyici bir rol oynadığı ve en yüksek üretimin % 15 seviyesinde gerçekleştiği ortaya konulmuştur. Elde edilen bulgular, LAB temelli EPS üretiminde karbon kaynağı seçiminin kritik olduğunu vurgulayan literatürle uyumludur. Bu bağlamda, yüksek sükroz seviyelerinin EPS üretimini maksimize etmesi, gıda endüstrisinde kıvam artırıcı ve doku iyileştirici katkıların üretiminde potansiyel uygulama değeri taşımaktadır.

4.1.3 EPS üretiminde azot kaynağı ve konsantrasyonunun etkisi

Azot kaynakları, mikroorganizmaların hücresel metabolizması ve polimer sentezi için temel besin bileşenlerinden biridir. Farklı azot kaynaklarının kullanılması, EPS sentezinde miktar ve kalite açısından belirgin farklılıklara yol açabilmektedir. Bu nedenle çalışmada meat ekstrakt, yeast ekstrakt ve pepton gibi farklı azot kaynaklarının EPS üretimine etkisi incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.7'de sunulmuştur.”

Çizelge 4. 7 Azot kaynağının EPS üretim miktarına etkisi

Azot Kaynağı	EPS (mg/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD (mg/L)
Meat Ekstrakt	1842	1686	1283	1603,67 $\pm$ 288,45
Yeast Ekstrakt	2371	2429	2226	2342,00 $\pm$ 104,56
Pepton	1621	1311	1606	1512,67 $\pm$ 174,81

Çizelge 4.7’de verilen üretim değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlılığını ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilen Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 8 Azot kaynağının EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
Meat Ekstrakt	Yeast Ekstrakt	-738,33	0,0067	-1219,1	-257,6
Meat Ekstrakt	Pepton	91,00	0,8991	-389,8	571,8
Yeast Ekstrakt	Pepton	829,33	0,0040	348,6	1310,1

Karbon kaynağı olarak %15 sükroz sabit tutulduğunda, farklı azot kaynaklarının EPS üretimine etkileri belirgin olmuştur. Çalışmamızda %2 oranında meat ekstrakt, yeast ekstrakt ve pepton ilavesi test edilmiştir. Sonuçlara göre, en yüksek üretim yeast ekstrakt grubunda gözlenmiştir ($2342,0 \pm 104,6$ mg/L). Meat ekstrakt ($1603,7 \pm 288,5$ mg/L) ve pepton ($1512,7 \pm 174,8$ mg/L) grupları daha düşük seviyelerde kalmıştır. ANOVA analizinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş ($F = 14,93$; $p = 0,0047$), Tukey testi ise yeast ekstrakt grubunun hem meat ekstrakt hem de pepton gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek EPS üretimi sağladığını ortaya koymuştur ($p < 0,01$). Meat ekstrakt ile pepton grupları arasında ise anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Literatürde, laktik asit bakterilerinde azot kaynağının EPS sentezi üzerinde kritik rol oynadığı birçok çalışmada vurgulanmıştır. Kapsamlı derlemeler kompleks azot kaynaklarının (yeast ekstrakt, pepton, meat ekstrakt), inorganik azot formlarına göre EPS verimini artırdığını vurgulamaktadır (De Vuyst ve Degeest, 1999). Bu kaynaklar arasında özellikle yeast ekstraktın, içerdiği serbest amino asitler, peptitler, vitaminler ve büyüme faktörleri sayesinde şeker-nükleotit öncüllerinin biyosentezini ve glikoziltransferaz enzimlerinin aktivitesini destekleyerek yüksek verim sağladığı belirtilmektedir (Abe ve ark., 2021; Liu ve ark., 2025; Macedo ve ark., 2002; Vanningelgem ve ark., 2004).

Dolayısı ile bu çalışmada elde edilen bulgular literatürdeki raporlarla uyumludur. Yeast ekstrakt, hem miktar hem de bileşim açısından EPS sentezini destekleyen en uygun azot kaynağıdır. Meat ekstrakt ve pepton ise temel azot sağlasa da, yeast ekstrakt'ın sağladığı kofaktör zenginliği ve metabolik destek seviyesini sunamamaktadır. Bu nedenle, LAB temelli EPS üretiminde azot kaynağı seçimi kritik olup, yüksek verim hedeflenen optimizasyon çalışmalarında yeast ekstrakt'ın tercih edilmesi önerilmektedir. Azot kaynağının türü kadar konsantrasyonu da mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Bu kapsamda farklı oranlarda yeast ekstraktı kullanılarak EPS üretim miktarındaki değişimler incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4. 9 Yeast ekstraktı oranının EPS üretim miktarına etkisi

Yeast Ekstrakt Oranı	EPS (mg/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD (mg/L)
%1	1336	999	1268	$1201,00 \pm 178,21$
%2	2845	3036	2871	$2917,33 \pm 103,59$
%3	4328	5191	5410	$4976,33 \pm 572,05$
%5	7992	8879	8376	$8415,67 \pm 444,83$

Çizelge 4.9’da elde edilen ortalama üretim değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemini değerlendirmek üzere yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.10’da gösterilmiştir.

Çizelge 4. 10 Yeast ekstraktı oranının EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
%1	%2	-1716,33	0,001	-2252,7	-1180,0
%1	%3	-3775,33	0,001	-4311,7	-3239,0
%1	%5	-7214,67	0,001	-7751,0	-6678,3
%2	%3	-2059,00	0,001	-2595,3	-1522,7
%2	%5	-5498,33	0,001	-6034,7	-4962,0
%3	%5	-3439,33	0,001	-3975,7	-2903,0

Çalışmada, %15 sükroz sabit koşulu altında farklı yeast ekstrakt (YE) konsantrasyonlarının EPS üretimine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar YE düzeyinin artışıyla EPS veriminin doğrusal ve anlamlı biçimde yükseldiğini ortaya koymuştur. %1 YE koşulunda üretim $1201,0 \pm 178,2$ mg/L olarak ölçülmüş, bu değer %2 seviyesinde $2917,3 \pm 103,6$ mg/L’ye, %3 seviyesinde $4976,3 \pm 572,1$ mg/L’ye ve %5 seviyesinde $8415,7 \pm 444,8$ mg/L’ye ulaşmıştır. ANOVA, gruplar arasında çok yüksek düzeyde anlamlı fark bulunduğunu göstermiştir ($F(3,8) = 203,58$; $p < 0,001$). Tukey HSD çoklu karşılaştırmaları da tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğunu ortaya koymuştur ($p < 0,001$). Bu sonuçlar, YE’nin incelenen konsantrasyon aralığında EPS sentezini kesintisiz biçimde uyardığını göstermektedir.

Literatürde de benzer şekilde, kompleks azot kaynağı derişiminin EPS üretimi üzerinde kritik rol oynadığı bildirilmiştir. Özellikle YE konsantrasyonunun artışı, nükleotit-şeker öncüllerinin biyosentezini hızlandırarak EPS verimini yükseltmektedir (De Vuyst ve Degeest, 1999). Bununla birlikte, farklı suşlarda yüksek azot düzeylerinin yalnızca miktarı değil, polimerin yapısal özelliklerini de değiştirebildiği rapor edilmiştir. *Streptococcus thermophilus* LY03 üzerine yapılan bir çalışmada, kompleks azotun artırılmasının üretilen EPS’in molekül ağırlığı dağılımını değiştirdiği, yüksek molekül ağırlıklı fraksiyonlardan düşük molekül ağırlıklı fraksiyonlara kaymaya yol açtığı gösterilmiştir (De Vuyst ve Degeest, 1999). Bu bulgu, C/N oranının yalnızca miktarı değil polimer kalitesini de etkileyebileceğini ortaya koymaktadır.

Bulgularımıza göre YE konsantrasyonunun %1’den %5’e kadar artışı EPS verimini düzenli ve anlamlı bir şekilde yükseltmiştir. Bu bulgu, literatürde bildirilen doz–yanıt ilişkisi ile uyumlu olup, *L. cremoris* suşunun YE’ye duyarlılığını net biçimde ortaya

koymaktadır. Ayrıca, ileride yapılacak çalışmalarda daha yüksek YE seviyelerinin incelenmesi, plato noktasının ve azot düzeyinin polimer kalitesi üzerindeki etkilerinin belirlenmesine katkı sağlayacaktır.

4.1.4 EPS üretiminde pH etkisi

pH, mikroorganizmaların büyüme performansı ve metabolit üretiminde kritik bir parametredir. Ortam pH'sındaki değişimler, hücresel enzim aktivitelerini ve dolayısıyla EPS sentezini doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle farklı pH seviyelerinin EPS üretim miktarına etkisi araştırılmış ve sonuçlar Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4. 11 pH'nın EPS üretim miktarına etkisi

pH	EPS (mg/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD (mg/L)
5.5	7018	9011	8799	8276,00 $\pm$ 1094,60
6	6607	8073	7534	7404,67 $\pm$ 741,51
7	7992	8879	8376	8415,67 $\pm$ 444,83
8	7750	6566	7196	7170,67 $\pm$ 592,41

Çizelge 4.11'de elde edilen ortalama üretim miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan değerlendirilmesi amacıyla yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testine ilişkin sonuçlar ise Çizelge 4.12'de sunulmuştur.

Çizelge 4. 12 pH'nın EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
pH 5.5	pH 6	-871,33	0,528	-2852,66	1109,99
pH 5.5	pH 7	139,67	0,996	-1841,66	2120,99
pH 5.5	pH 8	-1105,33	0,345	-3086,66	875,99
pH 6	pH 7	1011,00	0,414	-970,33	2992,33
pH 6	pH 8	-234,00	0,980	-2215,33	1747,33
pH 7	pH 8	-1245,00	0,260	-3226,33	736,33

Çalışmada, %15 sükroz ve %5 yeast ekstrakt sabit koşullarında farklı pH seviyelerinin (5,5; 6,0; 7,0; 8,0) EPS üretimine etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, pH 5,5'te 8276,0 $\pm$ 1094,6 mg/L, pH 6,0'da 7404,7 $\pm$ 741,5 mg/L, pH 7,0'de 8415,7 $\pm$ 444,8 mg/L ve pH 8,0'de 7170,7 $\pm$ 592,4 mg/L EPS üretildiğini göstermiştir. ANOVA ($F(3,8) = 2,01$; $p = 0,191$) ve Tukey çoklu karşılaştırmaları (tüm $p > 0,05$), gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını ortaya koymuştur. Ortalama değerlere göre en yüksek üretim pH 7'de, en düşük üretim pH 8'de gözlenirse de, bu farklılıklar istatistiksel açıdan desteklenmemektedir. Bulgular, 5,5–8,0 aralığında EPS

üretimini görece stabil olduğunu ve bu suş için geniş bir pH tolerans penceresinin bulunduğunu düşündürmektedir.

Literatürde pH'nın LAB'da EPS üretimini şekillendiren temel çevresel faktörlerden biri olduğu bildirilmektedir (Mıdık ve ark., 2020; Vosough ve ark., 2022). Bazı LAB suşları asidik stres altında EPS üretimini artırırken, bazılarının verim düşüşü gösterdiği dolayısı ile bunların suşa özgü tepkiler olduğu belirtilmektedir (Nguyen ve ark., 2020). Genel olarak, EPS üretimini nötr pH'ın üzerinde azaldığı, ancak bazı enzimatik süreçlerde hafif alkali koşulların tercih edilebileceği ifade edilmektedir (Nguyen ve ark., 2020; Sørensen ve ark., 2022a; 2022b)

Bu çalışmada gözlenen sonuçlar, literatürde bildirilen eğilimlerle uyumludur. EPS üretimini pH 7 civarında en yüksek düzeye ulaşması, ancak pH 5,5–8 aralığında büyük farklılıkların gözlenmemesi, suşun geniş bir pH toleransına sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu durum, fermentasyon sürecinde küçük pH dalgalanmalarının EPS verimini dramatik biçimde etkilemeyeceğini, dolayısıyla endüstriyel uygulamalar için süreç esnekliği sağlayabileceğini düşündürmektedir.

4.1.5 EPS üretiminde sıcaklık etkisi

Sıcaklık, mikrobiyal büyüme ve metabolit üretimi üzerinde doğrudan etkili olan temel çevresel faktörlerden biridir. Enzimatik aktiviteler ve hücresel fizyoloji sıcaklık değişimlerinden güçlü biçimde etkilendiği için, EPS sentezi de farklı sıcaklık koşullarında önemli farklılıklar gösterebilmektedir. Bu bağlamda, çeşitli sıcaklıklarda yapılan denemeler sonucunda elde edilen EPS üretim miktarları Çizelge 4.13'te sunulmuştur.

Çizelge 4. 13 Sıcaklığın EPS üretim miktarına etkisi

Sıcaklık	EPS (mg/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD (mg/L)
30°C	5657	5776	5479	5637,33 $\pm$ 149,47
37°C	7992	8879	8376	8415,67 $\pm$ 444,83
40°C	7605	7789	8111	7835,00 $\pm$ 256,12
45°C	3552	3706	3531	3596,33 $\pm$ 95,55

Çizelge 4.13'te verilen ortalama değerler arasındaki farkların istatistiksel açıdan anlamlılığını ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilen Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.14'te gösterilmiştir.

Çizelge 4. 14 Sıcaklığın EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
30°C	37°C	-2778,33	<0,001	-3488,34	-2068,33
30°C	40°C	-2197,67	<0,001	-2907,67	-1487,66
30°C	45°C	2041,00	<0,001	1331,00	2751,00
37°C	40°C	580,67	0,114	-1290,67	129,34
37°C	45°C	4819,33	<0,001	4109,33	5529,34
40°C	45°C	4238,67	<0,001	3528,66	4948,67

EPS üretimi üzerine sıcaklığın etkisini incelemek amacıyla fermentasyonlar 30, 37, 40 ve 45°C’de yürütülmüştür. Ortalama EPS verimleri sırasıyla $5637,3 \pm 149,5$; $8415,7 \pm 444,8$; $7835,0 \pm 256,1$ ve $3596,3 \pm 95,6$ mg/L olarak hesaplanmıştır. Tek yönlü ANOVA gruplar arasında çok yüksek düzeyde anlamlı fark göstermiştir ($F(3,8) = 197,48$; $p < 0,001$). Tukey çoklu karşılaştırmalarına göre 37°C ve 40°C koşulları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış, buna karşın 30°C ve 45°C grupları hem 37°C’ye hem de 40°C’ye kıyasla anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($p < 0,001$). Bu sonuçlar, incelenen suş için optimum sıcaklığın 37–40°C bandında olduğunu, 45°C’nin ise üretimi baskıladığını göstermektedir. EPS üretimi için optimal sıcaklık, suşa büyük ölçüde bağlıdır. Bu genel örüntü, mezofilik LAB’de 37–42°C civarında EPS’in büyümeyle birlikte arttığını, daha yüksek sıcaklıklarda ise hızla azabildiğini bildiren çalışmalarla uyumludur (Mıdık ve ark., 2020; Yuliana ve ark., 2020).

4.1.6 EPS üretiminde inkübasyon süresi etkisi

İnkübasyon süresi, mikroorganizmaların büyüme evreleri ve metabolit sentezi üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Uygulanan sürenin uzaması, başlangıçta EPS sentezini artırabilirken, ilerleyen dönemlerde besin sınırlamaları ve metabolit birikimi nedeniyle üretimde dalgalanmalara yol açabilmektedir. Bu kapsamda farklı inkübasyon sürelerinin EPS üretim miktarına etkisi incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.15’te sunulmuştur.

Çizelge 4. 15 İnkübasyon Süresinin EPS üretim miktarına etkisi

İnkübasyon Süresi (saat)	EPS (mg/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD (mg/L)
24	7992	8879	8376	$8415,67 \pm 444,83$
48	8211	8369	8276	$8285,33 \pm 79,41$
72	8591	8423	9414	$8809,33 \pm 530,35$
96	9767	10530	9796	$10031,00 \pm 432,39$

Çizelge 4.15'te elde edilen ortalama üretim miktarları arasındaki farkların istatistiksel açıdan anlamlılığını belirlemek üzere yapılan Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4. 16 İnkübasyon Süresinin EPS üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
24h	48h	-130,33	0,979	-1202,37	941,71
24h	72h	393,67	0,657	-678,37	1465,71
24h	96h	1615,33	0,0057	543,29	2687,37
48h	72h	524,00	0,447	-548,04	1596,04
48h	96h	1745,67	0,0036	673,63	2817,71
72h	96h	1221,67	0,0268	149,63	2293,71

Çalışmada, %15 sükroz ve %5 yeast ekstrakt ve pH 6,7 sabit koşullarında farklı inkübasyon sürelerinin (24, 48, 72 ve 96 saat) EPS üretimine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, 24 saatte $8415,7 \pm 444,8$ mg/L, 48 saatte $8285,3 \pm 79,4$ mg/L ve 72 saatte $8809,3 \pm 530,4$ mg/L üretildiğini, 96 saatte ise bu değer $10031,0 \pm 432,4$ mg/L'ye yükseldiğini göstermiştir. Tek yönlü ANOVA, süre grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğunu göstermiştir ($F(3,8) = 11,30$; $p = 0,003$). Tukey testi sonuçlarına göre 24, 48 ve 72 saat grupları arasında anlamlı fark bulunmamış, ancak 96 saatlik inkübasyon süresi tüm diğer gruplara göre anlamlı derecede daha yüksek üretim sağlamıştır ($p < 0,05$).

İnkübasyon süresinin EPS üretimi üzerinde belirleyici olduğu, üretim kinetiğinin genellikle büyümenin log ve geç log fazlarıyla ilişkili olduğu vurgulanmaktadır. EPS sentezinin 24–48 saatlik fermentasyonlarda başlamakla birlikte daha uzun inkübasyonlarda (72–120 saat) önemli derecede arttığını bildirmiştir. Bu bağlamda, çalışmamızda 24–72 saat aralığında gözlenen kademeli artışın istatistiksel açıdan anlamlı olmaması, EPS üretiminin log faz boyunca kararlı bir şekilde ilerlediğini, ancak asıl anlamlı artışın 96 saatlik inkübasyonda ortaya çıktığını göstermektedir. Bu bulgu, literatür ile uyumludur. Ayrıca, 96 saatte elde edilen anlamlı artış, EPS'in hücre büyümesinden kısmen ayrılarak sekonder metabolik ürün olarak sentezlenmeye devam edebileceğini de düşündürmektedir (Bhat ve ark., 2020; Khan ve Joseph, 2015; Mıdık ve ark., 2020; Yuliana ve ark., 2020).

4.1.7 EPS temelli biyoplastik üretimi

Bu çalışmada optimum fermentasyon koşullarında üretilen EPS, çözelti döküm yöntemiyle film formuna getirilmiştir. EPS:gliserol:sitrik asit:jelatin oranları 5:3:1:2 ve 10:3:1:2 (w/w) olan numuneler, ortam koşullarında 120 saat kürlenmesine karşın çekme testi öncesinde belirgin yapışkanlık, soğuk akma ve kohezif/adeziv kopma modları sergilemiştir. Bu nedenle, standarda uygun şekilde geçerli kopma gerilmesi (σ_b), kopmada uzama (ϵ_b) ve maksimum kuvvet (F_{max}) değerleri elde edilememiş, deneyler adeziv temas ve numune bütünlüğünün kaybı nedeniyle geçersiz sayılmıştır. Gözlenen mekanik başarısızlık, (i) yüksek plastikleyici içeriğinin cam geçiş sıcaklığını oda sıcaklığının oldukça altına düşürerek viskoelastik akmayı artırması (Lim ve Hoag, 2013) (ii) EPS ve jelatinin yüksek hidrofilikliği nedeniyle filmde su alımının artıp gliserolün humektant etkisini güçlendirmesi (Basiak ve ark., 2018) ve (iii) sitrik asit ile etkin ağ oluşumu için gerekli esterifikasyonun düşük sıcaklıklı döküm-kür koşullarında sınırlı kalmasıyla açıklanabilir (Mali ve ark., 2018; Uranga ve ark., 2020b). Nitekim suda çözünürlük testlerinde numunelerin hızla çözünmesi, kimyasal çapraz bağ yoğunluğunun yetersizliğine ve hidrojen bağları temelli zayıf ağ yapısına işaret etmektedir. Bu bulgular, belirtilen formülasyon ve proses penceresi altında EPS'nin biyoplastik filmde ana taşıyıcı polimer olarak kullanılmasının mekanik ve fonksiyonel açıdan uygun olmadığını ortaya koymaktadır.

4.2. THP Üretimi, Optimizasyonu ve Biyoplastik Üretimi

4.2.1 THP üretimi için uygun suş seçimi

Muş Alparslan Üniversitesi Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda bulunan *E. faecium*, *L. sakei*, *L. garvieae*, *L. lactis cremoris*, *L. lactis*, *W. confusa*, *L. plantarum* suşları 10^8 KOB; loru alınmış, sterilize edilmiş, pH=6,7 PAS ortamına inoküle edilerek 37°C ve 24 saat inkübe edilmiştir. Üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen çalışmaların sonuçlarında elde edilen THP'ler Çizelge 4.17'te verilmiştir.

Çizelge 4. 17 Farklı LAB suşlarında THP üretim miktarları

Bakteri	THP (g/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD
<i>E. faecium</i>	0,383	0,415	0,414	0,404 $\pm$ 0,018
<i>L. sakei</i>	0,251	0,227	0,243	0,240 $\pm$ 0,012
<i>L. garvieae</i>	0,459	0,451	0,414	0,441 $\pm$ 0,024
<i>L. lactis cremoris</i>	0,324	0,292	0,324	0,313 $\pm$ 0,018
<i>L. lactis</i>	0,270	0,249	0,271	0,263 $\pm$ 0,012
<i>W. confusa</i>	0,163	0,152	0,159	0,158 $\pm$ 0,006
<i>L. plantarum</i>	0,308	0,340	0,326	0,325 $\pm$ 0,016

Çizelge 4.17’de PAS’da farklı LAB türlerinden elde edilen THP miktarları sunulmaktadır. Ortalama değerlere bakıldığında, en yüksek THP üretimi *L. garvieae* (0.441 g/L) ve *E. faecium* (0.404 g/L) türlerinde gözlenmiştir. Bu iki tür, diğer LAB suşlarına kıyasla belirgin şekilde daha yüksek üretim kapasitesine sahiptir. Orta düzeyde üretim gerçekleştiren türler arasında *L. plantarum* (0.325 g/L) ve *L. lactis cremoris* (0.313 g/L) öne çıkmaktadır. Buna karşın, *W. confusa* (0.158 g/L) en düşük THP üretimini göstermiştir.

ANOVA, farklı LAB suşları arasında THP üretim miktarlarının istatistiksel olarak son derece anlamlı düzeyde farklılaştığını göstermiştir ($F(6,14) = 107.16$, $p < 0.0001$). Bu durum, test edilen bakteri türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunduğunu göstermektedir. Anlamlı farklılıkların hangi tür çiftleri arasında oluştuğunu belirlemek amacıyla Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulanmış ve sonuçlar Çizelge 4.18’de sunulmuştur.

Çizelge 4. 18 Farklı LAB suşlarında THP üretim miktarları için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
<i>E. faecium</i>	<i>L. plantarum</i>	-0.0793	0.0005	-0.1245	-0.0341
<i>E. faecium</i>	<i>L. sakei</i>	-0.1637	0.0000	-0.2089	-0.1185
<i>E. faecium</i>	<i>L. garvieae</i>	0.0373	0.1392	-0.0079	0.0825
<i>E. faecium</i>	<i>L. lactis</i>	-0.1407	0.0000	-0.1859	-0.0955
<i>E. faecium</i>	<i>L. lactis cremoris</i>	-0.0907	0.0001	-0.1359	-0.0455
<i>E. faecium</i>	<i>W. confusa</i>	-0.2460	0.0000	-0.2912	-0.2008
<i>L. plantarum</i>	<i>L. sakei</i>	-0.0843	0.0003	-0.1295	-0.0391
<i>L. plantarum</i>	<i>L. garvieae</i>	0.1167	0.0000	0.0715	0.1619
<i>L. plantarum</i>	<i>L. lactis</i>	-0.0613	0.0055	-0.1065	-0.0161
<i>L. plantarum</i>	<i>L. lactis cremoris</i>	-0.0113	0.9737	-0.0565	0.0339
<i>L. plantarum</i>	<i>W. confusa</i>	-0.1667	0.0000	-0.2119	-0.1215
<i>L. sakei</i>	<i>L. garvieae</i>	0.2010	0.0000	0.1558	0.2462
<i>L. sakei</i>	<i>L. lactis</i>	0.0230	0.6050	-0.0222	0.0682
<i>L. sakei</i>	<i>L. lactis cremoris</i>	0.0730	0.0012	0.0278	0.1182
<i>L. sakei</i>	<i>W. confusa</i>	-0.0823	0.0004	-0.1275	-0.0371
<i>L. garvieae</i>	<i>L. lactis</i>	-0.1780	0.0000	-0.2232	-0.1328
<i>L. garvieae</i>	<i>L. lactis cremoris</i>	-0.1280	0.0000	-0.1732	-0.0828
<i>L. garvieae</i>	<i>W. confusa</i>	-0.2833	0.0000	-0.3285	-0.2381
<i>L. lactis</i>	<i>L. lactis cremoris</i>	0.0500	0.0261	0.0048	0.0952
<i>L. lactis</i>	<i>W. confusa</i>	-0.1053	0.0000	-0.1505	-0.0601
<i>L. lactis cremoris</i>	<i>W. confusa</i>	-0.1553	0.0000	-0.2005	-0.1101

Bu çalışmada, farklı LAB türlerinin PAS’da gerçekleştirdiği fermantasyon sonucunda ürettikleri THP miktarları karşılaştırılmıştır. ANOVA, bakteriler arasında THP üretiminde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunduğunu göstermiştir ($p < 0.001$). Tukey HSD testi ile yapılan çoklu karşılaştırmalar sonucunda, *L. cremoris* ve *L. garvieae* türlerinin diğer türlere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek THP

üretimi gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. Bu iki türü sırasıyla *E. faecium* ve *L. sakei* takip etmektedir. Ancak genel bir değerlendirme ile *L. cremoris* ve *L. garvieae*'nin metabolik olarak yüksek verimli türler olduğu ve PAS'ı daha etkin şekilde kullanarak biyokütle üretimini maksimize ettikleri söylenebilir. Bu bakterilerin yüksek THP üretimi, hem sürdürülebilir gıda katkı maddesi üretimi açısından hem de biyoplastik formülasyonlarında protein kaynaklı katkı maddesi olarak kullanım potansiyelleri açısından dikkat çekicidir. Düşük THP üretimi gösteren türler arasında ise *Weissella sp.*, ve *L. plantarum* yer almakta olup, bu durum bu türlerin protein biyosentezi açısından daha düşük metabolik aktiviteye sahip olabileceğini göstermektedir.

Bulgularımıza göre, en yüksek THP üretim değerlerinin *L. garvieae* (0.441 g/L) ve *E. faecium* (0.404 g/L) türlerinde gözlenmesi, bu iki türün PAS'ın laktozu etkin biçimde metabolize edebilme veya PAS proteinlerinden amino asit kazanımında görece üstün bir kapasiteye sahip olduklarını düşündürmektedir. Nitekim *L. garvieae*'nin süt kökenli biyotiplerinde laktozun PTS-laktoz sistemi ve fosfo- β -galaktozidaz aracılığıyla metabolize edildiği, dolayısıyla süt ortamına adaptasyonun genetik temellerinin bulunduğu rapor edilmektedir (Fortina ve ark., 2009). Benzer şekilde, *E. faecium* ve *E. faecalis* gibi enterokoklarda güçlü proteolitik aktivite sıklıkla gözlenmekte, β -laktoglobulin ve α -laktalbumin gibi PAS proteinlerinin parçalanabildiği bildirilmektedir. Bu proteolitik kapasite, kazein açısından fakir fakat protein açısından zengin PAS ortamında azot erişimini kolaylaştırarak hem hücresel büyümeyi hem de protein birikimini destekleyebilmektedir (Biscola ve ark., 2016; Kordesehehi ve ark., 2018).

Orta düzeyde verim gösteren *L. plantarum* (0.325 g/L) ve *L. lactis subsp. cremoris* (0.313 g/L) sonuçları literatürle uyumludur. *L. plantarum*'un farklı karbon kaynaklarına uyum sağlayabilmesi ve laktoz metabolizmasında birden fazla metabolik yol bulundurması, bu türün PAS'da büyümesini desteklemektedir. Çünkü laktozun parçalanması yalnızca tek bir enzim sistemine bağlı değildir. Alternatif metabolik yollar bulunduğu için ortam koşulları değişse bile hücre enerji üretimini sürdürebilmektedir (Plaza-Vinuesa ve ark., 2023). *L. lactis* türünde ise süt ortamına uyum, belirli genetik ve enzimatik mekanizmalarla sağlanmaktadır. Plazmid kaynaklı laktoz operonu (*lac*), laktozu parçalayarak temel enerji ihtiyacını karşılar. Hücre yüzeyi proteinazı (*PrtP*), büyük süt proteinlerini küçük peptitlere ayırarak azot kaynağı sağlar. Oligopeptit taşıma sistemi (*Opp*) ise bu peptitleri hücre içine alıp protein sentezinde kullanır. Bu mekanizmaların varlığı veya yokluğu, tür ve suş düzeyindeki verim farklılıklarını açıklamaktadır (Kelleher ve ark., 2017, 2019).

En düşük THP veriminin *W. confusa*'da (0.158 g/L) görülmesi ise *Weissella* cinsine özgü sınırlı laktoz metabolizması ile uyumludur. Nitekim çoğu *W. confusa* ve *W. cibaria* suşunda laktoz kullanımının suş bağımlı ve sınırlı olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle laktoz ağırlıklı PAS ortamlarında büyümenin kısıtlanması beklenen bir durumdur (Bancalari ve ark., 2020).

4.2.2 THP üretimi için azot kaynağı ve konsantrasyonunun etkisi

Çalışmanın bundan sonrası adımları PAS ortamında *L. garvieae* suşu ile yürütülmüştür. Azot kaynağı seçimi adımı THP üretim sürecinde optimum azot kaynağının belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, tarımsal kaynaklı ve protein açısından zengin bitki unlarından (kırmızı mercimek, yeşil mercimek ve nohut) elde edilen ekstraktlar, %1 (w/w) oranında fermentasyon ortamına ilave edilerek karşılaştırmalı analizler gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.19 ve 4.20'de sunulmuştur.

Çizelge 4. 19 Farklı azot kaynaklarının THP üretim miktarına etkisi

Azot Kaynağı	THP (g/L)			
	1. Tekrar	2. Tekrar	3. Tekrar	Ortalama $\pm$ SD
Nohut %1	1,692	1,529	1,458	1,559.7 $\pm$ 119,9
Yeşil Mercimek %1	1,272	1,067	1,048	1,129.0 $\pm$ 124,2
Kırmızı Mercimek %1	0,955	0,884	0,935	0,924 $\pm$ 36,6

Çizelge 4. 20 Farklı azot kaynaklarının THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
Kırmızı Mercimek %1	Nohut %1	635.0	0,0006	379.6721	890.3279
Kırmızı Mercimek %1	Yeşil Mercimek %1	204.3333	0,108	-50.9946	459.6612
Nohut %1	Yeşil Mercimek %1	-430.6667	0,005	-685.9946	-175.3388

Yürütülen tek yönlü ANOVA analizi sonucunda, farklı azot kaynaklarının (nohut, yeşil mercimek ve kırmızı mercimek) THP miktarları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$). Bu farklılığın hangi gruplar arasında oluştuğunu belirlemek amacıyla gerçekleştirilen Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi, %1 oranında nohut ekstraktı kullanılan grubun, hem yeşil hem de kırmızı mercimek ekstraktı kullanılan gruplara kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek THP üretimi sağladığını göstermiştir ($p < 0.05$). Ortalama değerler incelendiğinde, nohut ekstraktı ile elde edilen THP miktarı 1559,7 mg/L olup, bu değer yeşil mercimek (1129,0 mg/L) ve kırmızı mercimek (924,7 mg/L) gruplarının belirgin şekilde üzerindedir. Bu sonuçlar, nohutun içerdiği protein ve diğer biyoyararlı bileşenlerin, *L. garvieae* suşunun büyümesini ve biyokütle üretimini desteklediğini ortaya koymakta böylece nohut ekstraktının

sürdürülebilir, düşük maliyetli ve etkili bir azot kaynağı olarak öne çıktığını göstermektedir.

Nohutun, azot mineralizasyonu ve mikrobiyal biyokütle üretimi açısından yüksek verimlilik sergilediği bilinmektedir. Özellikle uygun mineral besleme stratejileri ve simbiyotik bakteri inokülasyonu ile nohutun azot kullanım verimliliği ve biyokütle üretim kapasitesi anlamlı şekilde artış göstermektedir (Martins ve ark., 2023). Bu durum, nohut proteinlerinin içerdiği azotu mikroorganizmalar için daha erişilebilir ve metabolik açıdan kullanılabilir bir forma dönüştürerek fermantasyon verimini yükseltmektedir. Bazı analizlerde mercimeğin toplam protein oranı daha yüksek rapor edilse de, nohut proteinlerinin daha iyi çözünabilirlik, işlevsel özellikler ve sindirilebilirlik göstermesi dikkat çekicidir. Ayrıca mercimekte bulunan fitik asit gibi antinutrient bileşiklerin, proteinlerin ve azotun biyoyararlanımını azaltıcı etki gösterebileceği bildirilmektedir (Rizvi ve ark., 2022). Bu bağlamda, nohut proteinlerinin fonksiyonel özellikleri ve biyoyararlanımı, LAB gibi mikroorganizmaların azotu daha etkin kullanarak biyokütle üretimini desteklemesine aracılık etmektedir.

Nohut ekstraktlarının, simbiyotik bakteri ve mikorizal mantarlarla birlikte kullanıldığında biyokütle ve protein üretiminde kayda değer artışlar sağladığı rapor edilmiştir (Oliveira ve ark., 2017). Bu bulgular, nohutun azotunu yalnızca bitkisel üretim sistemlerinde değil, aynı zamanda mikrobiyal üretim ortamlarında da daha uygun bir kaynak haline getirebileceğini düşündürmektedir. Mercimek proteinleri de amino asit formunda azot sunabilse de, söz konusu azotun mikroorganizmalar tarafından biyokütle üretiminde kullanılabilirliği, nohut proteinlerine kıyasla daha sınırlı olabilmektedir (Kröper ve ark., 2025). Buna ek olarak, çeşitli nohut ekstraktlarının LAB için yüksek düzeyde galakto-oligosakkarit (GOS), özellikle düşük polimerizasyon dereceli (DP=3) fraksiyonlar ile mono- ve disakkarit içerdiği rapor edilmektedir. Bu çözünür karbon bileşenleri hızlı şekilde fermente edilerek LAB büyümesini uyarabilmekte ve protein temelli azot desteği ile sinerjik bir etki oluşturmaktadır (Martins ve ark., 2023).

Azot kaynağı olarak nohut ekstraktının uygunluğuna karar verildikten sonra nohut ekstraktı konsantrasyonunun etkisi incelenmiş sonuçlar Çizelge 4.21 ve 4.22’da sunulmuştur.

Çizelge 4. 21 Farklı nohut ekstraktı oranlarının THP üretim miktarına etkisi

Konsantrasyon	THP (g/L)			
	1. Tekrar	2. Tekrar	3. Tekrar	Ortalama $\pm$ SD
Nohut %1	1,598	1,533	1,573	1,568.0 $\pm$ 32,8
Nohut %1.5	1,712	1,816	1,613	1,713.7 $\pm$ 101,5
Nohut %2	1,608	1,713	1,601	1,640.7 $\pm$ 62,7
Nohut %3	1,502	1,627	1,591	1,573.3 $\pm$ 64,3

Çizelge 4. 22 Farklı nohut ekstraktı oranlarının THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
Nohut %1	Nohut %1.5	0.1457	0.1240	-0.0367	0.3280
Nohut %1	Nohut %2	0.0727	0.6010	-0.1097	0.2550
Nohut %1	Nohut %3	0.0053	0.9997	-0.1770	0.1877
Nohut %1.5	Nohut %2	-0.0730	0.5978	-0.2554	0.1094
Nohut %1.5	Nohut %3	-0.1403	0.1412	-0.3227	0.0420
Nohut %2	Nohut %3	-0.0673	0.6526	-0.2497	0.1150

Farklı nohut ekstraktı konsantrasyonlarının THP üretim miktarına etkisi ANOVA ile değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda ($F=2.645$, $p=0.0941$) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Ancak %1.5 nohut ekstraktı içeren ortam, ortalama THP üretiminde en yüksek değeri göstermiştir (1.714 g/L). Tukey HSD testi, bu grubun diğer gruplardan anlamlı şekilde farklı olmadığını ortaya koymuştur ($p>0.05$). Bu örüntü, LAB’de büyümenin çoğu zaman peptit/serbest amino azot erişilebilirliğine duyarlı olmakla birlikte, belirli bir eşiğin üzerinde azotun artık sınırlayıcı olmaktan çıkabildiği; büyümeyi ise peptit taşıma kapasitesi (Opp) veya karbon/ko-faktör kısıtları gibi başka faktörlerin belirleyebildiği mekanistik çerçeveye uyumludur. Bu bağlam, %1–3 nohut ekstraktı aralığında istatistiksel ayrışma görülmemesini, azotun bu aralıkta non-limiting hâle gelmesi ve taşınım/katabolizma basamaklarının baskın sınırlayıcıya dönüşmesiyle açıklamak mümkündür (Liu ve ark., 2010)

4.2.3 THP üretimi için karbon kaynağı ve konsantrasyonunun etkisi

Önceki aşamada azot kaynağı olarak %1,5 nohut ekstraktı belirlenmiş ve fermentasyon şartları bu koşullar altında standardize edilmiştir. Bu bağlamda, karbon kaynağının *L. garvieae* suşunun biyokütle ve THP üretimi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla farklı şeker türleri (%5, w/v; laktoz, glikoz, fruktoz ve sükroz) karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.24’de sunulmuştur.

Çizelge 4. 23 Farklı karbon kaynaklarının THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Karbon Kaynağı	THP g/L			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD
Sükroz	2,070	2,031	2,229	2,110 $\pm$ 0,105
Laktoz	1,861	1,821	1,916	1,866 $\pm$ 0,048
Fruktoz	1,964	1,924	1,999	1,962 $\pm$ 0,038
Glikoz	1,702	1,782	1,734	1,739 $\pm$ 0,040

Çizelge 4. 24 Farklı karbon kaynaklarının THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
Fruktoz	Glikoz	-0.2230	0.0115	-0.3899	-0.0561
Fruktoz	Laktoz	-0.0963	0.3202	-0.2633	0.0706
Fruktoz	Sükroz	0.1477	0.0843	-0.0193	0.3146
Glikoz	Laktoz	0.1267	0.1482	-0.0403	0.2936
Glikoz	Sükroz	0.3707	0.0005	0.2037	0.5376
Laktoz	Sükroz	0.2440	0.0069	0.0771	0.4109

ANOVA sonucunda, karbon kaynağı tipinin THP üretimi üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi olduğu belirlenmiştir ($F = 18.0176$, $p = 0.0006$). Tukey HSD çoklu karşılaştırma testine göre sükroz, hem glikoz ($p = 0.0005$) hem de laktoz ($p = 0.0069$) kullanılan ortamlara kıyasla anlamlı derecede daha yüksek THP üretimi sağlamıştır. Ayrıca fruktoz ile glikoz arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.0115$). Buna karşılık fruktoz ile sükroz arasındaki farkın anlamlı çıkmaması ($p = 0.0843$), fruktozun sükroz kadar etkili olmasa da, görece yüksek bir potansiyele sahip olduğunu düşündürmektedir. Ortalama değerlere bakıldığında, sükrozun 2.110 g/L ile en yüksek üretimi sağladığı, bunu fruktoz (1.962 g/L), laktoz (1.866 g/L) ve glikozun (1.739 g/L) takip ettiği görülmektedir.

Bu bulgulara göre *L. garvieae*'de karbon metabolizmasının suş düzeyinde heterojenlik gösterebileceği düşünülmektedir. Nitekim sükroz kullanımının *Lactococcus* türlerinde *scr/sac* operonları (*scrA-scrB-sacK* ve düzenleyici *scrR*) aracılığıyla gerçekleştiği, bu süreçte sükrozun PTS sistemiyle taşındıktan sonra sükroz-6-fosfata hidrolizlenerek glikoz-6-fosfat ve fruktoza ayrıldığı ve böylece hücre içi metabolik akışa iki heksozun birden kazandırıldığı bildirilmiştir (Luesink ve ark., 1999; Rauch ve de Vos, 1992). Bu durum, sükrozun heksoz başına daha düşük enerji (PEP) maliyeti ile hücrel anabolizmaya katkı sağlayabileceğini göstermektedir. Ayrıca glikozun güçlü bir katabolit baskılayıcı olarak alternatif şeker yollarını inhibe edebildiği, buna karşılık sükroz ve fruktozda bu etkinin daha zayıf olduğu rapor edilmiştir (Gu ve ark., 2024). Osmotik yük farkı da elde edilen sonuçları açıklayan bir başka parametredir. Aynı kütle derişiminde (5%, w/v) monosakkaritler (glikoz, fruktoz), disakkaritlerden (sükroz, laktoz) yaklaşık

iki kat daha yüksek molariteye sahiptir. Bu durum LAB'de ozmotik stres yanıtlarını tetikleyerek büyümeyi sınırlandırabilmektedir. Disakkaritlerin ise daha düşük osmotik yük oluşturması, büyümenin daha dengeli seyretmesine katkı sağlamaktadır. Dolayısı ile deneysel bulgularımız ve literatür desteği birlikte değerlendirildiğinde, sükroz *L. garvieae* için THP üretimini maksimize eden en uygun karbon kaynağı olarak öne çıkmaktadır.

Karbon kaynağı olarak sükrozun uygun olduğu değerlendirilerek %5, 10 ve 15 (w/w) sükroz konsantrasyonlarının THP üretimine etkisi incelenmiştir. Etkiye dair sonuçlar Çizelge 4.25 ve 4.26'de sunulmuştur.

Çizelge 4. 25 Farklı sükroz oranlarının THP üretim miktarına etkisi

Sükroz Konsantrasyonu	THP (g/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD
%5	2,070	2,031	2,229	2,11 $\pm$ 0,105
%10	2,048	2,091	2,178	2,106 $\pm$ 0,066
%15	2,033	1,983	2,012	2,009 $\pm$ 0,025

THP üretimi ile sükroz konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Çizelge 4. 26 Farklı sükroz oranlarının THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
%10	%15	-0.0963	0.3105	- 0.2794	0.0867
%10	%5	+0.0043	0.9971	- 0.1787	0.1874
%15	%5	+0.1007	0.2844	- 0.0824	0.2837

Bu çalışmada, sükroz konsantrasyonunun (%5, %10 ve %15), THP üretimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen deneysel analizler sonucunda, en yüksek ortalama THP verimi %5 sükroz konsantrasyonunda (2.110 g/L) elde edilmiş, bunu %10 (2.106 g/L) ve %15 (2.009 g/L) konsantrasyonları takip etmiştir. Her ne kadar veriler arasında küçük farklar gözlemlense de, ANOVA sonuçları bu farkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermiştir ($p > 0.05$). Tukey HSD testi ile yapılan çoklu karşılaştırmalarda da hiçbir grup arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Bu sonuçlar, çalışmada kullanılan sükroz konsantrasyon aralığının (5–15%) THP üretimi üzerinde belirgin bir etkiye sahip olmadığını ortaya koymaktadır. Biyolojik olarak değerlendirildiğinde ise, daha yüksek sükroz seviyelerinde metabolik doygunluğa ulaşılması ve ozmotik stres gibi faktörlerin üretimi sınırlandırabileceği düşünülmektedir (Uguen ve ark., 1999). Diğer taraftan LAB'larda karbon kaynağı türü, büyüme hızı ve

metabolit üretimi üzerinde belirleyicidir. LAB'lerin ana metabolitin laktik asit olması ve ortam pH'sının biyokütle büyümesi üzerindeki etkileri de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, süreç optimizasyonunda maliyet ve verim açısından değerlendirildiğinde %5 süzkroz konsantrasyonu yeterli görülmektedir.

4.2.4 THP üretimi için pH etkisi

Önceki çalışmalarda azot kaynağı olarak %1,5 nohut ekstraktı ve karbon kaynağı olarak %5 süzkroz belirlenmiş olup, bu sabit koşullar altında farklı pH düzeylerinin (pH 5, 6, 7 ve 8) *L. garvieae*'nin biyokütle üretimi üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla optimizasyon çalışmaları yürütülmüştür. pH etkisine dair sonuçlar Çizelge 4.27 ve 4.28'de verilmiştir.

Çizelge 4. 27 pH'nın THP üretim miktarına etkisi

pH	THP (g/L)			Ortalama $\pm$ SD
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	
5	0,684	0,714	0,682	0,693 $\pm$ 0,018
6	1,837	1,668	1,928	1,811 $\pm$ 0,132
7	2,348	2,383	2,211	2,314 $\pm$ 0,091
8	1,776	1,846	1,953	1,858 $\pm$ 0,089

Çizelge 4. 28 pH'nın THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
pH 5	pH 6	1,1177	0,0000	0,8768	1,3585
pH 5	pH 7	1,6207	0,0000	1,3798	1,8615
pH 5	pH 8	1,165	0,0000	0,9242	1,4058
pH 6	pH 7	0,503	0,0007	0,2622	0,7438
pH 6	pH 8	0,0473	0,9197	-0,1935	0,2882
pH 7	pH 8	-0,4557	0,0014	-0,6965	-0,2148

Yapılan ANOVA sonucunda pH seviyesinin mikrobiyal THP üretimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olduğu belirlenmiştir ($F(3,8) = 167.83$, $p < 0.0001$). Tukey HSD çoklu karşılaştırma testine göre, pH 7 seviyesi, diğer tüm gruplara kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek bir biyokütle verimi sağlamıştır. Bu durum, pH 7'nin hem metabolik aktiviteyi desteklemesi hem de hücrel büyüme teşvik eden en uygun ortam koşullarını sağlamasıyla açıklanabilir. Özellikle LAB'ların çoğu nötr pH seviyelerinde optimum büyüme göstermekte olup, bu sonuçlar da literatürde belirtilen optimum pH aralıkları ile uyumludur. Buna karşılık pH 5, hem ortalama değer hem de istatistiksel analizler açısından en düşük performansı göstermiştir. Bu da muhtemelen asidik koşulların enzimatik faaliyetleri baskılaması ve hücre bölünmesini yavaşlatmasıyla ilgilidir. pH 6 ve pH 8 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte,

her iki seviye de pH 7'ye göre daha düşük verim sergilemiştir. Bu bağlamda, hem biyolojik fizyoloji hem de istatistiksel güvenilirlik dikkate alındığında, THP üretimi için optimum pH seviyesinin pH 7 olduğu sonucuna varılmıştır.

L. garvieae suşlarının pH 2–3 gibi ekstrem asidik koşullarda hayatta kalabildiği, ancak maksimum büyümenin pH 7–9 aralığında gözlemlendiği bildirilmektedir (Patel ve ark., 2020). Farklı bir çalışmada *L. garvieae*'nin pH 9.6'ya kadar büyüebilme kapasitesine sahip olduğu ancak optimum büyümenin pH 7–9 aralığında olduğu vurgulanmaktadır (Rubião, 2018). Ayrıca geniş kapsamlı bir çalışmada, çoğu laktik asit bakterisinin optimum büyüme pH'ının nötr seviyeye yakın olduğunu ve bu nedenle çoğu LAB'nin neutrofilik kabul edildiğini vurgulanmaktadır (Icer ve ark., 2023). Literatür verisi ve deneysel sonuçlar pH 7'nin en yüksek THP verimini sağlamasını desteklemektedir. Asidik ortamların enzimatik faaliyetleri baskıladığı ve alkaline ortamların ise membran fonksiyonlarını zayıflattığı bilinmektedir. Bu yüzden pH 5'te THP sentezindeki düşüş, enzim aktivitesinin azalmasına ve hücresel enerji dengesinin bozulmasına bağlanabilir. Benzer şekilde pH 8'deki kısmi düşüş, bazik stresin metabolizmayı yavaşlatmasıyla açıklanabilir.

4.2.5 THP üretimi için inkübasyon sıcaklığı etkisi

İnkübasyon sıcaklığı, laktik asit bakterilerinin büyüme, metabolizma ve ürün sentezi üzerinde belirleyici rol oynayan temel çevresel faktörlerden biridir. Bu çalışmada, azot kaynağı olarak %1,5 nohut ekstraktı, karbon kaynağı olarak %5 süktroz ve pH değeri olarak 7 sabit tutulmuş, farklı sıcaklık seviyelerinin (30 °C, 37 °C, 40 °C ve 42 °C) *L. garvieae*'nin biyokütle üretimi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Sıcaklığın etkisine dair sonuçlar Çizelge 4.29 ve 4.30'de sunulmuştur.

Çizelge 4. 29 Sıcaklığın THP üretim miktarına etkisi

Sıcaklık	THP (g/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama $\pm$ SD
30 °C	0,998	0,988	1,013	1,0 $\pm$ 0,013
37 °C	2,208	2,288	2,212	2,236 $\pm$ 0,045
40 °C	1,877	2,078	1,841	1,932 $\pm$ 0,128
42 °C	1,798	1,853	1,914	1,855 $\pm$ 0,058

Çizelge 4. 30 Sıcaklığın THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
30°C	37°C	1,2363	0,0000	1,0430	1,4297
30°C	40°C	0,9323	0,0000	0,7390	1,1257
30°C	42°C	0,8553	0,0000	0,6620	1,0487
37°C	40°C	-0,3040	0,0044	-0,4973	-0,1107
37°C	42°C	-0,3810	0,0010	-0,5743	-0,1877
40°C	42°C	-0,0770	0,6014	-0,2703	0,1163

Elde edilen sonuçlara göre ortalama THP üretimi 30 °C’de $1,0 \pm 0,013$ g/L, 37 °C’de $2,236 \pm 0,045$ g/L, 40 °C’de $1,932 \pm 0,128$ g/L ve 42 °C’de $1,855 \pm 0,058$ g/L olarak bulunmuştur. ANOVA, sıcaklığın THP üretimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir faktör olduğunu ortaya koymuş ($p < 0.001$) ve Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi, 37 °C’nin diğer tüm sıcaklıklara kıyasla anlamlı derecede daha yüksek verim sağladığını göstermiştir. Özellikle 30 °C ile karşılaştırıldığında 37 °C’de yaklaşık %124 daha yüksek üretim elde edilmesi, bu sıcaklığın kullanılan suşun metabolik aktivitesi için optimum koşulu sağladığını ortaya koymaktadır. Sıcaklık grupları arasındaki karşılaştırmalarda 40 °C ve 42 °C değerleri birbirine yakın sonuçlar vermiş, ancak her iki sıcaklık da 37 °C’ye göre daha düşük biyokütle verimi ile sonuçlanmıştır. Bu durum, yüksek sıcaklıklarda ortaya çıkan termal stresin enzimatik aktiviteleri kısmen baskılaması ve hücrel metabolizmayı olumsuz etkilemesiyle açıklanabilir. Buna karşılık 30 °C gibi daha düşük sıcaklıklarda ise enzimatik reaksiyonların yavaşlaması ve metabolik hızın azalması, düşük verimle sonuçlanmıştır. Dolayısıyla, hem biyolojik fizyolojik hem de istatistiksel bulgular dikkate alındığında 37 °C’nin *L. garvieae* için optimum sıcaklık olduğu sonucuna varılabilir. Sıcaklık grupları arasındaki karşılaştırmalarda 40 °C ve 42 °C değerleri birbirine yakın sonuçlar vermiş, ancak her iki sıcaklık da 37 °C’ye göre daha düşük biyokütle verimi ile sonuçlanmıştır. Bu durum, yüksek sıcaklıklarda ortaya çıkan termal stresin enzimatik aktiviteleri kısmen baskılaması ve hücrel metabolizmayı olumsuz etkilemesiyle açıklanabilir. Buna karşılık 30 °C gibi daha düşük sıcaklıklarda ise enzimatik reaksiyonların yavaşlaması ve metabolik hızın azalması, düşük verimle sonuçlanmıştır.

Literatürde *L. garvieae*’nin 10–45 °C arasında gelişebildiği, ancak optimum büyüme aralığının genellikle 18–37 °C olduğu bildirilmiştir (Aguado-Urda ve ark., 2013). LAB’ların genelinde de benzer şekilde 20–40 °C aralığında optimum büyüme gözlenmekte, mezofilik türler çoğunlukla 30–37 °C’de maksimum verim sağlarken, termofilik türlerde bu değer 40 °C ve üzerine kaymaktadır (Sozzi ve ark., 1978). Ayrıca sıcaklık artışıyla birlikte membran akışkanlığının değişmesi, metabolit salınımı ve protein

sentezi üzerinde doğrudan etkiler oluşturmakta, aşırı sıcaklıklarda bu değişimler hücresel dengenin bozulmasına yol açmaktadır (Alighialo ve ark., 2019). Bu bağlamda, deneysel verilerimiz ile literatür bulguları arasında güçlü bir uyum bulunmaktadır.

4.2.6 THP üretimi için inkübasyon süresi etkisi

Önceki optimizasyon adımlarında azot kaynağı olarak %1,5 nohut ekstraktı, karbon kaynağı olarak %5 süktroz, pH 7 ve sıcaklık 37°C koşulları belirlenmiştir. Bu sabit şartlar altında, *L. garvieae* suşunun optimum biyokütle üretimini sağlayan inkübasyon süresini belirlemek amacıyla farklı süreler (24, 36, 48 ve 72 saat) değerlendirilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.31 ve 4.32’da sunulmuştur.

Çizelge 4. 31 İnkübasyon süresinin THP üretim miktarına etkisi

İnkübasyon Süresi (saat)	THP (g/L)			
	Tekrar 1	Tekrar 2	Tekrar 3	Ortalama ± SD
24	2,464	2,249	2,360	2,358 ± 0,108
36	2,399	2,334	2,435	2,389 ± 0,051
48	2,436	2,315	2,516	2,422 ± 0,101
72	2,533	2,623	2,833	2,663 ± 0,154

Çizelge 4. 32 İnkübasyon süresinin THP üretim miktarına etkisi için Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
24 Saat	36 Saat	0,0317	0,9838	-0,2551	0,3185
24 Saat	48 Saat	0,0647	0,8856	-0,2221	0,3515
24 Saat	72 Saat	0,3053	0,0374	0,0185	0,5921
36 Saat	48 Saat	0,0330	0,9817	-0,2538	0,3198
36 Saat	72 Saat	0,2737	0,0615	-0,0131	0,5605
48 Saat	72 Saat	0,2407	0,1034	-0,0461	0,5275

İstatistiksel analizler, inkübasyon süresinin THP üretimi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu göstermiştir (ANOVA, $p = 0,033$). Tukey HSD çoklu karşılaştırma testine göre, 72 saatlik inkübasyon süresi 24 saatlik inkübasyona kıyasla anlamlı derecede daha yüksek bir üretim sağlamıştır ($p = 0,037$). Ortalama değerlere bakıldığında, 24 saatlik inkübasyonda 2,358 g/L, 36 saatte 2,389 g/L, 48 saatte 2,422 g/L, 72 saatte ise 2,663 g/L üretim gerçekleşmiştir. İlk üç süre (24, 36 ve 48 saat) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$), ancak üretim değerlerinde kademeli bir artış eğilimi dikkat çekmektedir.

Biyolojik açıdan değerlendirildiğinde, *L. garvieae*’nin yaklaşık 72 saate kadar aktif bir şekilde büyüme ve protein sentezi faaliyetlerini sürdürebildiği anlaşılmaktadır. Bu süre zarfında ortam koşullarının, özellikle besin maddeleri ve pH düzeyinin, bakteri metabolizması için elverişli olduğu görülmektedir. 72 saatin ötesinde besin tükenmesi,

metabolit birikimi ve olası pH değişimleri gibi faktörler nedeniyle üretimin plato yapması veya azalması muhtemeldir (Alomar ve ark., 2008; Loforte ve ark., 2025; Weinberg ve ark., 2007). Dolayısıyla, bu sonuçlar 72 saatin *L. garvieae* için optimum inkübasyon süresi olduğunu desteklemektedir.

4.2.7 THP ve peyniraltı suyu karakterizasyonu

Üretilen THP'nin biyokimyasal kompozisyonu, biyoplastik üretiminde kullanılabilirliğini ve fonksiyonel özelliklerini belirleyen en önemli parametrelerden biridir. Bu kapsamda yağ, azot, protein, karbonhidrat ve kül içerikleri analiz edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.33'da sunulmuştur.

Çizelge 4. 33 THP içeriği

Parametre (%)	THP-1	THP-2	THP-3	Ortalama $\pm$ SD
Yağ	2,486	2,993	3,124	$2,868 \pm 0,337$
Azot	8,509	9,287	9,259	$9,018 \pm 0,441$
Protein	53,187	58,043	57,868	$56,366 \pm 2,754$
Karbonhidrat	18,223	19,113	16,675	$18,004 \pm 1,234$
Kül	9,879	10,543	11,241	$10,554 \pm 0,681$

THP'nin içerik özelliklerine ek olarak, kullanılan PAS'ın çevresel kirlilik parametreleri de değerlendirilmiş ve bu parametrelere ilişkin bulgular Çizelge 4.34'de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 34 PAS'ın kirlilik oranları

Parametre	Değer	Birim
Kimyasal Oksijen İhtiyacı	68,53	g/L
Toplam Katı Madde	65,37	g/L
Toplam Organik Karbon	52,75	g/L
Toplam Fosfor	286,7	mg/L
Toplam Azot	1149,9	mg/L
pH	4,6	

THP numunelerinden elde edilen sonuçlar, literatürde rapor edilen bileşim değerleriyle büyük ölçüde uyumluluk göstermektedir. Çalışmada belirlenen ortalama protein oranı %56,36 olup, bu değer bakteriyel kökenli THP için bildirilen %50–83 aralığıyla örtüşmektedir (FAO, 2025). Protein oranının yüksekliği, incelenen *L. garvieae* suşunun biyoteknolojik açıdan potansiyel bir protein kaynağı olduğunu ortaya koymaktadır. Ölçülen yağ oranı %2,87 düzeyinde olup, literatürde belirtilen %8–10 sınırının altında yer almaktadır (Demirel ve Demirel, 2018). Karbonhidrat içeriği ise %18,00 olarak saptanmış olup, literatürde bildirilen %9–34 aralığı içerisinde yer almaktadır (FAO, 2025). Bu durum, hücre duvarı polisakkaritlerinin önemli bir katkı

sunduğunu düşündürmektedir. Ayrıca %10,55 olarak hesaplanan kül oranı, literatürdeki %5–10 aralığının üst sınırında yer almaktadır (Demirel ve Demirel, 2018). Bu sonuç, incelenen biyokütlenin mineral açısından zengin olduğunu göstermektedir. Toplam azot içeriği %9,01 düzeyinde olup, bu değer bakteriyel THP’ler için rapor edilen %8–10 aralığıyla uyumludur. Dolayısıyla elde edilen bulgular, çalışmada kullanılan mikroorganizmanın yüksek protein üretim kapasitesine sahip olduğunu ve bileşim açısından literatür verileriyle tutarlı bir profil sergilediğini kanıtlamaktadır.

PAS’a ait karakterizasyon sonuçları da literatürde bildirilen tipik değerlerle büyük ölçüde örtüşmektedir. Ölçülen KOİ 68,53 g/L olup, literatürde bildirilen 50–102 g/L aralığına denk gelmektedir. Toplam katı madde (TKM) içeriği 65,37 g/L ile literatürde rapor edilen 55–70 g/L aralığında yer almakta; bu bulgu, PAS’ın yüksek organik madde yükünü açıkça yansıtmaktadır. Toplam organik karbon (TOC) 52,75 g/L olarak ölçülmüş olup, KOİ/TOC oranı yaklaşık 1,3 olarak hesaplanmıştır. Bu oran, organik kirliliğin büyük ölçüde karbonhidrat (özellikle laktoz) kaynaklı olduğunu göstermektedir. Azot parametresi açısından değerlendirildiğinde toplam azot (TN) değeri 1149,9 mg/L düzeyinde bulunmuş ve bu değer literatürde verilen 200–1760 mg/L aralığına karşılık gelmiştir. Bu sonuç, PAS’ın önemli bir azot kaynağı olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde toplam fosfor (TP) 286,7 mg/L olarak belirlenmiş olup, literatürde rapor edilen 120–530 mg/L aralığıyla uyumludur (Pires ve ark., 2021; Slavov, 2017). Bu bulgu, PAS’ın yalnızca organik kirlilik açısından değil, aynı zamanda fosfor geri kazanımı yönünden de değerli bir kaynak olduğunu göstermektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, elde edilen THP kompozisyonu, yüksek protein oranı ve düşük yağ içeriği ile literatür verileriyle uyumlu bulunmuştur. PAS ise yüksek KOİ, azot ve fosfor içeriği nedeniyle çevreye doğrudan deşarj edilmesinin ciddi riskler taşıdığı açıktır. Bununla birlikte PAS’ın, THP üretiminde karbon ve azot kaynağı olarak değerlendirilmesi, hem kirlilik yükünün azaltılmasına hem de sürdürülebilir biyoprotein üretimine olanak sağlayacak döngüsel ekonomi odaklı bir yaklaşım sunmaktadır.

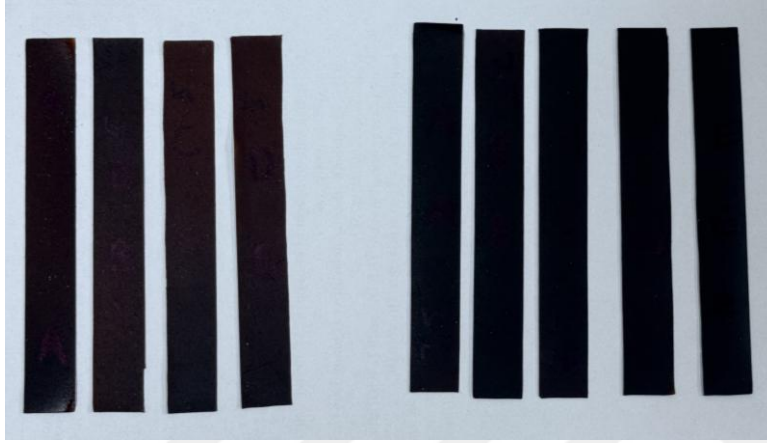
4.2.8 THP üretimi ve temelli biyoplastik karakterizasyonu

Bu bölümde sunulan bulgular, materyal ve metot kısmında ayrıntılı olarak açıklanan üretim protokolü doğrultusunda hazırlanmış biyoplastik numuneler üzerinde gerçekleştirilmiştir. THP temelli biyoplastikler, belirlenen optimum formülasyon

kullanılarak döküm yöntemiyle üretilmiş ve ardından mekanik özelliklerini değerlendirmek amacıyla standartlara uygun şekilde test edilmiştir.

4.2.8.1 Çekme mukavemeti analizi

Üretilen biyoplastiklerin mekanik performanslarını değerlendirmek amacıyla ASTM D882 standartlarına göre numuneler hazırlanmış (Şekil 4.1) çekme testleri uygulanmış ve bu testler sonucunda maksimum gerilme, maksimum kuvvet, uzama ve şekil değişimi gibi parametreler analiz edilmiştir (Çizelge 4.35 ve Çizelge 4.36).



Şekil 4. 1 ASTM D882 standartlarına göre hazırlanmış çekme numuneleri

Çizelge 4. 35 Nişasta ve THP temelli biyoplastiklere dair çekme mukavemeti analiz sonuçları

Numune	Max Gerilme (N/mm ²)	Max Kuvvet (N)	Yüzde Uzama (%)	Max Uzama (mm)
N %10A	31,583	54,685	4,403	1,981
N %10B	55,732	69,904	4,037	1,776
N %10C	46,219	63,218	3,942	1,844
N %10 (Ort. $\pm$ SD)	44,511 $\pm$ 12,165	62,602 $\pm$ 7,628	4,127 $\pm$ 0,243	1,867 $\pm$ 0,104
THP %5A	1,189	2,193	21,414	12,206
THP %5B	1,298	2,313	32,805	17,715
THP %5C	1,226	2,251	27,210	14,346
THP %5 (Ort. $\pm$ SD)	1,238 $\pm$ 0,056	2,252 $\pm$ 0,060	27,143 $\pm$ 5,696	14,755 $\pm$ 2,777
THP %7,5A	2,390	6,739	31,939	14,373
THP %7,5B	2,122	6,008	21,322	10,235
THP %7,5C	2,290	6,412	25,187	11,173
THP %7,5 (Ort. $\pm$ SD)	2,267 $\pm$ 0,136	6,386 $\pm$ 0,366	26,150 $\pm$ 5,374	11,927 $\pm$ 2,170
THP %10A	2,477	6,096	20,781	10,183
THP %10B	2,737	5,754	28,868	13,280
THP %10C	2,597	5,931	24,516	11,421
THP %10 (Ort. $\pm$ SD)	2,604 $\pm$ 0,130	5,927 $\pm$ 0,171	24,722 $\pm$ 4,048	11,628 $\pm$ 1,559
THP %12,5A	7,514	12,692	14,509	7,110
THP %12,5B	6,796	15,966	22,977	10,340
THP %12,5C	7,108	14,039	18,218	8,547
THP %12,5 (Ort. $\pm$ SD)	7,139 $\pm$ 0,360	14,232 $\pm$ 1,646	18,568 $\pm$ 4,244	8,665 $\pm$ 1,618

Çizelge 4. 36 Çekme testi için Tukey HSD testi sonuçları

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
THP %10	THP %12,5	4,5355	0,0000	3,9992	5,0718
THP %10	THP %5	-1,3662	0,0002	-1,9025	-0,8299
THP %10	THP %7,5	-0,3363	0,2612	-0,8726	0,1999
THP %12,5	THP %5	-5,9017	0,0000	-6,4380	-5,3654
THP %12,5	THP %7,5	-4,8718	0,0000	-5,4081	-4,3356

ANOVA ve Tukey HSD analizleri, THP katkılı biyoplastik gruplar arasında maksimum gerilme değerlerinde anlamlı farklılıklar bulunduğunu göstermektedir ($p < 0.001$). Özellikle %12,5 THP içeren filmler, %10, %7,5 ve %5 katkılı örneklerle kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek çekme dayanımı sergilemiştir. Tukey testi sonuçları, %12,5 grubunun tüm diğer oranlardan ayrıştığını doğrulamaktadır. Buna karşılık %10 ve %7,5 grupları arasında fark gözlenmemesi, bu iki seviyede mekanik dayanım açısından bir eşik noktasına ulaşıldığını düşündürmektedir. Dolayısıyla dayanımın artışı lineer olmayıp, belirli katkı düzeylerinde sıçramalı bir eğilim izlemekte; bu bağlamda optimum THP oranının %12,5 düzeyine yakın olduğu anlaşılmaktadır.

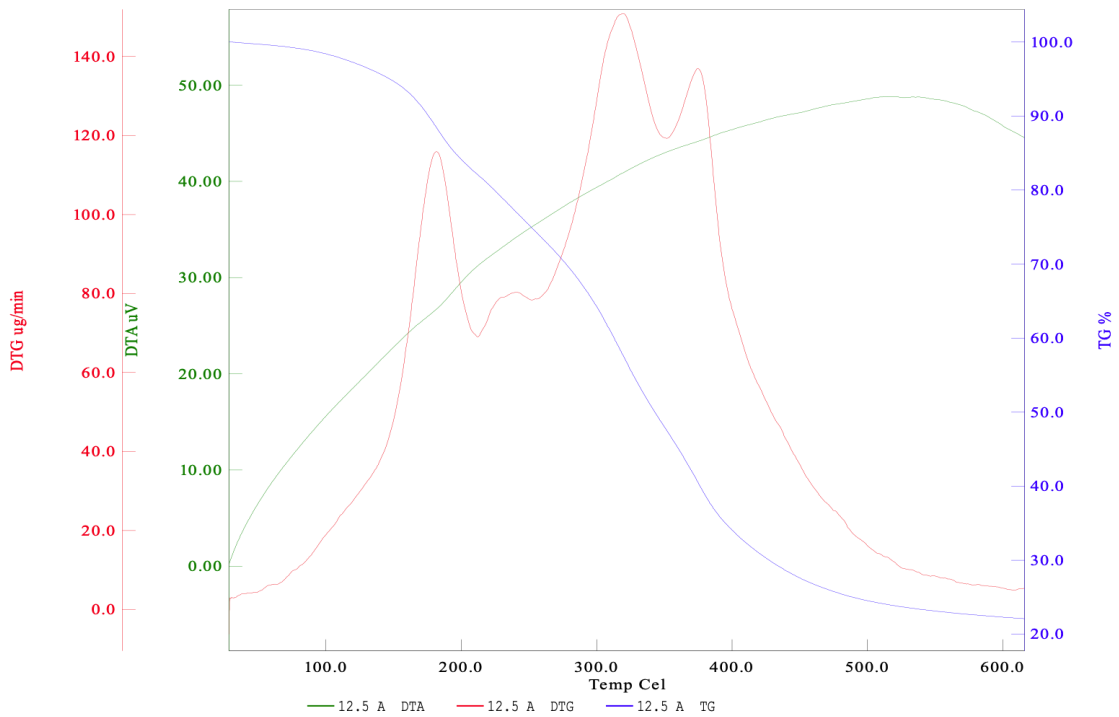
Mekanik test verilerine göre, THP oranı yükseldikçe çekme dayanımı artmış, ancak uzama kabiliyeti azalmıştır. %5 katkılı filmlerde çekme mukavemeti yaklaşık 1,2–1,3 MPa düzeyindeyken, %12,5 katkıda 6,8–7,5 MPa aralığına ulaşmıştır. Buna karşılık uzama değerleri %21–32 aralığından %15–23 düzeyine düşmüştür. En yüksek dayanım %12,5A formülasyonunda (~7,5 MPa), en yüksek uzama ise %5B ve %7,5A formülasyonlarında kaydedilmiştir. Bu bulgular, THP oranının mekanik performans üzerinde belirleyici olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

Elde edilen sonuçlar literatür verileriyle karşılaştırıldığında, THP temelli biyoplastiklerin performansı belirli yönlerden öne çıkmaktadır. Soy proteini temelli filmlerin çekme dayanımının 1,6–3,5 MPa arasında değiştiği, buğday gluteni filmlerinde ise 4,26–8,96 MPa değerleri rapor edilmiştir (Mohammadi ve ark., 2023; Nandane ve Jain, 2015). Mikroalg kaynaklı PHB filmlerinde çekme dayanımı 1,62 MPa düzeyinde olup, %530 gibi oldukça yüksek uzama göstermiştir. Bu esneklik gliserol varlığı ile açıklanmaktadır (Abdo ve ark., 2024). Mikroalg–gluten karışımlarında 4,9 MPa dayanım ve %22 uzama bildirilmiş, mikroalg–PBAT ve mikroalg–PLA filmlerinde ise dayanımlar sırasıyla 21 MPa ve 45 MPa olarak kaydedilmiştir (Ciapponi ve ark., 2019; Torres ve ark., 2015). Nişasta bazlı filmler çoğunlukla 0,3–17,74 MPa aralığında dayanım sergilemekte, kenaf lifi takviyesi ile değer 17,74 MPa’a kadar yükselmektedir (Hazrol ve ark., 2022).

Bu veriler ışığında, %12,5 THP katkılı biyoplastikler soy proteini ve nişasta filmleriyle kıyaslandığında daha yüksek çekme dayanımı göstermekte, gluten filmleriyle benzer veya kısmen daha düşük değerler sergilemektedir. Uzama değerleri ise protein ve nişasta temelli sistemlere göre daha düşük kalmaktadır. Bu durum, THP katkısının biyoplastik matrisini mekanik açıdan güçlendirdiğini, ancak esnekliği sınırladığını göstermektedir. Dolayısıyla THP oranı, mukavemet-esneklik dengesinin belirlenmesinde kritik bir parametre olarak değerlendirilmektedir.

4.2.8.2 Termal kararlılık

Termal analizler, biyoplastiklerin ısıl dayanım özelliklerini belirlemek ve malzeme bileşenlerinin bozunma davranışlarını anlamak açısından kritik öneme sahiptir. Bu bağlamda, Termogravimetrik Analiz (TGA) ve Türev Termogravimetrik (DTG) eğrileri kullanılarak biyoplastiklerin sıcaklık karşısında sergilediği kütle kayıpları detaylı biçimde incelenmiştir. Çalışmamızda %12,5 oranında THP içeren biyoplastik örnekleri, ısıl kararlılığının değerlendirilmesi amacıyla TGA cihazında 30–600 °C sıcaklık aralığında analiz edilmiştir. Şekil 4.2’de elde edilen TG, DTG ve DTA verileri; biyoplastik matrisinin su içeriği, düşük molekül ağırlıklı uçucu bileşenleri, protein yapıları ve katkı maddeleri gibi bileşenlerinin ayrışma sıcaklıklarını ortaya koymakta ve yapısal stabiliteye dair önemli bilgiler sunmaktadır.

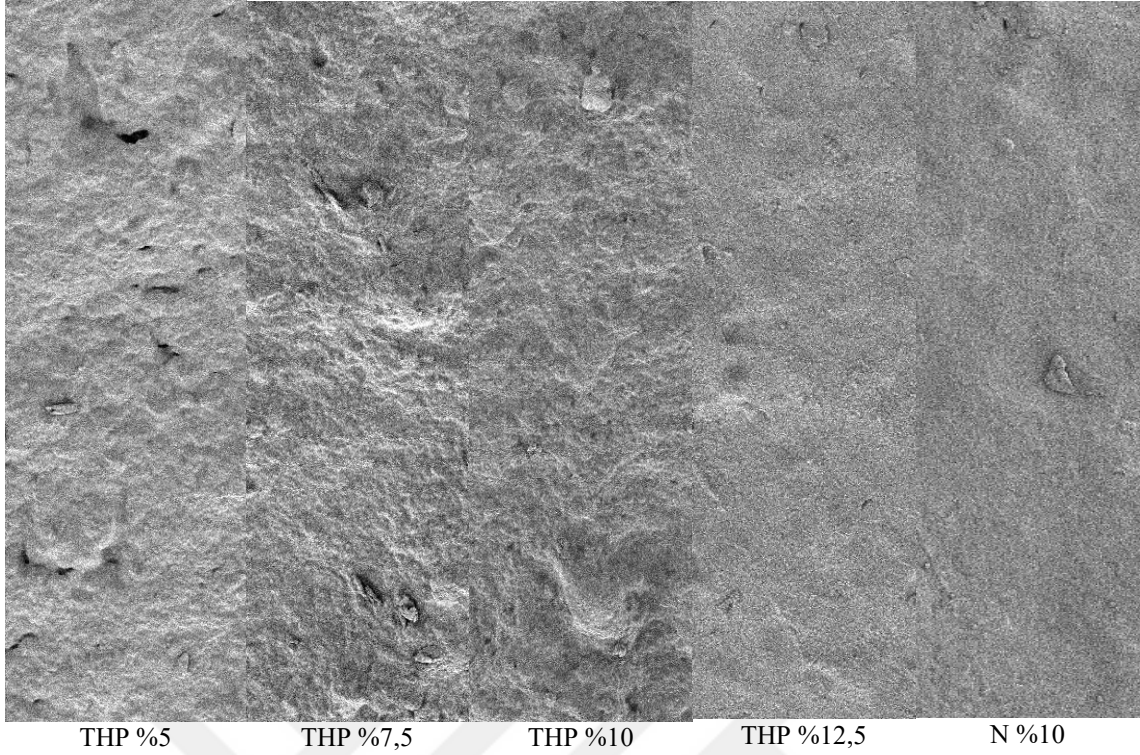


Şekil 4. 2 %12,5 THP içeren biyoplastiğin TGA analiz diyagramı

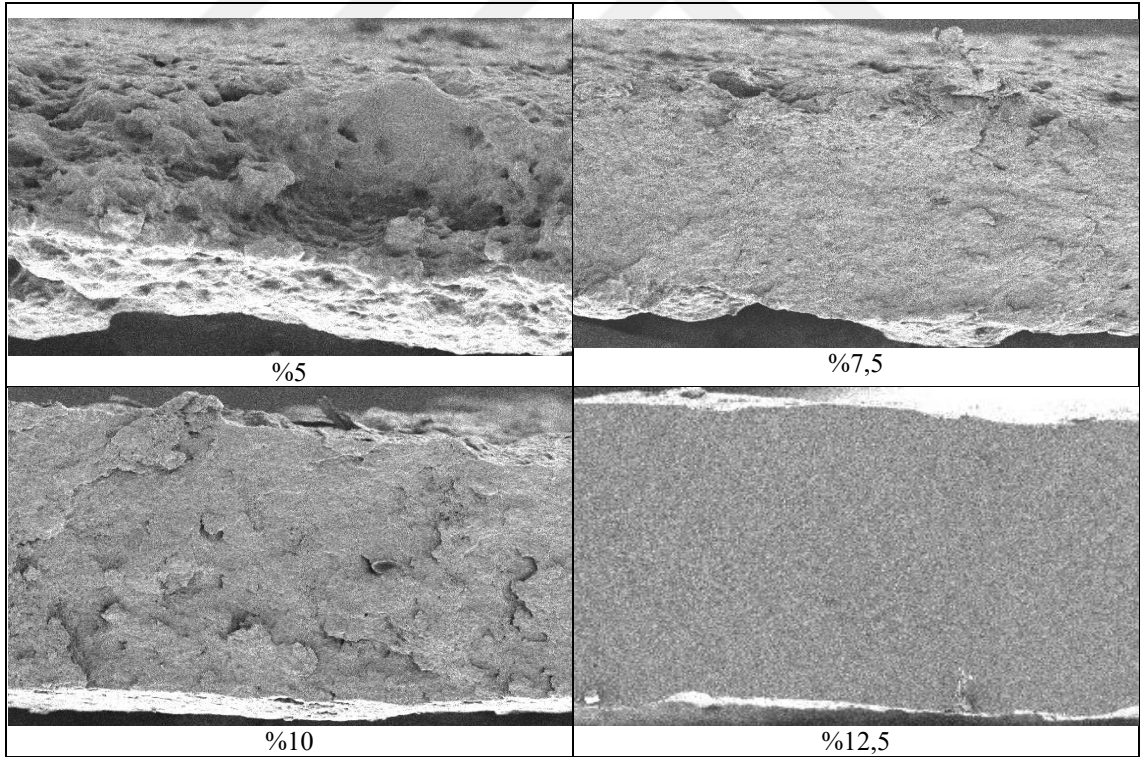
%12.5 oranında THP içeren biyoplastiğe ait TGA eğrisi incelendiğinde, toplamda yaklaşık %70'lik bir kütle kaybı gözlemlenmiştir. TG eğrisinde üç ana bozunma evresi saptanmıştır. İlk evre 50–150 °C aralığında olup, bu bölgede yaklaşık %10'luk bir kütle kaybı meydana gelmiş ve bu kayıp, genellikle nemin ve düşük moleküllü uçucu bileşiklerin uzaklaşmasıyla ilişkilendirilmiştir. İkinci evre 200–400 °C aralığında gerçekleşmiş ve burada kütle kaybı daha keskin ve belirgin şekilde ilerlemiştir. Bu evre, THP'nin protein yapılarıyla biyoplastik matrisinin (örneğin, jelatin ve gliserol gibi katkılar) termal bozunmasına karşılık gelmektedir. DTG eğrisi bu sıcaklık aralığında iki belirgin pik göstermekte olup, bu da iki farklı bileşenin ardışık olarak bozunduğunu göstermektedir. Üçüncü evre 400 °C'den sonra başlamış ve 600 °C'ye kadar devam etmiştir; bu evrede kütle kaybı daha yavaş seyretmiş olup karbonlu kalıntıların (char) bozunmasıyla ilişkilidir. DTA eğrisi incelendiğinde, endodermik karakterli bir tepe 300–350 °C civarında saptanmış ve bu tepe THP içeriğinin bozunmasına işaret etmektedir. Genel olarak %12.5 THP içeren biyoplastiğin termal stabilitesinin, ikinci bozunma evresine kadar yüksek olduğu ve bu durumun protein esaslı yapıların biyoplastiğe katkı sağladığını göstermektedir. Bu veriler, materyalin ısı işlem göreceği veya sterilizasyon gibi termal proseslere maruz kalacağı uygulamalarda dayanıklılığını değerlendirmek açısından önem arz etmektedir.

4.2.8.3 SEM analizi

Biyoplastiklerin fiziksel, mekanik ve mikrobiyal direnç özellikleri büyük ölçüde yüzey morfolojisiyle ilişkilidir. Bu nedenle, farklı oranlarda THP içeren biyoplastiklerin mikro yapılarındaki değişimlerin görselleştirilmesi önem arz etmektedir. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), biyopolimer matrislerinin yüzey topografyasını yüksek çözünürlükte ortaya koyarak dolgu maddesi-matris etkileşimlerini analiz etmede yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, %5, %7,5, %10 ve %12,5 oranlarında THP içeren biyoplastiklere ait yüzey morfolojileri SEM cihazından alınan 250x büyütme ile Şekil 4.3'de temsil edilmiştir. Kontrol grubu olarak yalnızca %10 nişasta içeren biyoplastiklerle karşılaştırılmıştır. Ayrıca Şekil 4.4'te çekme testi kırılma noktalarının kesit görüntüleri sunulmuştur. Elde edilen görüntüler, THP oranına bağlı olarak oluşan yüzey yapılarını hem görsel hem de yapısal açıdan ortaya koymaktadır.



Şekil 4. 3 Biyoplastik yüzeylerine ait SEM görüntüleri (250x)



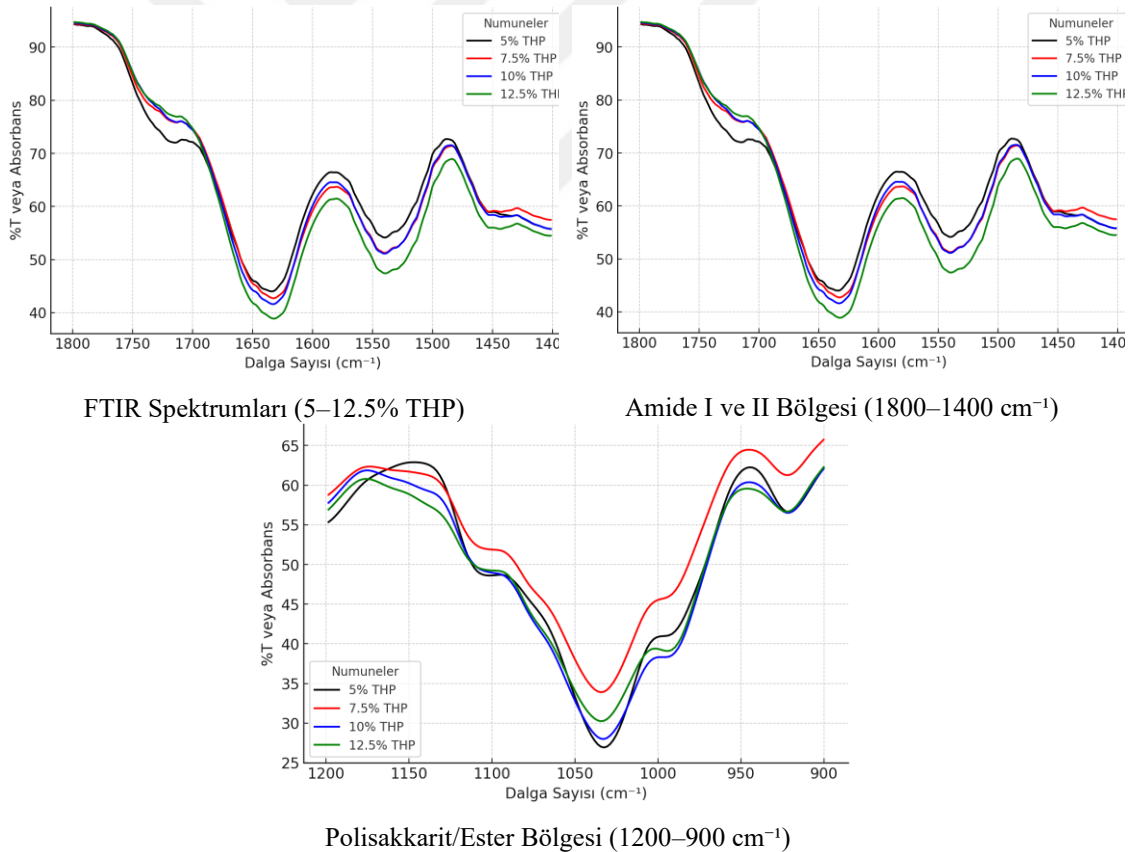
Şekil 4. 4 Biyoplastiklerin Kırılma Noktalarına Ait SEM Görüntüleri (250x)

Çekme testi sonrasında elde edilen kırılma yüzeylerinin SEM analizine göre, biyoplastik matrisinde THP oranı arttıkça kırılma davranışında anlamlı değişiklikler gözlemlenmiştir. %5 THP içeren biyoplastikte düzensiz, lifsi ve gevşek bir kırılma yüzeyi

dikkat çekerken, %7,5 ve %10 oranlarında matris daha kompakt bir yapıya evrilmiş; ancak yüzeyler hâlâ gözenekli ve parçalanabilir özellikler taşımıştır. %12,5 THP içeren biyoplastik örneğinde ise kırılma yüzeyi son derece homojen, düzgün ve yoğun bir yapıya sahip olup plastik matrisin kırılma sırasında enerjiyi daha etkili dağıttığını ve daha rijit bir yapı kazandığını göstermektedir. Bu durum, artan THP konsantrasyonunun biyoplastik yapısına mekanik dayanım ve kompaktlık kazandırdığını; ayrıca polimer ağ içindeki etkileşimleri kuvvetlendirdiğini ortaya koymaktadır. SEM görüntüleri genel olarak, THP katkısının biyoplastiklerin morfolojik yapısını iyileştirdiğini ve daha kararlı bir kırılma profili sağladığını göstermektedir.

4.2.8.4 FT-IR analizi

%5, 7.5, 10 ve 12.5 oranlarında THP içeren biyoplastik numunelerin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara ait grafikler Şekil 4.5'te sunulmuştur.



Şekil 4. 5 Biyoplastiklerin FT-IR Yüzey Analizleri

Elde edilen spektrumlarda tüm numuneler için 3300–3500 cm⁻¹ aralığında geniş bir bant gözlenmiştir. Bu bant, hidroksil (–OH) ve amin (–NH) gruplarına ait gerilmelere karşılık gelmektedir (Barth, 2007). Bu durum THP'nin proteik yapısının jelatin ve

gliserol katkılarıyla birlikte matrise entegre olduğunu göstermektedir. 2920–2850 cm^{-1} aralığında gözlenen bantlar alifatik C–H gerilmelerine karşılık gelmektedir ve plastikleştirici etkisi bulunan gliserol ile polimer zincirlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Abdelrazzak ve ark., 2021; Sánchez ve ark., 2020). 1700–1600 cm^{-1} 'deki Amide I (temel olarak C=O gerilmesi) ve ~1550 cm^{-1} civarındaki Amide II (N–H bükülmesi/C–N gerilmesi) bantlarının, THP oranı arttıkça belirginleşmesi proteik fazın matrise daha fazla entegre olduğunu ve ikincil yapı/etkileşim yoğunluğunun arttığını düşündürmektedir (Kafle ve ark., 2023; Usoltsev ve ark., 2019). Özellikle %10 ve %12.5 THP içeren filmlerde bu şiddet artışı protein-temelli filmlerde Amide I/II bölgelerinin formülasyon ve içerik değişikliklerine duyarlı olduğuna dair literatürle uyumludur (Harrazi ve ark., 2024; Muyonga ve ark., 2004). Ayrıca, THP/SCP içeriği yükseldikçe Amide bölgelerindeki artışın raporlandığı SCP-temelli biyoplastik çalışmalarına paralel sonuçlar elde edilmiştir (Singha ve ark., 2021). 1200–1000 cm^{-1} aralığında görülen yoğun bantlar C–O–C köprüleri ve C–O titreşimleri ile ilişkilidir; bu bölgedeki artış, protein–gliserol–sitrik asit/polisakkarit etkileşimlerinin (esterleşme ve/veya hidrojen bağları dâhil) güçlendiğine işaret edebilir (Fadlelmoula ve ark., 2022; Skopinska-Wisniewska ve ark., 2021). Genel olarak bu bulgular, THP konsantrasyonu arttıkça protein kaynaklı Amide I/II sinyallerinin ve 1200–1000 cm^{-1} bölgesindeki titreşimlerin şiddetlendiğini; bunun da THP'nin biyoplastik matrise entegrasyonunun ve bağ çeşitliliğinin güçlendiğini göstermektedir (Usoltsev ve ark., 2019).

4.2.8.5 Suda çözünürlük, nem içeriği ve biyobozunum analizi

Biyoplastiklerin çevresel sürdürülebilirliğini değerlendirmek açısından, hem suda çözünürlük özellikleri hem de toprak ortamındaki biyobozunabilirlik performansları büyük önem taşımaktadır. Suda çözünürlük, biyoplastiklerin özellikle suyla temas eden ambalaj uygulamalarında nasıl bir davranış sergileyeceğini ortaya koyarken; nem içeriği, ürünün yapısal stabilitesi, raf ömrü ve mekanik özellikleri üzerinde doğrudan belirleyici bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Öte yandan, toprakta biyobozunma analizi, biyoplastiklerin doğada parçalanma hızını ve mikrobiyal ayrışmaya karşı duyarlılığını belirlemek amacıyla yürütülen temel çevresel testlerden biridir. Bu bağlamda, farklı oranlarda THP içeren biyoplastik örneklerinin hem suda çözünürlük-nem içeriği (Çizelge 4.37) hem de toprakta 30 günlük biyobozunma profilleri (Çizelge 4.38) incelenmiş; böylece formülasyondaki protein oranının çevresel bozunabilirlik üzerindeki etkisi kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4. 37 Suda çözünürlük ve nem içeriği analizi sonuçları

Film Tipi	Başlangıç Ağırlığı [g]	Çözünürlük (%)	Çözünme Süresi (saat)	Nem İçeriği (%)
THP %5	1.10	100	2.0	20.5 ± 1.0
THP %7,5	1.21	100	2.5	19.0 ± 1.2
THP %10	1.19	100	3.0	17.0 ± 1.5
THP %12,5	1.12	100	4.0	15.2 ± 1.4

Çizelge 4.37’te yer alan verilere göre, tüm biyoplastik örneklerinin suda %100 çözünürlük gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum, kullanılan biyopolimer matrisin yüksek derecede hidrofilik karakter taşıdığını ve suda tamamen çözünebildiğini göstermektedir. Ancak çözünme sürelerinde belirgin bir farklılaşma mevcuttur: THP oranı arttıkça çözünme süresi de uzamıştır. %5 THP içeren biyoplastik 2 saatte tamamen çözünürken, %12,5 THP içeren örnek 4 saatlik bir sürede çözünmüştür. Bu eğilim, artan THP miktarının biyoplastik matrisinde daha sıkı bir yapısal ağ oluşturduğunu ve suyun difüzyonunu kısıtladığını düşündürmektedir. Benzer şekilde, nem içeriği de artan THP oranı ile azalma eğilimi göstermiştir. %5 THP içeren örnek $20,5 \pm 1,0$ nem içerirken, %12,5 THP içeren örnek $15,2 \pm 1,4$ nem içeriğine sahiptir. Bu durum, protein yapılarının su tutma kapasitesindeki azalmanın ve matrisin daha kompakt hale gelmesinin bir sonucu olarak yorumlanabilir. Bu veriler, hem biyolojik hem de fizikokimyasal açıdan, artan THP oranının biyoplastiklerin çözünme davranışını ve nem dengesi özelliklerini anlamlı şekilde etkilediğini göstermektedir.

Biyobozunum analizinde 30 ve 60 günlük süreçleri tamamlanan biyoplastik numunelere dair sonuçlar Çizelge 4.38 ve bunlara ilişkin istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.39’da verilmiştir.

Çizelge 4. 38 Biyoplastiklerin 30 ve 60 günlük toprakta biyobozunum analizi sonuçları

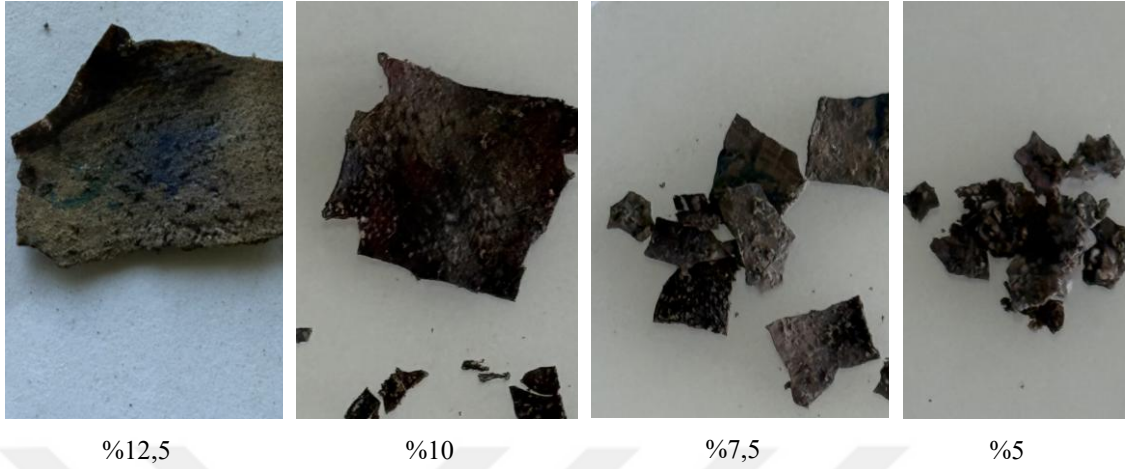
Numune	İlk Ağırlık (g)	30 Gün Ağırlık (g)	Kütle Kaybı 30g (%)	60 Gün Ağırlık (g)	Kütle Kaybı 60g (%)
THP %5a	0,1732	0,0676	60,9	0,0268	84,5
THP %5b	0,1660	0,0593	64,3	0,0227	86,3
THP %5c	0,1839	0,0688	62,6	0,0275	85,0
THP %5 (Ort. $\pm$ SD)	0,1744 $\pm$ 0,0090	0,0652 $\pm$ 0,0049	62,6 $\pm$ 1,7	0,0257 $\pm$ 0,0025	85,3 $\pm$ 0,9
THP %7,5a	0,1764	0,0568	67,9	0,0201	88,6
THP %7,5b	0,2448	0,0822	66,5	0,0298	87,8
THP %7,5c	0,1743	0,0695	60,1	0,0217	87,5
THP %7,5 (Ort. $\pm$ SD)	0,1985 $\pm$ 0,0400	0,0695 $\pm$ 0,0128	64,8 $\pm$ 4,2	0,0239 $\pm$ 0,0051	88,0 $\pm$ 0,6
THP %10a	0,1801	0,0911	49,4	0,0475	73,6
THP %10b	0,1646	0,0746	54,7	0,0353	78,5
THP %10c	0,1662	0,0803	51,7	0,0410	75,3
THP %10 (Ort. $\pm$ SD)	0,1703 $\pm$ 0,0086	0,0820 $\pm$ 0,0083	51,9 $\pm$ 2,7	0,0413 $\pm$ 0,0061	75,8 $\pm$ 2,5
THP %12,5a	0,2122	0,1197	43,6	0,0687	67,6
THP %12,5b	0,1778	0,1087	38,9	0,0686	61,4
THP %12,5c	0,3485	0,2054	41,1	0,1209	65,3
THP %12,5 (Ort. $\pm$ SD)	0,2462 $\pm$ 0,0916	0,1446 $\pm$ 0,0543	41,2 $\pm$ 2,4	0,0861 $\pm$ 0,0306	64,8 $\pm$ 3,1

Çizelge 4. 39 60 günlük biyobozunum sonuçlarına ilişkin Tukey HSD testi sonuçları

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
THP %5	THP %7,5	2,70	0,4325	-2,72	8,12
THP %5	THP %10	-9,47	0,0023	-14,89	-4,04
THP %5	THP %12,5	-20,50	0,0000	-25,92	-15,08
THP %7,5	THP %10	-12,17	0,0004	-17,59	-6,74
THP %7,5	THP %12,5	-23,20	0,0000	-28,62	-17,78

Çizelge 4.38 ve 4.39’da verilen 30 ve 60 günlük biyobozunum analizleri ile gerçekleştirilen ANOVA ve Tukey HSD testleri, biyoplastiklerin biyobozunurluğu üzerinde kullanılan formülasyonun önemli etkileri olduğunu göstermektedir. İstatistiksel analizler, gruplar arasında anlamlı farklılıkların bulunduğunu doğrulamıştır ($p < 0,001$). Özellikle %5 ve %7,5 gruplarında yüksek biyobozunum oranları elde edilirken, %10 ve %12,5 gruplarında biyobozunum oranlarının belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, protein oranı arttıkça biyoplastik matrisin daha kompakt ve mikroorganizmalara karşı dirençli bir yapıya dönüştüğünü ortaya koymaktadır. Tukey HSD testi sonuçları ayrıntılı olarak incelendiğinde, %5 ile %7,5 grupları arasında biyobozunum açısından anlamlı bir fark bulunmadığı, buna karşılık bu iki grup ile %10 ve %12,5 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmüştür. Özellikle %12,5 grubunun tüm gruplara kıyasla en düşük biyobozunum değerlerine sahip olması, yüksek protein oranının biyobozunurluğu sınırlayıcı bir faktör olduğunu göstermektedir. Buna karşın %5 ve %7,5

gruplarındaki yüksek biyobozunum oranları, daha gevşek ve mikroorganizmaların kolayca parçalayabildiği bir polimerik ağ yapısına işaret etmektedir.



Şekil 4. 6 30 günlük biyobozunum sonunda THP temelli biyoplastik görüntüleri

4.3. Antimikrobiyal Biyoplastik Üretimi

Biyoplastiklere işlevsellik kazandırmak amacıyla %12.5 THP içeren biyoplastik matrisine SH-EY ağırlıkça %1, %2 ve %3 oranlarında ilave edilerek mekanik ve fonksiyonel özellikleri değerlendirilmiş, SH-EY katkısının malzeme performansına etkileri sistematik olarak incelenmiştir.

4.3.1 Antimikrobiyal biyoplastik çekme mukavemeti testi

Çalışmanın bu aşamasında THP ve SH-EY içeren biyoplastik numunelerin çekme mukavemeti testleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler, biyoplastiklerin gerilme dayanımı, maksimum kuvvet, yüzde uzama, maksimum uzama miktarı ve toplam şekil değişimi gibi temel mekanik parametreler üzerinden değerlendirilmiştir. İlgili sonuçlar Çizelge 4.40’da buna dair istatistiksel karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.41’de verilmiştir. Bu testler sayesinde, materyalin elastikiyet, dayanıklılık ve şekil esnekliği gibi karakteristikleri detaylı şekilde ortaya konmuştur.

Çizelge 4. 40 THP-SH-EY temelli biyoplastiklere dair çekme mukavemeti analiz sonuçları

Numune	Gerilme (N/mm ²)	Maks. Kuvvet(N)	Yüzde Uzama(%)	Maks. Uzama(mm)	Şekil Değişimi(mm)
%1 SH-EY	6.1755	12.9585	18.2367	9.7135	9.7135
%2 SH-EY	2.7845	6.4876	24.30	10.3497	10.3497
%2 SH-EY	3.4164	7.3154	22.1076	13.2294	13.2294
%3 SH-EY	0.3307	2.32061	12.3722	7.79448	7.79448
%3 SH-EY	0.4235	3.3791	16.0521	8.56110	8.56110

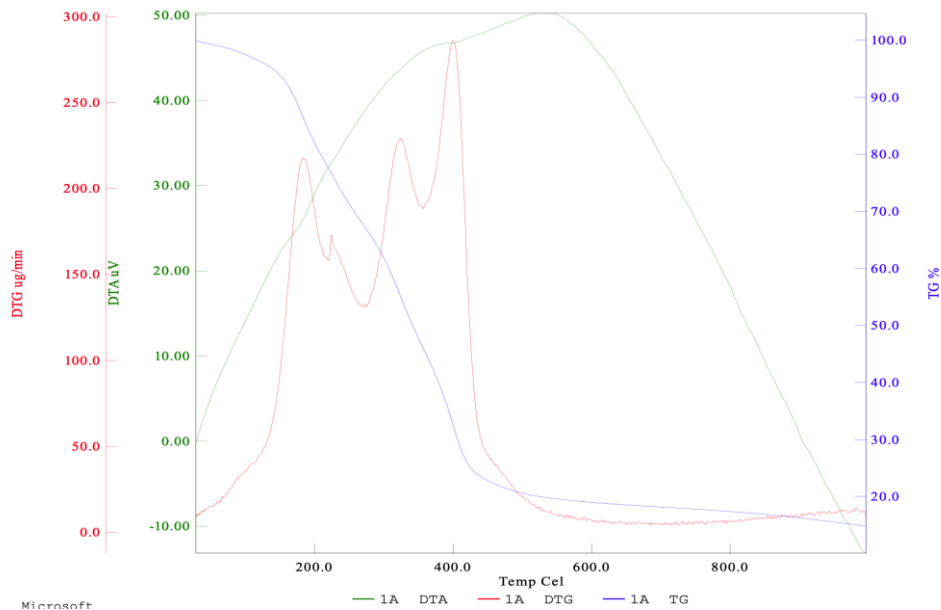
Çizelge 4. 41 THP-SH-EY çekme testi sonuçlarına ilişkin Tukey HSD testi sonuçları

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
%1 SH-EY	%2 SH-EY	0.579	0.309	-0.924	2.083
%1 SH-EY	%3 SH-EY	5.799	0.009	4.295	7.304
%2 SH-EY	%3 SH-EY	5.220	0.012	3.716	6.725

Çizelge 4.41’de gerilme verileri üzerinden yapılan ANOVA, farklı SH-EY oranlarının biyoplastiklerin gerilme dayanımı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur ($p < 0.01$). Çizelge 4.41’de gösterildiği gibi Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre %1 SH-EY içeren numuneler, %2 ve %3 SH-EY içeren numunelere kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek gerilme değerleri göstermiştir. Özellikle %3 SH-EY içeren numunelerde gerilme değerinin ciddi oranda düştüğü görülmüştür. Bu durum, SH-EY ilavesinin artan oranlarda yapılmasının yapısal bütünlüğü olumsuz etkilediğini ve biyoplastik matrisinin zayıflamasına yol açtığını göstermektedir. Öte yandan, %1 SH-EY ilavesiyle elde edilen biyoplastiklerin, hem istatistiksel hem de biyolojik olarak en iyi mekanik performansa sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, optimal gerilme dayanımı açısından %1 SH-EY oranının en uygun formülasyon olduğu söylenebilir.

4.3.2 Antimikrobiyal biyoplastik termal kararlılık analizi

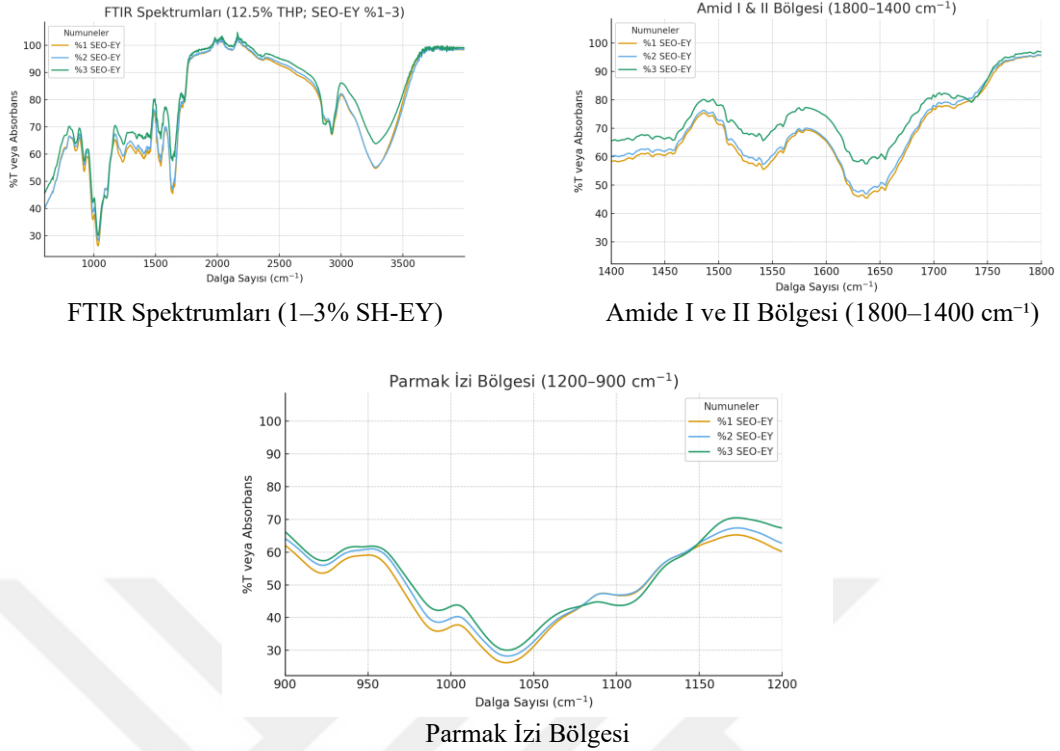
Antimikrobiyal biyoplastik için çekme mukavemeti açısından optimum görülen %1 SH-EY katkılı malzeme için termal kararlılık testi yapılmış ve sonuçları Şekil 4.6’da sunulmuştur.

**Şekil 4. 7** %12,5 THP ve %1 SH-EY içeren biyoplastiğin TGA analiz diyagramı

%1 SH-EY içeren biyoplastik numunesine ait TGA analizi sonuçları, numunenin çok aşamalı bir termal bozunma mekanizmasına sahip olduğunu ortaya koymaktadır. TG eğrisi, yaklaşık 100 °C ile 500 °C arasında toplam kütlenin %80'ine yakın kısmının kaybedildiğini göstermiştir. Bu kütle kaybının ilk evresi (~100–200 °C), numune içeriğinde bulunan serbest su ve uçucu bileşenlerin (özellikle esansiyel yağların) buharlaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. İkinci kütle kaybı evresi (~200–450 °C) ise biyopolimer matrisin (özellikle protein ve polisakkarit yapılar) ısıl ayrışması ile ilişkilidir. DTG eğrisinde bu ayrışma davranışını destekleyen üç farklı pik gözlemlenmiştir: yaklaşık 200–220 °C'de ilk pik, 310–330 °C'de ikinci ve 390–410 °C'de üçüncü pik oluşmuştur. Bu pikler sırasıyla uçucu bileşiklerin ayrışması, biyopolimer matrisin bozunması ve daha stabil karbonize yapıların parçalanmasını temsil edebilir. DTA eğrisinde ise yaklaşık 500 °C civarında maksimum bir endotermik tepe görülmüş, bu da biyoplastığın karbonizasyon sürecine girdiği sıcaklık aralığını işaret etmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, esansiyel yağ katkısının biyoplastığın ısıl davranışını etkilediğini, özellikle ilk ayrışma sıcaklığı ve termal kararlılık üzerinde belirgin bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

4.3.3 Antimikrobiyal biyoplastik FT-IR analizi

Bu çalışmada, %12.5 THP bazlı biyoplastik filmlerine farklı oranlarda esansiyel yağ katkısı (SH-EY %1, %2 ve %3) yapılmış ve katkının matris üzerindeki etkileri FTIR analiziyle incelenmiştir. Elde edilen spektrumlar, protein omurgasına ait temel fonksiyonel grupların korunduğunu göstermektedir (Şekil 4.7).



Şekil 4. 8 Antimikrobiyal biyoplastiklerin FT-IR yüzey analizleri

Elde edilen FTIR spektrumlarında tüm numuneler için $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$ civarında geniş bir bant gözlenmiştir. Bu bant proteinlerdeki $-\text{NH}$ gerilmeleri (amide-A) ve $-\text{OH}$ gerilmeleri ile hidrojen bağlarını işaret eder ve protein-temelli sistemlerde karakteristiktir (Kamnev ve ark., 2021). Katkı oranı arttıkça bu bandın genişliği/şiddetindeki değişimler, fenolik bileşiklerin hidrojen bağları aracılığıyla matrise etkileşimini düşündürmektedir (Wongsa ve ark., 2022). Ayrıca $2920\text{--}2850 \text{ cm}^{-1}$ aralığındaki bantlar doymuş alifatik grupların C-H gerilmelerine ($-\text{CH}_2$ asim. ≈ 2920 ; sim. $\approx 2850 \text{ cm}^{-1}$) karşılık gelir; bu bölge protein/biyopolimer filmlerinde ve gliserol gibi plastikleştiriciler varlığında tipiktir. 1730 cm^{-1} civarında gözlenen karbonil sinyali ester gruplarına atfedilir ve sitrik asit gibi çapraz bağlayıcılarla ester oluşumu raporlarıyla uyumludur (Al-Kelani ve Buthelezi, 2024; Barbosa de Almeida ve ark., 2010). Amide I ($\sim 1640 \text{ cm}^{-1}$; esasen C=O gerilmesi) ve Amide II ($\sim 1540 \text{ cm}^{-1}$; N-H bükülmesi/ C-N gerilmesi) bölgelerinde katkı oranına bağlı bant şiddeti ve biçim değişimleri saptanmıştır; proteinlerde Amide bantlarının bileşim/ikincil yapı değişimlerine duyarlı olduğu bilinmektedir (Barth, 2007; Lorenz-Fonfria, 2020). Özellikle %2 ve %3 SH-EY katkı filmlerde aromatik C=C titreşimlerinin ($\sim 1600\text{--}1590 \text{ cm}^{-1}$) amide bölgesine bindirmesiyle omuzlanmalar ve yoğunluk artışları görülmesi, fenolik bileşiklerin karakteristik aromatik bantlarıyla uyumludur ve protein-fenolik etkileşimlerini destekler (Guntarti et al., 2024). Parmak izi bölgesinde ($1200\text{--}900$

cm⁻¹), özellikle 1160–1030 cm⁻¹ aralığında C–O ve C–O–C titreşimlerine ait bantların güçlenmesi, fenolik grupların ve gliserol/sitrik asit yapılarının üst üste binmesiyle açıklanabilir (Coates, 2000). Bununla birlikte FTIR’de izlenen bu yapısal etkileşimler pratik performansa olumlu yansımamıştır. Literatürde uçucu yağ ilavesinin belirli eşiklerin üzerinde faz ayrışması/yağ migrasyonu ve çekme dayanımı ile cam geçiş sıcaklığında düşüşlere yol açabildiği, dolayısıyla mekanik bütünlük ve yüzey özelliklerini zayıflatabildiği gösterilmiştir ve bizim bulgularımızla tutarlıdır (Sánchez-González ve ark., 2011; Tongnuanchan ve ark., 2016; Wu ve ark., 2017). Bu karmaşayı azaltmak ve yağ sızıntısını kontrol etmek için esansiyel yağların doğrudan eklenmesi yerine nanoenkapsülasyon/emülsiyon taşıyıcılarla kontrollü salım sağlanması yaygın öneridir (Chaudhari ve ark., 2021; Reis ve ark., 2023).

4.3.4 Antimikrobiyal etkinlik analizleri

Bu çalışmada geliştirilen THP-SH-EY temelli biyoplastik filmlerin antimikrobiyal etkinliği, disk difüzyon ve buhar difüzyonu yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Test edilen mikroorganizmalar arasında Gram pozitif *Staphylococcus aureus*, Gram negatif *Salmonella Typhimurium* ve *Escherichia coli* suşları yer almıştır. Disk difüzyonu ve istatistiksel analizleri Çizelge 4.42, 4.43, 4.44 ve 4.45’de sunulmuştur. Farklı SH-EY (%1, %2, %3) oranlarıyla üretilen biyoplastiklerin inhibitör etkileri, kontrol grubu (SH-EY içermeyen %12,5 THP biyoplastik) ile karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve her örnek üç tekrar halinde test edilmiştir.

Çizelge 4. 42 THP-SH-EY biyoplastik disk difüzyon analizi sonuçları

Tekrar	Numune	<i>Staphylococcus aureus</i> (mm)	<i>Salmonella Typhimurium</i> (mm)	<i>Escherichia coli</i> (mm)
1	Kontrol	18	12	0
1	%1 EY	18	10	0
1	%2 EY	19	15	0
1	%3 EY	17	13	15
2	Kontrol	17	13	0
2	%1 EY	17	12	0
2	%2 EY	18	13	0
2	%3 EY	16	16	16
3	Kontrol	15	0	0
3	%1 EY	13	13	0
3	%2 EY	16	14	0
3	%3 EY	15	23	0

Çizelge 4. 43 *S. aureus* disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
1	2	1.6667	0.6733	-2.9862	6.3196
1	3	0.0000	1.0000	-4.6529	4.6529
1	Kontrol	0.6667	0.9660	-3.9862	5.3196
2	3	-1.6667	0.6733	-6.3196	2.9862
2	Kontrol	-1.0000	0.8988	-5.6529	3.6529
3	Kontrol	0.6667	0.9660	-3.9862	5.3196

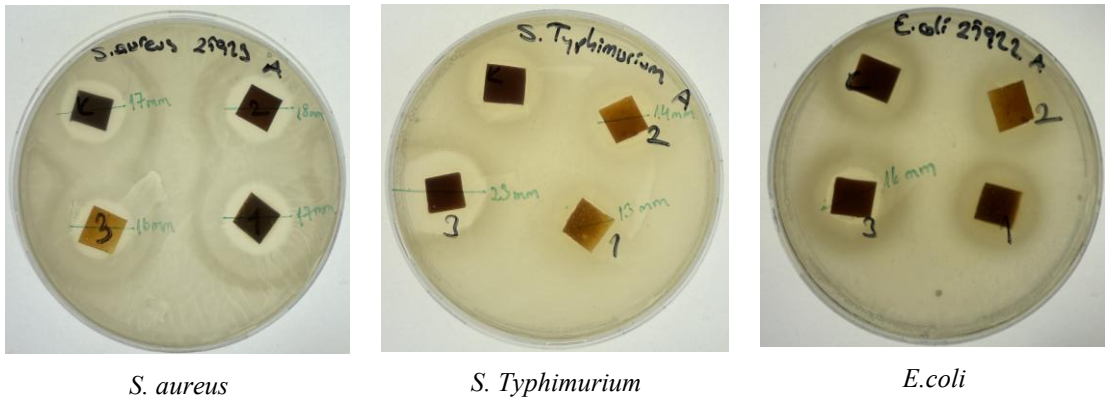
Çizelge 4. 44 *S. Typhimurium* disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
1	2	0.0000	1.0000	-2.3955	2.3955
1	3	-0.3333	0.9602	-2.7289	2.0622
1	Kontrol	0.6667	0.7496	-1.7289	3.0622
2	3	-0.3333	0.9602	-2.7289	2.0622
2	Kontrol	0.6667	0.7496	-1.7289	3.0622
3	Kontrol	1.0000	0.5195	-1.3955	3.3955

Çizelge 4. 45 *E. coli* disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
Kontrol	%1 EY	0.00 mm	1.000	-4.89	4.89
Kontrol	%2 EY	0.00 mm	1.000	-4.89	4.89
Kontrol	%3 EY	6.33 mm	0.021	1.44	11.22
%1 EY	%2 EY	0.00 mm	1.000	-4.89	4.89
%1 EY	%3 EY	6.33 mm	0.021	1.44	11.22
%2 EY	%3 EY	6.33 mm	0.021	1.44	11.22

Yapılan antimikrobiyal difüzyon testleri sonucunda, biyoplastiklere eklenen esansiyel yağların (%1, %2 ve %3 w/w) *S. aureus*, *S. Typhimurium* ve *E. coli* suşlarına karşı gösterdiği etkinlik hem istatistiksel hem de biyolojik açıdan analiz edilmiştir. *S. aureus* suşunda, tüm konsantrasyonlarda inhibitör çaplar kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir; özellikle %2 ve %3 esansiyel yağ içeren biyoplastiklerde anlamlı farklılıklar gözlenmiş, bu da Gram-pozitif bakterilere karşı daha düşük konsantrasyonlarda dahi biyolojik etkinliğin başladığını göstermektedir. *S. Typhimurium* suşunda ise etkinlik daha seçici seyretmiş, yalnızca %3 esansiyel yağ içeren biyoplastiklerde anlamlı bir fark oluşmuş, bu da Gram-negatif bakterilerin daha dirençli yapısını ve daha yüksek konsantrasyon ihtiyacını teyit etmektedir. *E. coli* için ise yalnızca %3 esansiyel yağ grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyon gözlenmiş ($p < 0.05$), diğer tüm gruplar kontrolle benzer seviyede kalmıştır. Bu bulgular, esansiyel yağın tür ve konsantrasyona bağlı olarak seçici antimikrobiyal etki gösterebildiğini ve özellikle Gram-negatif bakterilere karşı daha yüksek oranların gerekli olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, istatistiksel analizler (ANOVA ve Tukey HSD) biyolojik bulguları destekler nitelikte olup, özellikle %3 konsantrasyonun eşik değer olabileceğini göstermektedir.



Şekil 4. 9 Disk difüzyonu zon çapları görüntüleri

Üç farklı tekrarda elde edilen disk difüzyon sonuçları, kontrol grupları dahil olmak üzere *S. aureus*, *S. Typhimurium* ve *E. coli*'ye karşı belirgin inhibisyon zonları ortaya koymuştur. Literatürde, bitkisel esansiyel yağların tipik olarak gram-pozitif bakterilere karşı yaklaşık olarak 6–19 mm, gram-negatif bakterilere karşı ise 6–17 mm aralığında zon çapı oluşturduğu belirtilmektedir (Silva ve ark., 2019). Bununla birlikte *Origanum vulgare* ve *Ocimum basilicum* gibi bazı yağlar 17–45 mm'lik zonlarla daha güçlü etki gösterebilmektedir (Helal ve ark., 2019). Ayrıca gram-negatif bakterilerin lipopolisakkarit tabakası nedeniyle hidrofobik bileşiklere karşı daha dirençli olduğu ve bu nedenle daha yüksek yağ konsantrasyonlarına ihtiyaç duyulduğu vurgulanmaktadır (Silva ve ark., 2019)

Kontrol gruplarında 15–18 mm aralığında inhibisyon zonu bulunması biyoplastik matrisin (THP, jelatin, sitrik asit, gliserol) veya fermentasyon kaynaklı metabolitlerin doğrudan antimikrobiyal aktivite gösterebildiğini düşündürmektedir.

Buhar difüzyonu ile ilgili çalışmalara ait veriler ise Çizelge 4.46, 4.47, 4.48 ve 4.49'da verilmiştir.

Çizelge 4. 46 THP-SH-EY biyoplastik buhar difüzyonu analizi sonuçları

Bakteri	Doz	Kontrol Ort. (KOB/mL)	Test Ort. (KOB/mL)
<i>E. coli</i>	%1 EY	$6,41 \times 10^8$	$3,72 \times 10^8$
<i>E. coli</i>	%2 EY	$6,41 \times 10^8$	$2,52 \times 10^8$
<i>E. coli</i>	%3 EY	$6,41 \times 10^8$	$1,72 \times 10^8$
<i>S. aureus</i>	%1 EY	$6,51 \times 10^8$	$5,56 \times 10^8$
<i>S. aureus</i>	%2 EY	$6,52 \times 10^8$	$4,36 \times 10^8$
<i>S. aureus</i>	%3 EY	$6,52 \times 10^8$	$2,49 \times 10^8$
<i>S. Typhimurium</i>	%1 EY	$6,87 \times 10^8$	$7,10 \times 10^8$
<i>S. Typhimurium</i>	%2 EY	$6,87 \times 10^8$	$5,61 \times 10^8$
<i>S. Typhimurium</i>	%3 EY	$6,87 \times 10^8$	$3,94 \times 10^8$

Çizelge 4. 47 *S. aureus* disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
%1 EY	%2 EY	$-1,20 \times 10^8$	0.042	$-2,37 \times 10^8$	$-0,027 \times 10^8$
%1 EY	%3 EY	$-3,07 \times 10^8$	0.000	$-4,24 \times 10^8$	$-1,89 \times 10^8$
%2 EY	%3 EY	$-1,87 \times 10^8$	0.001	$-3,04 \times 10^8$	$-0,69 \times 10^8$

Çizelge 4. 48 *E. coli* disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
%1 EY	%2 EY	$-1,20 \times 10^8$	0.2034	$-3,49 \times 10^8$	$1,09 \times 10^8$
%1 EY	%3 EY	$-2,00 \times 10^8$	0.0233	$-4,29 \times 10^8$	$-0,29 \times 10^8$
%2 EY	%3 EY	$-0,80 \times 10^8$	0.4435	$-3,09 \times 10^8$	$1,49 \times 10^8$

Çizelge 4. 49 *S. Typhimurium* disk difüzyonu Tukey HSD testi sonuçları

Grup 1	Grup 2	Ortalama fark	p-değeri	Alt limit	Üst limit
%1 EY	%2 EY	$1,49 \times 10^8$	0.001	$0,317 \times 10^8$	$2,663 \times 10^8$
%1 EY	%3 EY	$3,16 \times 10^8$	0.000	$1,987 \times 10^8$	$4,333 \times 10^8$
%2 EY	%3 EY	$1,67 \times 10^8$	0.000	$0,497 \times 10^8$	$2,843 \times 10^8$

Yapılan çalışmada, %1, %2 ve %3 oranlarında SH-EY içeren biyoplastiklerin antimikrobiyal etkileri üç farklı bakteriyel patojen üzerinde (*E. coli*, *S. aureus* ve *S. typhimurium*) test edilmiştir. Buhar difüzyonu testlerinde log azalımı görülmemiştir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Plastik kirliliğinin çevre ve insan sağlığı açısından oluşturduğu küresel sorunlar, biyolojik olarak parçalanabilir alternatif materyallere yönelik ilgiyi her geçen gün artırmaktadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, fosil bazlı plastiklerin yerine geçebilecek biyoplastiklerin üretiminde laktik asit bakterilerinden türetilen ekzopolisakkaritler ve tek hücre proteinlerinin kullanım potansiyelini kapsamlı biçimde ortaya koymuştur. Bulgular, her iki biyopolimerin üretim koşulları, elde edilen verim, yapısal ve mekanik özellikleri ile biyobozunurluk performanslarını ortaya çıkararak, bu hammaddelerin biyoplastik teknolojilerindeki yerini belirgin biçimde ayırt etmiştir.

EPS üretimi için seçilen LAB suşları arasında türler arası farklılıkların belirgin olduğu saptanmıştır. Azot kaynağı denemelerinde yeast ekstrakt kullanımının verimi doğrudan artırdığı, özellikle %5 düzeyinde 8400 mg/L'nin üzerinde üretim sağladığı görülmüştür. ANOVA ve Tukey HSD analizleri, farklı yeast ekstrakt konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunduğunu doğrulamıştır. Karbon kaynağı denemelerinde ise sükrozun diğer şekerlere kıyasla daha yüksek EPS üretimi sağladığı tespit edilmiştir. Artan sükroz konsantrasyonu ortam viskozitesinde belirgin artışa yol açmış, bu durum ozmotik stresin yükselmesine ve kütle transferinin sınırlandırılmasına neden olmuştur. Elde edilen bulgular, literatürde EPS üretiminin karbon ve azot kaynaklarına duyarlı olduğuna dair raporlarla uyumludur.

pH, sıcaklık ve inkübasyon süresi gibi çevresel faktörlerin de EPS üretiminde kritik rol oynadığı ortaya konmuştur. Özellikle pH 6–7 aralığı, 37 °C sıcaklık ve 96 saatlik inkübasyonlar optimum koşullar olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, çözelti döküm yöntemiyle elde edilen EPS filmler mekanik açıdan yetersiz bulunmuştur. Filmler aşırı sünek ve yapışkan özellik göstermiş, kopma gerilmesi ve uzama değerlerinin geçerli şekilde ölçülmesine imkân vermemiştir. Bu sonuçlar, EPS'nin tek başına biyoplastik matrisi olarak değerlendirilemeyeceğini, ancak protein ya da selüloz temelli sistemlerde bağlayıcı veya yardımcı polimer olarak işlev görebileceğini göstermektedir.

THP üretimi açısından yürütülen optimizasyon çalışmaları, LAB suşları arasında özellikle *L. garvieae*'nin en yüksek biyokütle verimini sağladığını göstermiştir. Yaklaşık 2.11 g/L düzeyinde elde edilen bu verim, PAS'ın mikrobiyal protein üretiminde etkili bir substrat olduğunu kanıtlamıştır. Azot ve karbon kaynaklarının etkilerinin test edilmesi sonucunda, %1,5 nohut ekstraktı ve %5 sükrozun en uygun kombinasyon olduğu

belirlenmiştir. Bu koşullar altında üretim verimi anlamlı şekilde artmış, istatistiksel analizler bu farklılıkların güvenilirliğini desteklemiştir.

pH ve sıcaklık optimizasyonlarında, THP üretiminin pH 7’de ve 37 °C civarında en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. İnkübasyon süresi denemeleri, 72 saate kadar verimde anlamlı artış gösterirken, bu süreden sonra besin tükenmesi ve metabolit birikimine bağlı olarak verimde azalma görülmüştür. Dolayısıyla THP üretimi için 72 saat optimum süre olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, mikrobiyal üretim süreçlerinin genellikle besin sınırlamaları ve metabolik yan ürünlerle ilişkili olduğunu gösteren literatürle uyumludur.

THP ile gliserol, jelatin ve sitrik asit formülasyonu kullanılarak çözelti döküm yöntemiyle biyoplastik filmler üretilmiştir. Filmlerin mekanik testlerinde çekme dayanımı ortalama 7.139 MPa olarak ölçülmüş, kopmada uzama oranı ise %18.56 olarak belirlenmiştir. Bu değerler, EPS filmlerine kıyasla çok daha dengeli ve uygulanabilir mekanik özellikler sergilemiştir. Tukey HSD testleri, %12.5 THP içeren biyoplastiklerin diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha yüksek dayanım gösterdiğini doğrulamıştır. %10 ve %7.5 oranları arasında anlamlı fark bulunmaması, bu düzeylerde mekanik dayanımın bir eşik noktasına ulaştığını ortaya koymuştur.

Termogravimetrik analizler, THP temelli biyoplastiklerin ilk ciddi bozunma aşamasının 200–400 °C aralığında gerçekleştiğini göstermiştir. Bu bulgu, biyoplastiklerin belirli bir termal kararlılık sergilediğini kanıtlamaktadır. Morfolojik incelemelerde (SEM), filmlerin homojen bir yapıya sahip olduğu, protein oranı arttıkça daha kompakt ve pürüzsüz yüzeylerin oluştuğu gözlenmiştir. FT-IR analizleri, protein ve polisakkarit bileşenlerinin fonksiyonel gruplarının birbirleriyle hidrojen bağları aracılığıyla etkileşime girdiğini doğrulamış, bu durum biyoplastik matrisin kimyasal bütünlüğünü desteklemiştir. SH-EY katkısı, THP biyoplastiklerin termal davranışını belirgin şekilde değiştirmiştir. Katkı ilavesiyle başlangıç bozunma sıcaklığı yükselmiş, DTG pikleri daha yüksek sıcaklıklara kaymış ve bozunma süreci daha geniş bir aralığa yayılmıştır. Bu durum, katkının matris içinde yeni etkileşimler oluşturarak sistemin termal stabilitesini artırdığını düşündürmektedir. Sonuç olarak, SH-EY ilavesi biyoplastiklerin termal kararlılığını iyileştirirken, bozunma mekanizmasını çok aşamalı hale getirmiştir.

Su çözünürlüğü ve nem içeriği testlerinde, protein oranının artışı çözünürlüğün azalmasına ve daha kompakt bir matris yapısının oluşmasına yol açmıştır. Bu bulgu, protein içeriğinin yalnızca mekanik özellikleri değil, aynı zamanda bariyer davranışlarını da belirlediğini göstermektedir. Böylece THP oranı, biyoplastiklerin mekanik

performansı ve fonksiyonel özellikleri arasında denge kuran temel parametrelerden biri olarak öne çıkmıştır.

Biyobozunurluk testleri, THP temelli biyoplastiklerin çevresel olarak parçalanabilirliğini ortaya koymuştur. Toprak gömme deneylerinde 60 gün sonunda biyobozunma oranı %65'in üzerinde gerçekleşmiştir. ANOVA ve Tukey HSD analizleri, kullanılan formülasyonun biyobozunurluk üzerinde önemli etkiler yarattığını doğrulamıştır. Özellikle %5 ve %7.5 THP içeren gruplar daha yüksek biyobozunma oranları göstermiş, buna karşın %10 ve %12.5 gruplarında oranlar belirgin biçimde düşmüştür. Bu durum, protein oranı yükseldikçe matrisin daha kompakt hale geldiğini ve mikroorganizmalara karşı daha dirençli bir yapı kazandığını göstermektedir.

PAS bazlı THP biyoplastiklere SH-EY eklenmesiyle elde edilen antimikrobiyal performans disk difüzyon yöntemiyle değerlendirilmiştir. *S. aureus* için kontrol ve SH-EY katkılı gruplarda 13–19 mm aralığında inhibisyon zonları gözlenmiş; ortalama değerler sırasıyla kontrol 16.7 mm, %1 SH-EY 16.0 mm, %2 SH-EY 17.7 mm ve %3 SH-EY 16.0 mm olup özellikle %2 SH-EY'de sınırlı bir artış saptanmıştır. *S. Typhimurium*'a karşı etkinlik EY oranıyla belirgin biçimde yükselmiş; kontrol 8.3 mm, %1 SH-EY 11.7 mm, %2 SH-EY 14.0 mm ve %3 SH-EY 17.3 mm ortalama zon çapları elde edilmiş, en yüksek değer %3 SH-EY grubunda (tekil ölçümde 23 mm) kaydedilmiştir. *E. coli* üzerinde kontrol ile %1 ve %2 SH-EY gruplarında inhibisyon gözlenmezken (0 mm), yalnızca %3 SH-EY içeren filmler 15–16 mm zon oluşturmuş ve bu patojene karşı antimikrobiyal etkinliğin SH-EY katkısıyla kazanıldığını göstermiştir. Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, SH-EY ilavesinin özellikle Gram-negatif türlerde (*S. Typhimurium* ve *E. coli*) doz-bağımlı bir fayda sağladığı, *S. aureus* üzerinde ise matrise bağlı bazal etkinlik üzerine sınırlı ek katkı sunduğu anlaşılmaktadır. Bu sonuçlar, PAS-temelli LAB-THP biyoplastiklerin, uygun SH-EY oranları kullanıldığında aktif ambalaj uygulamalarında fonksiyonel bir alternatif sunabildiğini ortaya koymaktadır.

Elde edilen tüm bulgular bir arada değerlendirildiğinde, EPS ve THP'nin biyoplastik üretiminde farklı potansiyellere sahip olduğu net biçimde ortaya çıkmaktadır. EPS yüksek üretim verimi ile dikkat çekmiş olsa da film formundaki mekanik özellikleri yetersiz kalmıştır. Buna karşın THP, hem mekanik dayanım hem de biyobozunurluk açısından daha dengeli bir profil sergilemiş ve sürdürülebilir biyoplastik üretimi için güçlü bir alternatif olduğunu kanıtlamıştır.

Bu sonuçlar, PAS'ın katma değerli ürünlere dönüştürülmesinde önemli bir biyoteknolojik potansiyel taşıdığını göstermektedir. Aynı zamanda, LAB kökenli THP temelli biyoplastiklerin gıda ambalajlama sektöründe uygulanabilirliğine dair güçlü kanıtlar sunulmuştur. Çekme dayanımı, ısı kararlılık, yüzey morfolojisi ve biyobozunurluk testleri birlikte değerlendirildiğinde, THP temelli biyoplastiklerin çevreye duyarlı ambalaj çözümleri için umut verici bir alternatif sunduğu sonucuna ulaşılmıştır. EPS ise tek başına bir biyoplastik matrisi olarak yetersiz olmakla birlikte, diğer polimerlerle birlikte bağlayıcı veya yardımcı polimer olarak işlev görebilecek niteliktedir.

Sonuç olarak *Lactococcus garvieae* suşu ile pH 7'de, 37 °C'de ve 72 saatlik inkübasyon süresinde yürütülen fermantasyon sonucunda, %1.5 nohut ekstresi ve %5 sükröz içeren peynir altı suyu ortamında 2.663 g/L düzeyinde THP elde edilmiştir. Üretilen biyokütle, %12.5 THP, %3 gliserol, %1 sitrik asit ve %2 jelatin oranlarında formüle edilerek çözelti döküm yöntemiyle biyoplastik film haline getirilmiştir. Geliştirilen biyoplastikler 7.139 MPa çekme dayanımı, %18.56 kopmada uzama ve 200–400 °C aralığında termal stabilite göstermiş; 60 gün sonunda %65'in üzerinde biyobozunma sergilemiştir. Ayrıca %3 oranında *Satureja hortensis* esansiyel yağı katkısı, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* ve *Escherichia coli* suşlarına karşı 13–23 mm aralığında inhibisyon zonları oluşturarak belirgin antimikrobiyal aktivite kazandırmıştır.

Bu çalışmanın genel çıktıları, atık azaltımı, gıda güvenliği ve döngüsel ekonomi çerçevesinde biyoplastik teknolojilerine özgün katkılar sağlamaktadır. Fosil bazlı plastiklerin çevresel baskılarını azaltma potansiyeli, süt endüstrisi atıklarının değerlendirilmesiyle birleştiğinde, bu yaklaşımın sürdürülebilirlik açısından önemli bir yol haritası sunduğu açıktır.

5.2 Öneriler

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar, LAB kaynaklı EPS ve THP'nin biyoplastik üretiminde farklı roller üstlenebileceğini ortaya koymuş, ancak aynı zamanda bu biyopolimerlerin daha ileri araştırmalarla geliştirilmesi gerektiğini de göstermiştir.

Bu çalışmada kullanılan suşlar LAB olup, GRAS statüsünde değerlendirilmektedir. Ancak gıda ile temas eden biyoplastiklerin endüstriyel ölçekte uygulanabilmesi için yalnızca GRAS kabulü yeterli değildir. Kapsamlı biyogüvenlik değerlendirmelerinin yapılması zorunludur. Bu kapsamda öncelikle sitotoksikite testleri,

akut ve kronik toksisite analizleri, allerjenite potansiyelinin belirlenmesi, ağır metal ve katkı migrasyon testleri, ayrıca antimikrobiyal etkinliğin güvenli sınırlarının belirlenmesi gereklidir. Bu tür kapsamlı biyogüvenlik değerlendirmeleri, geliştirilen biyoplastiklerin yalnızca laboratuvar ölçeğinde kalmayıp, gıda ambalajı ve sağlık sektöründe güvenle kullanılabilmesine yönelik en kritik adımı oluşturacaktır.

EPS'nin tek başına film oluşturma kapasitesinin sınırlı kalması, fakat protein ya da selüloz temelli sistemlerde ara faz bağlayıcı olarak katkı sağlayabilmesi, ileride farklı polimerlerle birlikte değerlendirilmesi gerektiğini işaret etmektedir. Bu noktada yapılabilecek en önemli çalışmalardan biri, EPS filmlerinin çözelti döküm yöntemine ek olarak sıkıştırma kalıplama yöntemiyle üretilmesidir. Çözelti dökümünde elde edilen yapışkan ve sünek filmler, sıkıştırma kalıplama altında farklı basınç ve sıcaklık koşullarında farklı mekanik özellikler gösterebilir. Termo-mekanik presleme sırasında EPS'nin zincir yapısında kısmi reorganizasyon gerçekleşebileceği ve jelatin, gliserol gibi destek polimerlerle birlikte daha kompakt bir matris oluşturabileceği düşünülmektedir. Böylece EPS'nin tek başına yetersiz görünen mekanik performansı, uygun koşullar altında iyileştirilebilir.

EPS'nin geliştirilmesine yönelik bir diğer öneri, farklı polimerlerle kombinasyonların sistematik olarak denenmesidir. Özellikle selüloz türevleri (karboksimetil selüloz, nanokristalin selüloz), kitosan, nişasta ve pektin gibi biyopolimerlerle EPS'nin birlikte kullanılması, matrisin dayanımını ve bariyer özelliklerini artırabilir. Literatürde kitosan–EPS kombinasyonlarının antimikrobiyal özellik kazandırabileceği, selüloz nanokristalleriyle birlikte kullanıldığında ise çekme dayanımının anlamlı biçimde artabileceği raporlanmıştır. EPS ayrıca protein temelli polimerlerle çapraz bağlanarak ara faz bağlayıcı görevi görebilir. Bu tür kompozit yaklaşımlar, EPS'nin tek başına sınırlı olan mekanik performansını büyük ölçüde iyileştirme potansiyeline sahiptir.

PAS'ın verimli kullanımı açısından da çeşitli stratejiler önerilebilir. Bu tezde PAS doğrudan substrat olarak değerlendirilmiş ve iyi düzeyde THP üretimi sağlanmıştır. Ancak daha yüksek verim için PAS'ın farklı şekilde zenginleştirilmesi mümkündür. Bunun yanında, PAS'ın fraksiyonlara ayrılarak laktoz, protein ve mineral kısımlarının ayrı ayrı değerlendirilmesi, LAB metabolizmasını daha kontrollü biçimde yönlendirebilir. Laktozun fermentasyon sırasında laktaz enzimleriyle hidrolize edilmesi, LAB için daha kolay kullanılabilir glikoz ve galaktoz kaynakları oluşturabilir ve böylece biyokütle verimini artırabilir. Ayrıca PAS'ın farklı mikroorganizma kokültürleriyle

kullanılması, örneğin LAB ile maya veya *Bacillus sp.* türlerinin birlikte kültüre edilmesi, besin bileşenlerinin daha verimli dönüşümüne yol açabilir.

THP temelli biyoplastiklerin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi için çeşitli yollar bulunmaktadır. Öncelikle farklı çapraz bağlayıcıların denenmesi, matrisin daha dayanıklı ve suya karşı dirençli hale getirilmesini sağlayabilir. Bu tezde sitrik asit kullanılmıştır ancak genipin, transglutaminaz veya doğal fenolik bileşikler gibi çapraz bağlayıcıların kullanılması, protein zincirleri arasında daha güçlü kovalent bağların oluşmasına ve filmlerin daha dayanıklı hale gelmesine yol açabilir. Plastikleştirici olarak kullanılan gliserol yerine sorbitol, mannitol ya da polietilen glikol gibi alternatiflerin test edilmesi de mekanik özellikler üzerinde farklı etkiler yaratabilir. Gliserol esnekliği artırırken dayanımı düşürebilmektedir. Buna karşın sorbitol veya polietilen glikol gibi moleküller farklı hidrofilik etkileşimler sayesinde dayanım ve esneklik arasında daha dengeli sonuçlar verebilir.

THP biyoplastiklerinde nanomalzeme katkılarının kullanımı da önerilebilir. Selüloz nanokristalleri, selüloz nanofibrilleri, kil nanoparçacıkları veya grafen oksit gibi nanomalzemeler, biyoplastiklerin çekme dayanımını ve termal kararlılığını belirgin şekilde artırabilir. Bu katkılar, aynı zamanda biyoplastiklerin gaz bariyer özelliklerini geliştirerek özellikle gıda ambalajı uygulamalarında daha işlevsel hale gelmesini sağlayabilir. EPS'nin bu tür nanomalzemelerle birlikte kullanılması ise, bariyer özellikleri ve biyobozunurluk açısından daha optimize edilmiş kompozit biyoplastiklerin geliştirilmesine olanak verebilir.

Biyoplastik üretiminde kullanılan yöntemlerin çeşitlendirilmesi de önemlidir. Çözelti döküm yöntemi basit ve laboratuvar koşullarına uygun bir yöntem olmakla birlikte, endüstriyel ölçekte uygulanabilirliği sınırlıdır. Bu nedenle, sıcak presleme, ekstrüzyon, enjeksiyon kalıplama ve elektrospinning gibi yöntemlerin THP ve EPS temelli biyoplastiklerde uygulanması önerilmektedir. Özellikle ekstrüzyon yöntemi, sürekli üretim için uygundur ve endüstriyel ambalaj film üretimine geçişte kritik rol oynayabilir. Elektrospinning ise daha ince lifli yapılar elde edilmesini sağlayarak biyoplastiklerin doku mühendisliği veya yara örtüsü gibi biyomedikal uygulamalarda kullanılmasına olanak tanıyabilir.

Biyoplastiklerin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesine yönelik öneriler de dikkate değerdir. Antimikrobiyal özellik kazandırılması, gıda ambalajı uygulamaları için özellikle önemlidir. Ancak esansiyel yağların doğrudan eklenmesi mekanik dayanımı düşürebilmektedir. Bu nedenle nanoenkapsülasyon tekniklerinin kullanılması, esansiyel

yağların kontrollü salımını sağlarken mekanik özellikler üzerindeki olumsuz etkiyi azaltabilir. Benzer şekilde, antioksidan özellikli katkıları (örneğin yeşil çay polifenoller, askorbik asit türevleri) biyoplastiklerin gıda ambalajında oksidatif bozulmayı yavaşlatıcı bir fonksiyon üstlenmesini sağlayabilir.

Üretim ölçeğinin genişletilmesi, biyoplastiklerin laboratuvar ölçeğinden endüstriyel boyuta taşınması açısından kritik bir adımdır. Bu kapsamda, pilot ölçekli fermentörlerde THP üretiminin gerçekleştirilmesi, PAS'ın endüstriyel yan ürün akışlarından doğrudan kullanılması ve bu süreçlerin sürekli üretime uyarlanması önerilmektedir. Aynı zamanda biyoplastiklerin üretiminde ekstrüzyon ya da enjeksiyon kalıplama hatlarının devreye alınması, endüstriyel ölçekte film, tabaka veya kap üretimini mümkün kılacaktır.

Ürünlerin ticarileştirilmesine yönelik öneriler de önem taşımaktadır. LAB kaynaklı biyoplastikler, gıda ambalaj sektöründe çevre dostu alternatif olarak değerlendirilebilir. Bu biyoplastiklerin şeffaf film, vakum ambalaj, meyve-sebze kaplama filmleri veya tek kullanımlık tabak-çatal üretiminde kullanılması mümkündür. Bunun yanında, biyoplastiklerin yara örtüsü, dikiş materyali, kontrollü ilaç salımı sistemleri gibi biyomedikal uygulamalarda değerlendirilmesi de gelecek araştırmalar için cazip bir yönelimdir. THP'nin protein temelli yapısı, biyoyumluluğu artırabilir ve sağlık alanında yeni uygulamaların önünü açabilir.

Biyoplastiklerin farklı sektörlerde uygulanabilirliği için uzun vadede yaşam döngüsü analizlerinin yapılması gereklidir. Bu analizler, PAS temelli üretimin fosil bazlı plastiklere kıyasla çevresel avantajlarını ortaya koyacaktır. Karbon ayak izi, su tüketimi, enerji ihtiyacı ve atık yönetimi açısından yapılacak kapsamlı değerlendirmeler, bu biyoplastiklerin sürdürülebilirlik profiline ilişkin önemli veriler sağlayacaktır. Ek olarak, ekonomik fizibilite çalışmaları üretim maliyetlerinin düşürülmesi için stratejiler geliştirilmesine olanak tanıyabilir.

Gelecekte yapılacak çalışmalarda, ürünlerin pazar uyumunun da değerlendirilmesi önemlidir. Tüketici farkındalığı, gıda güvenliği standartları, biyoplastiklerin ulusal ve uluslararası regülasyonlarla uyumu gibi faktörler, ticarileşme sürecini doğrudan etkileyecektir. Avrupa Birliği Yeşil Mutabakat çerçevesinde biyobazlı ve biyobozunur plastiklere yönelik teşvikler, bu tür ürünlerin pazara girişini hızlandırabilir. Türkiye'de de gıda ambalajında biyoplastik kullanımıyla ilgili regülasyonların geliştirilmesi, yerli üretimin önünü açacaktır.

Sonuç olarak, bu tezde ortaya konulan EPS ve THP temelli biyoplastik üretimi, hem bilimsel hem de endüstriyel açıdan güçlü bir başlangıç noktası sunmaktadır. EPS'nin farklı üretim yöntemleri ve polimer kombinasyonlarıyla daha işlevsel hale getirilebileceği, THP'nin ise mekanik dayanım ve biyobozunurluk açısından gelecekte daha da geliştirilebileceği görülmektedir. PAS'ın değerli bir substrat olarak yeniden değerlendirilmesi, döngüsel ekonomi ve sürdürülebilir üretim açısından büyük önem taşımaktadır. İleri çalışmalarla bu biyoplastiklerin mekanik, fonksiyonel ve çevresel performansları optimize edilebilir; endüstriyel ölçekte üretimleri mümkün hale getirilebilir ve gıda ambalajı başta olmak üzere sağlık, tarım ve tekstil gibi farklı sektörlerde uygulanabilir hale gelebilir.



KAYNAKLAR

- Abdel-monem, D. A., Sabry, S. A., Ghozlan, H. A., ve Zaghoul, E. H. 2025. Preparation of Novel Marine *Enterococcus faecium* MSD8 Exopolysaccharide Ointment and In Vivo Evaluation of Its Impact on Cutaneous Wound Healing in Male Albino Rats, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 17(3), 963–975. <https://doi.org/10.1007/s12602-024-10334-z>
- Abdelrazzak, A. B., Hezma, A. M., ve El-Bahy, G. S. 2021. ATR-FTIR spectroscopy probing of structural alterations in the cellular membrane of abscopal liver cells, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1863(11), 183726. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2021.183726>
- Abdo, S. M., Youssef, A. M., El-Liethy, M. A., ve Ali, G. H. 2024. Preparation of simple biodegradable, nontoxic, and antimicrobial PHB/PU/CuO bionanocomposites for safely use as bioplastic material packaging, *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(22), 28673–28683. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03591-x>
- Abe, M. M., Martins, J. R., Sanvezzo, P. B., Macedo, J. V., Branciforti, M. C., Halley, P., Botaro, V. R., ve Brienzo, M. 2021. Advantages and disadvantages of bioplastics production from starch and lignocellulosic components, *Polymers*, 13(15), 2484.
- Adesulu-Dahunsi, A. T., Sanni, A. I., Jeyaram, K., Ojediran, J. O., Ogunsakin, A. O., ve Banwo, K. 2018. Extracellular polysaccharide from *Weissella confusa* OF126: Production, optimization, and characterization, *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 514–525. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.060>
- Aeschlimann, A., ve Von Stockar, U. 1990. The effect of yeast extract supplementation on the production of lactic acid from whey permeate by *Lactobacillus helveticus*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 32, 398–402.
- Aguado-Urda, M., Gibello, A., Blanco, M., Fernández-Garayzábal, J., López-Alonso, V., ve López-Campos, G. 2013. Global transcriptome analysis of *Lactococcus garvieae* strains in response to temperature, *PLoS ONE*, 8(11), e79692. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079692>
- Akpınar, D., ve Kılıç, G. B. 2012. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen antifungal bileşenler, *Gıda*, 37(1), 47–54.
- Alan, Y., Savcı, A., Çakmak, B., ve Kurt, H. 2016. Determination of the antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja hortensis* ingredients, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(2), 167–177.
- Alighialo, N. S., Rahimi, R., Hajirezaee, S., ve Nikookhah, F. 2019. 1H NMR-based metabolomics approach to understanding the temperature-dependent pathogenicity of *Lactococcus garvieae*, *International Journal of Aquatic Biology*, 7, 224–232. <https://doi.org/10.22034/IJAB.V7I4.609>
- Alkan, Z., Erginkaya, Z., Konuray, G., ve Turhan, E. Ü. 2019. Production of biosurfactant by lactic acid bacteria using whey as growth medium, *Turkish Journal of Veterinary ve Animal Sciences*, 43(5), 676–683.
- Al-Kelani, M., ve Buthelezi, N. 2024. Advancements in medical research: Exploring Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy for tissue, cell, and hair sample analysis, *Skin Research and Technology*, 30(6), e13733. <https://doi.org/10.1111/srt.13733>
- Alomar, J., Lebert, A., ve Montel, M. 2008. Effect of temperature and pH on growth of *Staphylococcus aureus* in co-culture with *Lactococcus garvieae*, *Current Microbiology*, 56, 408–412. <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9079-3>

- Alonso, P., Fernández-Pastor, S., ve Guerrero, A. 2024. Application of cinnamon essential oil in active food packaging: A review, *Applied Sciences*, 14(15), Article 15. <https://doi.org/10.3390/app14156554>
- Andrady, A. L. 2017. The plastic in microplastics: A review, *Marine Pollution Bulletin*, 119(1), 12–22.
- Areniello, M., Matassa, S., Esposito, G., ve Lens, P. N. 2023. Biowaste upcycling into second-generation microbial protein through mixed-culture fermentation, *Trends in Biotechnology*, 41(2), 197–213.
- Assad, I., Bhat, S. U., Gani, A., ve Shah, A. 2020. Protein based packaging of plant origin: Fabrication, properties, recent advances and future perspectives, *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 707–716.
- ASTM. 2018. *D882 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*. <https://store.astm.org/d0882-18.html>
- Aydemir, L. Y., Gökbulut, A. A., Baran, Y., ve Yemencioğlu, Y. 2014. Bioactive, functional and edible film-forming properties of isolated hazelnut (*Corylus avellana* L.) meal proteins, *Food Hydrocolloids*, 36, 130–142.
- Azahari, N. A., Othman, N., ve Ismail, H. 2011. Biodegradation studies of polyvinyl alcohol/corn starch blend films in solid and solution media, *Journal of Physical Science*, 22(2), 15–31.
- Bancalari, E., Alinovi, M., Bottari, B., Caligiani, A., Mucchetti, G., ve Gatti, M. 2020. Ability of a wild *Weissella* strain to modify viscosity of fermented milk, *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03086>
- Bangar, S. P., Purewal, S. S., Trif, M., Maqsood, S., Kumar, M., Manjunatha, V., ve Rusu, A. V. 2021. Functionality and applicability of starch-based films: An eco-friendly approach, *Foods*, 10(9), 2181.
- Barbosa de Almeida, C., Tafari Catelam, K., Lopes Cornélio, M., ve Lopes Filho, J. F. 2010. Morphological and structural characteristics of zein biofilms with added xanthan gum, *Food Technology and Biotechnology*, 48(1), 19–27.
- Barth, A. 2007. Infrared spectroscopy of proteins, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1767(9), 1073–1101. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.06.004>
- Basiak, E., Lenart, A., ve Debeaufort, F. 2018. How glycerol and water contents affect the structural and functional properties of starch-based edible films, *Polymers*, 10(4), 412. <https://doi.org/10.3390/polym10040412>
- Bassi, S. A., Boldrin, A., Frenna, G., ve Astrup, T. F. 2021. An environmental and economic assessment of bioplastic from urban biowaste. The example of polyhydroxyalkanoate, *Bioresource Technology*, 327, 124813.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., ve Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493–496.
- Bayer, I. S., Guzman-Puyol, S., Heredia-Guerrero, J. A., Ceseracciu, L., Pignatelli, F., Ruffilli, R., Cingolani, R., ve Athanassiou, A. 2014. Direct transformation of edible vegetable waste into bioplastics, *Macromolecules*, 47(15), 5135–5143. <https://doi.org/10.1021/ma5008557>
- Beneiisa, M., Halima, Z.-K., ve Karam, N.E. 2017. Development of a sweet whey-based medium for culture of *Lactobacillus*, *African Journal of Biotechnology*, 16(30), 1630–1637.
- Bhat, B., Vaid, S., Habib, B., ve Bajaj, B. 2020. Design of experiments for enhanced production of bioactive exopolysaccharides from indigenous probiotic lactic acid bacteria, *Indian*

- Journal of Biochemistry and Biophysics*. 57(5), 539-551.
<https://doi.org/10.56042/ijbb.v57i5.37901>
- Biscola, V., Tulini, F. L., Choiset, Y., Rabesona, H., Ivanova, I., Chobert, J.-M., Todorov, S. D., Haertlé, T., ve Franco, B. D. G. M. 2016. Proteolytic activity of *Enterococcus faecalis* VB63F for reduction of allergenicity of bovine milk proteins, *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5144–5154. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11036>
- Bouallegue, A., Casillo, A., Chaari, F., La Gatta, A., Lanzetta, R., Corsaro, M. M., Bachoual, R., ve Ellouz-Chaabouni, S. 2020. Levam from a new isolated *Bacillus subtilis* AF17: Purification, structural analysis and antioxidant activities, *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 316–324.
- Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J. C., Gerds, M. L., Hammes, W. P., Harnett, J., Huys, G., Laulund, S., Ouwehand, A., ve others. 2012. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use, *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 87–97.
- Bourtoom, T. 2008. Edible films and coatings: Characteristics and properties, *International Food Research Journal*, 15(3), 237–248.
- Bozari, S., Çakmak, B., ve Kurt, H. 2017. *Satureja hortensis* bitkisinin uçucu yağlarının *Hordeum vulgare* I. Tohumları üzerine genotoksik etkileri, *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 20(3), 185–192.
- Bridgewater, L. L. 2017. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American public health association, <https://repositori.mypolycc.edu.my/handle/123456789/4588>
- Campos-Requena, V. H., Rivas, B. L., Pérez, M. A., Figueroa, C. R., Figueroa, N. E., ve Sanfuentes, E. A. 2017. Thermoplastic starch/clay nanocomposites loaded with essential oil constituents as packaging for strawberries- In vivo antimicrobial synergy over *Botrytis cinerea*, *Postharvest Biology and Technology*, 129, 29–36.
- Campos-Requena, V. H., Rivas, B. L., Pérez, M. A., Garrido-Miranda, K. A., ve Pereira, E. D. 2018. Release of essential oil constituent from thermoplastic starch/layered silicate bionanocomposite film as a potential active packaging material, *European Polymer Journal*, 109, 64–71.
- Caron, A. G., Thomas, C. R., Berry, K. L., Motti, C. A., Ariel, E., ve Brodie, J. E. 2018. Ingestion of microplastic debris by green sea turtles (*Chelonia mydas*) in the Great Barrier Reef: Validation of a sequential extraction protocol, *Marine Pollution Bulletin*, 127, 743–751.
- Castro-Aguirre, E., Iniguez-Franco, F., Samsudin, H., Fang, X., ve Auras, R. 2016. Poly (lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 333–366.
- Chaudhari, A. K., Singh, V. K., Das, S., ve Dubey, N. K. 2021. Nanoencapsulation of essential oils and their bioactive constituents: A novel strategy to control mycotoxin contamination in food system, *Food and Chemical Toxicology*, 149, 112019. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112019>
- Chen, J., Li, J., Li, Y., ve Wu, S. 2024. Fabrication and characterisation of collagen/pullulan ultra-thin fibers by electrospinning, *Food Chemistry*, 21, 101138.
- Chiarini, L., Mara, L., ve Tabacchioni, S. 1992. Influence of growth supplements on lactic acid production in whey ultrafiltrate by *Lactobacillus helveticus*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 36, 461–464.
- Ciapponi, R., Turri, S., ve Levi, M. 2019. Mechanical reinforcement by microalgal biofiller in novel thermoplastic biocompounds from plasticized gluten, *Materials*, 12(9), 1476.

- Coates, J. 2000. Interpretation of infrared spectra, a practical approach, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, 12, 10815–10837.
- Coppola, G., Gaudio, M. T., Lopresto, C. G., Calabro, V., Curcio, S., ve Chakraborty, S. 2021. Bioplastic from renewable biomass: A facile solution for a greener environment, *Earth Systems and Environment*, 5, 231–251.
- Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., ve Wyllie, S. G. 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 170–175.
- Cózar, A., Sanz-Martín, M., Martí, E., González-Gordillo, J. I., Ubeda, B., Gálvez, J. Á., Irigoien, X., ve Duarte, C. M. 2015. Plastic accumulation in the Mediterranean Sea, *PloS One*, 10(4), e0121762.
- Crippa, M., De Wilde, B., Koopmans, R., Leyssens, J., Linder, M., Muncke, J., Ritschkoff, A.-C., Van Doorselaer, K., Velis, C., ve Wagner, M. 2019. A circular economy for plastics: Insights from research and innovation to inform policy and funding decisions, *European Commission EC*.
- Cruz-Tirado, J. P., Barros Ferreira, R. S., Lizárraga, E., Tapia-Blácido, D. R., Silva, N. C. C., Angelats-Silva, L., ve Siche, R. 2020. Bioactive Andean sweet potato starch-based foam incorporated with oregano or thyme essential oil, *Food Packaging and Shelf Life*, 23, 100457. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100457>
- da Silva, A. O., Cortez-Vega, W. R., Prentice, C., ve Fonseca, G. G. 2020. Development and characterization of biopolymer films based on bocaiuva (*Acromonia aculeata*) flour, *International Journal of Biological Macromolecules*, 155, 1157–1168.
- Davidović, S., Miljković, M., Gordic, M., Cabrera-Barjas, G., Nesic, A., ve Dimitrijević-Branković, S. 2021. Dextran-based edible coatings to prolong the shelf life of blueberries, *Polymers*, 13(23), 4252.
- de Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., ve Botrel, D. A. 2014. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil, *Carbohydrate Polymers*, 101, 524–532.
- De Vuyst, L., ve Degeest, B. 1999. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Reviews*, 23(2), 153–177.
- Demirel, R., ve Demirel, D. Ş. 2018. Tek hücre proteinlerinin insan ve hayvan beslemede kullanımı, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(3), 327–336. <https://doi.org/10.21597/jist.458671>
- do Evangelho, J. A., da Silva Dannenberg, G., Biduski, B., El Halal, S. L. M., Kringel, D. H., Gularte, M. A., Fiorentini, A. M., ve da Rosa Zavareze, E. 2019. Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil, *Carbohydrate Polymers*, 222, 114981.
- Dönmez, M. F., Şahin, B. U., ve Bozhüyük, A. U. 2022. Antibacterial activity of plant essential oils obtained from *Satureja* species against *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*, *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(1), 91–103.
- dos Santos Caetano, K., Lopes, N. A., Costa, T. M. H., Brandelli, A., Rodrigues, E., Flôres, S. H., ve Cladera-Olivera, F. 2018. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds, *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 138–147.
- Dubey, N. K., ve Dubey, R. 2020. Edible films and coatings: An update on recent advances. in *Biopolymer-based formulations* (pp. 675–695). Elsevier.

- DuBois, Michel., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., ve Smith, Fred. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Duis, K., ve Coors, A. 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: Sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects, *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0069-y>
- Elmansy, E. A., Elkady, E. M., Asker, M. S., Abdou, A. M. H., Abdallah, N., ve Amer, S. K. 2022. Exopolysaccharide produced by *Lactiplantibacillus plantarum* RO30 isolated from Romi cheese: Characterization, antioxidant and burn healing activity, *World Journal of Microbiology ve Biotechnology*, 38(12), 245. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03439-6>
- Elsaeed, S., Zaki, E., Diab, A., Tarek, M.-A., ve Omar, W. A. 2023. New polyvinyl alcohol/gellan gum-based bioplastics with guava and chickpea extracts for food packaging, *Scientific Reports*, 13(1), 22384.
- Emadian, S. M., Onay, T. T., ve Demirel, B. 2017. Biodegradation of bioplastics in natural environments, *Waste Management*, 59, 526–536.
- Exarhopoulos, S., Goulas, A., ve Dimitreli, G. 2022. Biodegradable films from kefir-based cryogel systems, *Macromol*, 2(3), 324–345.
- Ezeh, A. C., Bongaarts, J., ve Mberu, B. 2012. Global population trends and policy options, *The Lancet*, 380(9837), 142–148.
- Fadlelmoula, A., Pinho, D., Carvalho, V. H., Catarino, S. O., ve Minas, G. 2022. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy to Analyse Human Blood over the Last 20 Years: A Review towards Lab-on-a-Chip Devices, *Micromachines*, 13(2), 187. <https://doi.org/10.3390/mi13020187>
- Falsafi, S. R., Topuz, F., Esfandiari, Z., Can Karaca, A., Jafari, S. M., ve Rostamabadi, H. 2023. Recent trends in the application of protein electrospun fibers for loading food bioactive compounds, *Food Chemistry: X*, 20, 100922. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100922>
- FAO. *Nutrient source—Composition of feedstuffs and fertilizier, Single cell proteins*. Erişim tarihi: 6 Eylül 2025, <https://www.fao.org/4/ab468e/ab468e05.htm>
- Feyaerts, A. F., Luyten, W., ve Van Dijck, P. 2020. Striking essential oil: Tapping into a largely unexplored source for drug discovery, *Scientific Reports*, 10(1), 2867. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59332-5>
- Flores, S. K., Costa, D., Yamashita, F., Gerschenson, L. N., ve Grossmann, M. V. 2010. Mixture design for evaluation of potassium sorbate and xanthan gum effect on properties of tapioca starch films obtained by extrusion, *Materials Science and Engineering: C*, 30(1), 196–202.
- Fortina, M. G., Ricci, G., ve Borgo, F. 2009. A study of lactose metabolism in *Lactococcus garvieae* reveals a genetic marker for distinguishing between dairy and fish biotypes, *Journal of Food Protection*, 72(6), 1248–1254. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.6.1248>
- Fuso, A., Bancalari, E., Castellone, V., Caligiani, A., Gatti, M., ve Bottari, B. 2023. Feeding Lactic Acid Bacteria with Different Sugars: Effect on Exopolysaccharides (EPS) Production and Their Molecular Characteristics, *Foods*, 12(1), 215. <https://doi.org/10.3390/foods12010215>
- Garavand, F., Rouhi, M., Razavi, S. H., Cacciotti, I., ve Mohammadi, R. 2017. Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review, *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 687–707.

- Gaspar, M., Benk\Ho, Z., Dogossy, G., Reczey, K., ve Czigany, T. 2005. Reducing water absorption in compostable starch-based plastics, *Polymer Degradation and Stability*, 90(3), 563–569.
- Ghanbarzadeh, B., ve Oromiehi, A. 2008. Biodegradable biocomposite films based on whey protein and zein: Barrier, mechanical properties and AFM analysis, *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(2), 209–215.
- Ghasemi, M., Najafpour, G., Rahimnejad, M., Beigi, P. A., Sedighi, M., ve Hashemiyeh, B. 2009. Effect of different media on production of lactic acid from whey by *Lactobacillus bulgaricus*, *African Journal of Biotechnology*, 8(1).
- Ghasemlou, M., Aliheidari, N., Fahmi, R., Shojaee-Aliabadi, S., Keshavarz, B., Cran, M. J., ve Khaksar, R. 2013. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils, *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 1117–1126.
- Gómez-Heincke, D., Martínez, I., Partal, P., Guerrero, A., ve Gallegos, C. 2016. Development of antimicrobial active packaging materials based on gluten proteins, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(10), 3432–3438. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7525>
- Gu, L., Zhao, S., Tadesse, B. T., Zhao, G., ve Solem, C. 2024. Scrutinizing a *Lactococcus lactis* mutant with enhanced capacity for extracellular electron transfer reveals a unique role for a novel type-II NADH dehydrogenase, *Applied and Environmental Microbiology*, 90(5), e00414-24. <https://doi.org/10.1128/aem.00414-24>
- Guerra, N. P., Rua, M. L., ve Pastrana, L. 2001. Nutritional factors affecting the production of two bacteriocins from lactic acid bacteria on whey, *International Journal of Food Microbiology*, 70(3), 267–281.
- Guerrero, B. G., Santos, K. de L., Kamimura, E. S., ve de Oliveira, C. A. F. 2024. Application of microbial exopolysaccharides in packaging films for the food industry: A review, *International Journal of Food Science and Technology*, 59(1), 17–29.
- Guerrero, P., Muxika, A., Zarandona, I., ve De La Caba, K. 2019. Crosslinking of chitosan films processed by compression molding, *Carbohydrate Polymers*, 206, 820–826.
- Guntarti, A., Nurani, L. H., Lestari, P., Edityaningrum, C. A., Irham, L. M., ve Rohman, A. 2024. Authentication of clove leaf oil in products (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. ve LM Perry) using gc-ms and FTIR methods combined with chemometric, *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 28(3), 664–680.
- Haddar, A., Hamed, M., Bouallegue, A., Bastos, R., Coelho, E., ve Coimbra, M. A. 2021. Structural elucidation and interfacial properties of a levan isolated from *Bacillus mojavensis*, *Food Chemistry*, 343, 128456.
- Harrazi, N., Özbek, H. N., Yanık, D. K., Zaghib, I., ve Göğüş, F. 2024. Development and characterization of gelatin-based biodegradable films incorporated with pistachio shell hemicellulose, *Journal of Food Science and Technology*, 61(10), 1919–1929. <https://doi.org/10.1007/s13197-024-05968-4>
- Hayek, S. A., Gyawali, R., Aljaloud, S. O., Krastanov, A., & Ibrahim, S. A. 2019. Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products, *Journal of Dairy Research*, 86(4), 490-502.
- Hazrol, M. D., Saupan, S. M., Zainudin, E. S., Wahab, N. I. A., ve Ilyas, R. A. 2022. Effect of kenaf fibre as reinforcing fillers in corn starch-based biocomposite film, *Polymers*, 14(8), 1590.
- Helal, I. M., El-Bessoumy, A., Al-Bataineh, E., Joseph, M. R. P., Rajagopalan, P., Chandramoorthy, H. C., ve Ben Hadj Ahmed, S. 2019. Antimicrobial efficiency of essential oils from traditional medicinal plants of asir region, Saudi Arabia, over drug

- resistant isolates, *BioMed Research International*, 2019(1), 8928306. <https://doi.org/10.1155/2019/8928306>
- Hipfner, J. M., Galbraith, M., Tucker, S., Studholme, K. R., Domalik, A. D., Pearson, S. F., Good, T. P., Ross, P. S., ve Hodum, P. 2018. Two forage fishes as potential conduits for the vertical transfer of microfibrils in Northeastern Pacific Ocean food webs, *Environmental Pollution*, 239, 215–222.
- Horwitz, W. 1975. Identification of aflatoxin by derivative formation on TLC plate, *Journal of the Association of the Official Analytical Chemists*, 12, 14.
- Hussein, M.-D. M., Ghaly, M. F., Osman, M. Y., Al Shimaa, G. S., ve Helal, M. M. 2015. Production and prebiotic activity of exopolysaccharides derived from some probiotics, *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 14(1), 1–9.
- Icer, M. A., Özbay, S., Ağagündüz, D., Kelle, B., Bartkiene, E., Rocha, J. M. F., ve Ozogul, F. 2023. The Impacts of Acidophilic Lactic Acid Bacteria on Food and Human Health: A Review of the Current Knowledge, *Foods*, 12(15), 2965. <https://doi.org/10.3390/foods12152965>
- Imran, M., Reehana, N., Jayaraj, K., Ahamed, A. P., Dhanasekaran, D., Thajuddin, N., Alharbi, N., ve Muralitharan, G. 2016. Statistical optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus plantarum* NTMI05 and NTMI20, *International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 731–745. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.007>
- ISO 1443. 1973. Meat and meat products — Determination of total fat content. <https://www.iso.org/standard/6038.html>
- ISO 15705. 2002. Water quality — Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD) — Small-scale sealed-tube method. <https://www.iso.org/standard/28778.html>
- ISO 1871. 2009. *Food and feed products — General guidelines for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method*. <https://www.iso.org/standard/41320.html>
- Jain, R., ve Tiwari, A. 2015. Biosynthesis of planet friendly bioplastics using renewable carbon source, *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 13, 1–5.
- Jerez, A., Partal, P., Martínez, I., Gallegos, C., ve Guerrero, A. 2007. Protein-based bioplastics: Effect of thermo-mechanical processing, *Rheologica Acta*, 46(5), 711–720. <https://doi.org/10.1007/s00397-007-0165-z>
- Jin, H., Jeong, Y., Yoo, S.-H., Johnston, T. V., Ku, S., ve Ji, G. E. 2019. Isolation and characterization of high exopolysaccharide-producing *Weissella confusa* VP30 from young children's feces, *Microbial Cell Factories*, 18(1), 110. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1158-1>
- Jones, A., Mandal, A., ve Sharma, S. 2015. Protein-based bioplastics and their antibacterial potential, *Journal of Applied Polymer Science*, 132(18), app.41931. <https://doi.org/10.1002/app.41931>
- Jurášková, D., Ribeiro, S. C., ve Silva, C. C. 2022. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: From biosynthesis to health-promoting properties, *Foods*, 11(2), 156.
- Kafle, B., Böcker, U., Wubshet, S. G., Dankel, K., Måge, I., O'Farrell, M., ve Afseth, N. K. 2023. Fourier-transform infrared spectroscopy for characterization of liquid protein solutions: A comparison of two sampling techniques, *Vibrational Spectroscopy*, 124, 103490. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2022.103490>
- Kamnev, A. A., Dyatlova, Y. A., Kenzhegulov, O. A., Vladimirova, A. A., Mamchenkova, P. V., ve Tugarova, A. V. 2021. Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopic analyses of microbiological samples and biogenic selenium nanoparticles of microbial origin: Sample preparation effects, *Molecules*, 26(4), 1146. <https://doi.org/10.3390/molecules26041146>

- Karan, H., Funk, C., Grabert, M., Oey, M., ve Hankamer, B. 2019. Green bioplastics as part of a circular bioeconomy, *Trends in Plant Science*, 24(3), 237–249.
- Kaur, G., Uisan, K., Ong, K. L., ve Lin, C. S. K. 2018. Recent trends in green and sustainable chemistry ve waste valorisation: Rethinking plastics in a circular economy, *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 9, 30–39.
- Kelleher, P., Bottacini, F., Mahony, J., Kilcawley, K. N., ve van Sinderen, D. 2017. Comparative and functional genomics of the *Lactococcus lactis* taxon; insights into evolution and niche adaptation, *BMC Genomics*, 18(1), 267. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3650-5>
- Kelleher, P., Mahony, J., Bottacini, F., Lugli, G. A., Ventura, M., ve van Sinderen, D. 2019. The *Lactococcus lactis* Pan-Plasmidome, *Frontiers in Microbiology*, 10, 707. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00707>
- Khan, R., ve Joseph, D. 2015. Extraction and optimization of exopolysaccharide production from lactic acid bacteria and its application in biosorption of chromium from waste water, *European Academic Research*, 3(4), 4576–4588.
- Khoshnevisan, B., Tsapekos, P., Zhang, Y., Valverde-Pérez, B., ve Angelidaki, I. 2019. Urban biowaste valorization by coupling anaerobic digestion and single cell protein production, *Bioresource Technology*, 290, 121743.
- Klimek-Szczykutowicz, M., Szopa, A., ve Ekiert, H. 2020. Citrus limon (lemon) phenomenon: A review of the chemistry, pharmacological properties, applications in the modern pharmaceutical, food, and cosmetics industries, and biotechnological studies, *Plants*, 9(1), 119. <https://doi.org/10.3390/plants9010119>
- Klinmalai, P., Srisa, A., Laorenza, Y., Katekhong, W., ve Harnkarnsujarit, N. 2021. Antifungal and plasticization effects of carvacrol in biodegradable poly (lactic acid) and poly (butylene adipate terephthalate) blend films for bakery packaging, *Lwt*, 152, 112356.
- Korcz, E., ve Varga, L. 2021. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry, *Trends in Food Science ve Technology*, 110, 375–384. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.014>
- Kordesedehi, R., Taheri-Kafrani, A., Rabbani-Khorasgani, M., Kazemi, R., Mutangadura, D., ve Haertle, T. 2018. Modification of IgE binding to α S1-casein by proteolytic activity of *Enterococcus faecium* isolated from Iranian camel milk samples, *Journal of Biotechnology*, 276–277, 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.04.005>
- Kouhi, M., Prabhakaran, M. P., ve Ramakrishna, S. 2020. Edible polymers: An insight into its application in food, biomedicine and cosmetics, *Trends in Food Science ve Technology*, 103, 248–263.
- Krischke, W., Schröder, M., ve Trösch, W. 1991. Continuous production of L-lactic acid from whey permeate by immobilized *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 34, 573–578.
- Kröper, A. A., Zikeli, S., Wimmer, M., ve Zörb, C. 2025. Lentils can absorb amino acids as a nitrogen source supporting early growth, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 188(3), 456–463 <https://doi.org/10.1002/jpln.202400504>
- Kunasundari, B., Murugaiyah, V., Kaur, G., Maurer, F. H., ve Sudesh, K. 2013. Revisiting the single cell protein application of *Cupriavidus necator* H16 and recovering bioplastic granules simultaneously, *PLoS One*, 8(10), e78528.
- Lau, O.-W., ve Wong, S.-K. 2000. Contamination in food from packaging material, *Journal of Chromatography A*, 882(1–2), 255–270.
- Li, H., Gao, K., Guo, H., Li, R., ve Li, G. 2024. Advancements in Gellan Gum-Based Films and Coatings for Active and Intelligent Packaging, *Polymers*, 16(17), 2402.

- Li, H., Xing, R., Wang, Z., ve Li, G. 2025. Advancements in xanthan gum-based film and coating for food packaging, *Carbohydrate Polymers*, 123409.
- Liang, R., Xu, S., Shoemaker, C. F., Li, Y., Zhong, F., ve Huang, Q. 2012. Physical and antimicrobial properties of peppermint oil nanoemulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7548–7555. <https://doi.org/10.1021/jf301129k>
- Liao, H., Yue, C., Zhai, Z., Lian, X., Xie, H., Fang, Y., ve Fan, F. 2024. Preparation of gelatin/gelatin-dextran/gelatin-based three-layer films with cinnamaldehyde and α -tocopherol for scallop (*Patinopecten yessoensis*) adductor muscle preservation, *LWT*, 213, 117067. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.117067>
- Lim, H., ve Hoag, S. W. 2013. Plasticizer Effects on physical–mechanical properties of solvent cast soluplus® films, *AAPS PharmSciTech*, 14(3), 903–910. <https://doi.org/10.1208/s12249-013-9971-z>
- Liu, J.-M., Fehér, C., Cao, M., Lu, F., ve Jensen, P. R. 2021. Lactic acid bacteria: Microbial metabolism and expanding applications, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 794164.
- Liu, M., Bayjanov, J. R., Renckens, B., Nauta, A., ve Siezen, R. J. 2010. The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: A genomic comparison, *BMC Genomics*, 11(1), 36. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-36>
- Liu, W., Wei, Y., Xiang, R., Dong, B., ve Yang, X. 2025. Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides Unveiling Multifaceted Insights from Structure to Application in Foods and Health Promotion, *Foods*, 14(5), 823. <https://doi.org/10.3390/foods14050823>
- Loforte, Y., Fernandes, N., Almeida, A. M. de, Cadavez, V., ve Gonzales-Barrón, Ú. 2025. A Meta-analysis on the in vitro antagonistic effects of lactic acid bacteria from dairy products on foodborne pathogens, *Foods*, 14. <https://doi.org/10.3390/foods14060907>
- Looijesteijn, P. J., Boels, I. C., Kleerebezem, M., ve Hugenholtz, J. 1999. Regulation of exopolysaccharide production by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* by the sugar source, *Applied and Environmental Microbiology*, 65(11), 5003–5008. <https://doi.org/10.1128/aem.65.11.5003-5008.1999>
- Lorenz-Fonfria, V. A. 2020. Infrared difference spectroscopy of proteins: from bands to bonds, *Chemical Reviews*, 120(7), 3466–3576. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00449>
- Luesink, E. J., Marugg, J. D., Kuipers, O. P., ve de Vos, W. M. 1999. Characterization of the divergent sacBK and sacAR operons, involved in sucrose utilization by *Lactococcus lactis*, *Journal of Bacteriology*, 181(6), 1924–1926. <https://doi.org/10.1128/jb.181.6.1924-1926.1999>
- Macedo, M. G., Lacroix, C., Gardner, N. J., ve Champagne, C. P. 2002. Effect of medium supplementation on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M in whey permeate, *International Dairy Journal*, 12(5), 419–426.
- Macwan, S. R., Parmar, S. C., Prajapati, J. B., ve Aparnathi, K. D. 2016. Evaluation of cheddar cheese whey and paneer whey as a growth medium for lactic acid bacteria, *Journal of Pure ve Applied Microbiology*, 10(2).
- Mali, K. K., Dhawale, S. C., Dias, R. J., Dhane, N. S., ve Ghorpade, V. S. 2018. Citric acid crosslinked carboxymethyl cellulose-based composite hydrogel films for drug delivery, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(4).
- Marichelvam, M. K., Jawaid, M., ve Asim, M. 2019. Corn and rice starch-based bio-plastics as alternative packaging materials, *Fibers*, 7(4), 32.
- Marjadi, D., Dharaiya, N., ve Ngo, A. D. 2010. Bioplastic: A better alternative for sustainable future, *Everyman's Sci*, 15(2), 90–92.

- Martins, G., Carboni, A., Hugo, A., Castilho, P., ve Gómez-Zavaglia, A. 2023. Chickpeas' and Lentils' soaking and cooking wastewaters repurposed for growing lactic acid bacteria, *Foods*, 12. <https://doi.org/10.3390/foods12122324>
- Matassa, S., Batstone, D. J., Hülsen, T., Schnoor, J., ve Verstraete, W. 2015. Can direct conversion of used nitrogen to new feed and protein help feed the world?, *Environmental Science & Technology*, 49(9), 5257–5254
- Matassa, S., Boon, N., Pikaar, I., ve Verstraete, W. 2016. Microbial protein: Future sustainable food supply route with low environmental footprint, *Microbial Biotechnology*, 9(5), 568–575.
- Matassa, S., Papirio, S., Pikaar, I., Hülsen, T., Leijenhurst, E., Esposito, G., Pirozzi, F., ve Verstraete, W. 2020. Upcycling of biowaste carbon and nutrients in line with consumer confidence: The “full gas” route to single cell protein, *Green Chemistry*, 22(15), 4912–4929.
- Matsuguma, Y., Takada, H., Kumata, H., Kanke, H., Sakurai, S., Suzuki, T., Itoh, M., Okazaki, Y., Boonyatumanond, R., Zakaria, M. P., Weerts, S., ve Newman, B. 2017. Microplastics in sediment cores from asia and africa as indicators of temporal trends in plastic pollution, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 73(2), 230–239. <https://doi.org/10.1007/s00244-017-0414-9>
- Min, D. B., ve Steenson, D. F. 1998. Crude fat analysis, *Food Analysis*, 2, 201–216.
- Mıdık, F., Tokatlı, M., Elmacı, S. B., ve Özçelik, F. 2020. Influence of different culture conditions on exopolysaccharide production by indigenous lactic acid bacteria isolated from pickles, *Archives of Microbiology*, 202, 875–885. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01799-6>
- Mohamed, S. A., El-Sakhawy, M., ve El-Sakhawy, M. A.-M. 2020. Polysaccharides, protein and lipid-based natural edible films in food packaging: A review, *Carbohydrate Polymers*, 238, 116178.
- Mohammadi, M., Zoghi, A., ve Azizi, M. H. 2023. Assessment of properties of gluten-based edible film formulated with beeswax and DATEM for hamburger bread coating, *Food Science ve Nutrition*, 11(4), 2061–2068. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3242>
- Mohd Nadzir, M., Nurhayati, R. W., Idris, F. N., ve Nguyen, M. H. 2021. Biomedical applications of bacterial exopolysaccharides: A review, *Polymers*, 13(4), 530.
- Murali Sankar, P., Karthiba, L., Shreedeevasena, S., Anantha Raju, P., Vanitha, S., Salama, E. A., Kamalakannan, A., ve Jeyakumar, P. 2023. Bacterial single cell protein: Applications, productions, and commercialization: Opportunities and challenges, *Food Microbiology Based Entrepreneurship: Making Money From Microbes*, 153–172.
- Muscat, D., Adhikari, B., ve Chaudhary, D. S. 2012. Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers, *Journal of Food Engineering*, 109(2), 189–201.
- Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., ve Duodu, K. G. 2004. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*), *Food Chemistry*, 86(3), 325–332. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.038>
- Nandane, A. S., ve Jain, R. 2015. Study of mechanical properties of soy protein based edible film as affected by its composition and process parameters by using RSM, *Journal of Food Science and Technology*, 52(6), 3645–3650. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1417-4>
- Narancic, T., Verstichel, S., Reddy Chaganti, S., Morales-Gamez, L., Kenny, S. T., De Wilde, B., Babu Padamati, R., ve O'Connor, K. E. 2018. Biodegradable plastic blends create new possibilities for end-of-life management of plastics but they are not a panacea for plastic

- pollution, *Environmental Science ve Technology*, 52(18), 10441–10452. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02963>
- Nasseri, A., Rasoul-Amini, S., Morowvat, M. H., Ghasemi, Y., ve others. 2011. Single cell protein: Production and process, *American Journal of Food Technology*, 6(2), 103–116.
- Nguyen, P.-T., Nguyen, T.-T., Bui, D.-C., Hong, P.-T., Hoang, Q.-K., ve Nguyen, H.-T. 2020. Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: The manipulation of environmental stresses for industrial applications, *AIMS Microbiology*, 6(4), 451.
- Nielsen, S. S. 2010. Phenol-Sulfuric Acid Method for Total Carbohydrates. in: *Food Analysis Laboratory Manual*, (Ed.) S. S. Nielsen, Springer US. pp. 47–53. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1463-7_6
- Oliveira, R., Carvalho, P., Marques, G., Ferreira, L., Nunes, M., Rocha, I., Ma, Y., Carvalho, M., Vosátka, M., ve Freitas, H. 2017. Increased protein content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacteria under water deficit conditions, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97 (13), 4379–4385. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8201>
- Onur, M., ve Önlü, H. 2021. Farklı gıda ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi, *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 32, 562–572.
- Onur, M., ve Önlü, H. 2024. Isolation, characterization of *Weissella confusa* and *Lactococcus lactis* from different milk sources and determination of probiotic features, *Brazilian Journal of Microbiology*, 55(1), 663–679.
- Oriani, V. B., Molina, G., Chiumarelli, M., Pastore, G. M., ve Hubinger, M. D. 2014. Properties of cassava starch-based edible coating containing essential oils, *Journal of Food Science*, 79(2), 189–194. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12332>
- Osman, A. I., Hosny, M., Eltaweil, A. S., Omar, S., Elgarahy, A. M., Farghali, M., Yap, P.-S., Wu, Y.-S., Nagandran, S., Batumalaie, K., Gopinath, S. C. B., John, O. D., Sekar, M., Saikia, T., Karunanithi, P., Hatta, M. H. M., ve Akinyede, K. A. 2023. Microplastic sources, formation, toxicity and remediation: A review, *Environmental Chemistry Letters*, 21(4), 2129–2169. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01593-3>
- Panesar, P. S., Kennedy, J. F., Knill, C. J., ve Kosseva, M. 2010. Production of L (+) lactic acid using *Lactobacillus casei* from whey, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53, 219–226.
- Patel, P., Patel, B., Amaresan, N., Joshi, B., Shah, R., ve Krishnamurthy, R. 2020. Isolation and characterization of *Lactococcus garvieae* from the fish gut for in vitro fermentation with carbohydrates from agro-industrial waste, *Biotechnology Reports*, 28, e00555. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00555>
- Pescuma, M., de Valdez, G. F., ve Mozzi, F. 2015. Whey-derived valuable products obtained by microbial fermentation, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 6183–6196.
- Pikaar, I., Matassa, S., Bodirsky, B. L., Weindl, I., Humpeöder, F., Rabaey, K., Boon, N., Bruschi, M., Yuan, Z., Van Zanten, H., ve others. 2018. Decoupling livestock from land use through industrial feed production pathways, *Environmental Science ve Technology*, 52(13), 7351–7359.
- Pires, A. F., Díaz, O., Cobos, A., ve Pereira, C. D. 2024. A Review of recent developments in edible films and coatings-focus on whey-based materials, *Foods*, 13(16), 2638. <https://doi.org/10.3390/foods13162638>
- Pires, A. F., Marnotes, N. G., Rubio, O. D., Garcia, A. C., ve Pereira, C. D. 2021. Dairy by-products: A review on the valorization of whey and second cheese whey, *Foods*, 10(5), 1067. <https://doi.org/10.3390/foods10051067>

- Plastic Europe. 2023. *Plastics – Facts 2023*. <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2023/>
- Plavec, T. V., ve Berlec, A. 2020. Safety aspects of genetically modified lactic acid bacteria, *Microorganisms*, 8(2), 297.
- Plaza-Vinuesa, L., Sánchez-Arroyo, A., Moreno, F. J., de las Rivas, B., ve Muñoz, R. 2023. Dual 6Pβ-Galactosidase/6Pβ-Glucosidase GH1 family for lactose metabolism in the probiotic bacterium *Lactiplantibacillus plantarum* WCFS1, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(28), 10693–10700. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c01158>
- Qazanfarzadeh, Z., ve Kumaravel, V. 2023. Hydrophobisation approaches of protein-based bioplastics, *Trends in Food Science ve Technology*, 138, 27–43.
- Rama, G. R., Kuhn, D., Beux, S., Maciel, M. J., ve de Souza, C. F. V. 2019. Potential applications of dairy whey for the production of lactic acid bacteria cultures, *International Dairy Journal*, 98, 25–37.
- Rauch, P. J., ve de Vos, W. M. 1992. Transcriptional regulation of the Tn5276-located *Lactococcus lactis* sucrose operon and characterization of the *sacA* gene encoding sucrose-6-phosphate hydrolase, *Gene*, 121(1), 55–61. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(92\)90161-h](https://doi.org/10.1016/0378-1119(92)90161-h)
- Ravindra, P. ve others. 2000. Value-added food: Single cell protein, *Biotechnology Advances*, 18(6), 459–479.
- Reis, C. A., Gomes, A., ve do Amaral Sobral, P. J. 2023. Films based on biopolymers incorporated with active compounds encapsulated in emulsions: Properties and potential applications—a review, *Foods*, 12(19), 3602. <https://doi.org/10.3390/foods12193602>
- Renzetti, S., Behr, J., Vogel, R. F., Barbiroli, A., Iametti, S., Bonomi, F., ve Arendt, E. K. 2012. Transglutaminase treatment of brown rice flour: A chromatographic, electrophoretic and spectroscopic study of protein modifications, *Food Chemistry*, 131(4), 1076–1085.
- Revin, V., Liyaskina, E., Nazarkina, M., Bogatyreva, A., ve Shchankin, M. 2018. Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products, *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 151–159.
- Rizvi, N., Aleem, S., Khan, M. R., Ashraf, S., ve Busquets, R. 2022. Quantitative Estimation of Protein in Sprouts of *Vigna radiata* (Mung Beans), *Lens culinaris* (Lentils), and *Cicer arietinum* (Chickpeas) by Kjeldahl and Lowry Methods, *Molecules*, 27. <https://doi.org/10.3390/molecules27030814>
- Ruas-Madiedo, P., ve De Los Reyes-Gavilán, C. G. 2005. Invited review: Methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria, *Journal of Dairy Science*, 88(3), 843–856.
- Rubião, C. A. 2018. *Lactococcus garvieae*: Emergent pathogen usually misidentified as enterococcal species, *MOJ Biology and Medicine*, 3(2), 27-28. <https://doi.org/10.15406/mojbm.2018.03.00071>
- Rudravaram, R., Chandel, A. K., Rao, L. V., Hui, Y. Z., ve Ravindra, P. 2009. Bio (Single Cell) protein: Issues of production, toxins and commercialisation status, *Agricultural Wastes*, 129–153.
- Sánchez, J. T., García, A. V., Martínez-Abad, A., Vilaplana, F., Jiménez, A., ve Garrigós, M. C. 2020. Physicochemical and functional properties of active fish gelatin-based edible films added with aloe vera gel, *Foods*, 9(9), 1248. <https://doi.org/10.3390/foods9091248>
- Sánchez-González, L., Chiralt, A., González-Martínez, C., ve Cháfer, M. 2011. Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan, *Journal of Food Engineering*, 105(2), 246–253.

- Sari, N. H., Pruncu, C. I., Sapuan, S. M., Ilyas, R. A., Catur, A. D., Suteja, S., Sutaryono, Y. A., ve Pullen, G. 2020. The effect of water immersion and fibre content on properties of corn husk fibres reinforced thermoset polyester composite, *Polymer Testing*, 91, 106751.
- Seyedtaghiya, M. H., Fasaee, B. N., ve Peighambari, S. M. 2021. Antimicrobial and antibiofilm effects of *Satureja hortensis* essential oil against *Escherichia coli* and *Salmonella* isolated from poultry, *Iranian Journal of Microbiology*, 13(1), 74.
- Sharif, M., Zafar, M. H., Aqib, A. I., Saeed, M., Farag, M. R., ve Alagawany, M. 2021. Single cell protein: Sources, mechanism of production, nutritional value and its uses in aquaculture nutrition, *Aquaculture*, 531, 735885.
- Sharma, A., Mukherjee, S., Tadi, S. R. R., Ramesh, A., ve Sivaprakasam, S. 2021. Kinetics of growth, plantaricin and lactic acid production in whey permeate based medium by probiotic *Lactobacillus plantarum* CRA52, *Lwt*, 139, 110744.
- Sharma, S., Sharma, V., ve Chatterjee, S. 2021. Microplastics in the Mediterranean Sea: Sources, pollution intensity, sea health, and regulatory policies. *Frontiers in Marine Science*, 8, 634934.
- Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S. M., Hosseini, S. M., ve Khaksar, R. 2013. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil, *International Journal of Biological Macromolecules*, 52, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.08.026>
- Siakeng, R., Jawaid, M., Ariffin, H., Sapuan, S. M., Asim, M., ve Saba, N. 2019. Natural fiber reinforced polylactic acid composites: A review, *Polymer Composites*, 40(2), 446–463. <https://doi.org/10.1002/pc.24747>
- Silva, P. I., Rosário, D. K. A., Carneiro, J. C. S., Pimentel Filho, N. J., Ferreira, L. R., ve Bernardes, P. C. 2019. *Cinnamon essential oil reduces adhesion of food pathogens to polystyrene*. <https://agris.fao.org/search/en/providers/122640/records/647480e22d3f560f80b18d4e>
- Simangunsong, D. I., Hutapea, T. H., Lee, H. W., Ahn, J. O., Sitompul, J., 2018. The effect of nanocrystalline cellulose (NCC) filler on polylactic acid (PLA) nanocomposite properties, *Journal of Engineering and Technological Sciences*, 50(4), 578–587.
- Singha, S., Mahmutovic, M., Zamalloa, C., Stragier, L., Verstraete, W., Svagan, A. J., Das, O., ve Hedenqvist, M. S. 2021. Novel bioplastic from single cell protein as a potential packaging material, *ACS Sustainable Chemistry ve Engineering*, 9(18), 6337–6346.
- Skopinska-Wisniewska, J., Tuszyńska, M., ve Olewnik-Kruszkowska, E. 2021. Comparative Study of Gelatin Hydrogels Modified by Various Cross-Linking Agents, *Materials*, 14(2), 396. <https://doi.org/10.3390/ma14020396>
- Slavov, A. K. 2017. General characteristics and treatment possibilities of ¹SEP dairy wastewater – A review, *Food Technology and Biotechnology*, 55(1), 14–28. <https://doi.org/10.17113/ftb.55.01.17.4520>
- Song, X., Zuo, G., ve Chen, F. 2018. Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films, *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1302–1309.
- Sørensen, H. M., Rochfort, K. D., Maye, S., MacLeod, G., Brabazon, D., Loscher, C., ve Freeland, B. 2022a. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Production, purification and health benefits towards functional food, *Nutrients*, 14(14), 2938.
- Sørensen, H. M., Rochfort, K. D., Maye, S., MacLeod, G., Brabazon, D., Loscher, C., ve Freeland, B. 2022b. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: production, purification and health

- benefits towards functional food, *Nutrients*, 14(14), 2938. <https://doi.org/10.3390/nu14142938>
- Souza, A. C. D., Goto, G. E. O., Mainardi, J. A., Coelho, A. C. V., ve Tadini, C. C. 2013. Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties, *LWT-Food Science and Technology*, 54(2), 346–352.
- Sozzi, T., Poulin, J., ve Maret, R. 1978. Effect of incubation temperature on the development of lactic acid bacteria and their phages, *Journal of Dairy Research*, 45, 259–265. <https://doi.org/10.1017/S0022029900016435>
- Sukan, A., Roy, I., ve Keshavarz, T. 2015. Dual production of biopolymers from bacteria, *Carbohydrate Polymers*, 126, 47–51.
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., ve Bigger, S. W. 2003. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3197–3207.
- Syafiq, R., Sapuan, S. M., Zuhri, M. Y. M., Ilyas, R. A., Nazrin, A., Sherwani, S. F. K., ve Khalina, A. 2020. Antimicrobial activities of starch-based biopolymers and biocomposites incorporated with plant essential oils: A review, *Polymers*, 12(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/polym12102403>
- Taban, A., Saharkhiz, M. J., ve Khorram, M. 2020. Formulation and assessment of nano-encapsulated bioherbicides based on biopolymers and essential oil, *Industrial Crops and Products*, 149, 112348.
- Talan, A., Pokhrel, S., Tyagi, R., ve Drogui, P. 2022. Biorefinery strategies for microbial bioplastics production: Sustainable pathway towards Circular Bioeconomy, *Bioresource Technology Reports*, 17, 100875.
- Tan, K.-X., Chamundeswari, V. N., ve Loo, S. C. J. 2020. Prospects of kefir as a food-derived biopolymer for agri-food and biomedical applications, *RSC Advances*, 10(42), 25339–25351.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Pisuchpen, S., ve Osako, K. 2016. Mechanical, thermal and heat sealing properties of fish skin gelatin film containing palm oil and basil essential oil with different surfactants, *Food Hydrocolloids*, 56, 93–107. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.005>
- Torres, S., Navia, R., Campbell Murdy, R., Cooke, P., Misra, M., ve Mohanty, A. K. 2015. Green composites from residual microalgae biomass and poly(butylene adipate-*co*-terephthalate): Processing and plasticization, *ACS Sustainable Chemistry ve Engineering*, 3(4), 614–624. <https://doi.org/10.1021/sc500753h>
- Tsouko, E., Kourmentza, C., Ladakis, D., Kopsahelis, N., Mandala, I., Papanikolaou, S., Paloukis, F., Alves, V., ve Koutinas, A. 2015. Bacterial cellulose production from industrial waste and by-product streams, *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7), 14832–14849.
- Uguen, P., Hamelin, J., Le Pennec, J.-P., ve Blanco, C. 1999. Influence of osmolarity and the presence of an osmoprotectant on *Lactococcus lactis* growth and bacteriocin production, *Applied and Environmental Microbiology*, 65(1), 291–293. <https://doi.org/10.1128/aem.65.1.291-293.1999>
- Uranga, J., Llamas, M. G., Agirrezabala, Z., Dueñas, M. T., Etxebeste, O., Guerrero, P., ve de la Caba, K. 2020a. Compression molded soy protein films with exopolysaccharides produced by cider lactic acid bacteria, *Polymers*, 12(9), 2106. <https://doi.org/10.3390/polym12092106>

- Uranga, J., Nguyen, B. T., Si, T. T., Guerrero, P., ve de la Caba, K. 2020b. The effect of cross-linking with citric acid on the properties of agar/fish gelatin films, *Polymers*, 12(2), 291. <https://doi.org/10.3390/polym12020291>
- Usoltsev, D., Sitnikova, V., Kajava, A., ve Uspenskaya, M. 2019. Systematic FTIR spectroscopy study of the secondary structure changes in human serum albumin under various denaturation conditions, *Biomolecules*, 9(8), 359. <https://doi.org/10.3390/biom9080359>
- Van Emmerik, T., Kieu-Le, T.-C., Loozen, M., Van Oeveren, K., Strady, E., Bui, X.-T., Egger, M., Gasperi, J., Lebreton, L., ve Nguyen, P.-D. 2018. A methodology to characterize riverine macroplastic emission into the ocean, *Frontiers in Marine Science*, 5, 372.
- van Hijum, S. A. F. T., Kralj, S., Ozimek, L. K., Dijkhuizen, L., ve van Geel-Schutten, I. G. H. 2006. Structure-function relationships of glucansucrase and fructansucrase enzymes from lactic acid bacteria, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70(1), 157–176. <https://doi.org/10.1128/MMBR.70.1.157-176.2006>
- Vaningelgem, F., Zamfir, M., Mozzi, F., Adriany, T., Vancanneyt, M., Swings, J., ve De Vuyst, L. 2004. Biodiversity of exopolysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* strains is reflected in their production and their molecular and functional characteristics, *Applied and Environmental Microbiology*, 70(2), 900–912. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.2.900-912.2004>
- Varghese, S., Dhanraj, N., Rebello, S., Sindhu, R., Binod, P., Pandey, A., Jisha, M., ve Awasthi, M. K. 2022. Leads and hurdles to sustainable microbial bioplastic production, *Chemosphere*, 305, 135390.
- Varona, S., Rodríguez-Rojo, S., Martín, Á., Cocero, M. J., ve Duarte, C. M. 2011. Supercritical impregnation of lavandin (*Lavandula hybrida*) essential oil in modified starch, *The Journal of Supercritical Fluids*, 58(2), 313–319.
- Vosough, P. R., Dovom, M. R. E., Najafi, M. B. H., Javadmanesh, A., ve Mayo, B. 2022. Biodiversity of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria from Iranian traditional Kishk and optimization of EPS yield by *Enterococcus* spp., *Food Bioscience*. 49, 101869. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101869>
- Wang, B., Song, Q., Zhao, F., Han, Y., ve Zhou, Z. 2019. Production optimization, partial characterization and properties of an exopolysaccharide from *Lactobacillus sakei* L3, *International Journal of Biological Macromolecules*, 141, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.241>
- Wang, J., Xu, X., Zhao, F., Yin, N., Zhou, Z., ve Han, Y. 2022. Biosynthesis and structural characterization of levan by a recombinant levansucrase from *Bacillus subtilis* ZW019, *Waste and Biomass Valorization*, 13(11), 4599–4609. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01814-w>
- Wang, Q., Bai, J., Ning, B., Fan, L., Sun, T., Fang, Y., Wu, J., Li, S., Duan, C., ve Zhang, Y. 2020. Effects of bisphenol A and nanoscale and microscale polystyrene plastic exposure on particle uptake and toxicity in human Caco-2 cells, *Chemosphere*, 254, 126788.
- Wang, X., Shao, C., Liu, L., Guo, X., Xu, Y., ve Lü, X. 2017. Optimization, partial characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* KX041, *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1173–1184. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.118>
- Weinberg, Z., Shatz, O., Chen, Y., Yosef, E., Nikbahat, M., Ben-Ghedalia, D., ve Miron, J. 2007. Effect of lactic acid bacteria inoculants on in vitro digestibility of wheat and corn silages, *Journal of Dairy Science*, 90 (10), 4754–4762. <https://doi.org/10.3168/JDS.2007-0176>
- Welman, A. D., ve Maddox, I. S. 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Perspectives and challenges, *Trends in Biotechnology*, 21(6), 269–274.

- Wongsa, P., Phatikulrungsun, P., ve Prathumthong, S. 2022. FT-IR characteristics, phenolic profiles and inhibitory potential against digestive enzymes of 25 herbal infusions, *Scientific Reports*, 12, 6631. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10669-z>
- Wu, J., Sun, X., Guo, X., Ge, S., ve Zhang, Q. 2017. Physicochemical properties, antimicrobial activity and oil release of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil, *Aquaculture and Fisheries*, 2(4), 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2017.06.004>
- Wu, L., Cui, B., Dong, D., Wu, Z., Li, J., Lu, L., Wang, N., Nishinari, K., ve Zhao, M. 2024. Effect of mixture microstructure/compatibility on the properties of type-A gelatin-dextran edible films, *Carbohydrate Polymers*, 329, 121733.
- Yadav, M. K., Song, J. H., Vasquez, R., Lee, J. S., Kim, I. H., ve Kang, D.-K. 2024. Methods for detection, extraction, purification, and characterization of exopolysaccharides of lactic acid bacteria—A systematic review, *Foods*, 13(22), 3687.
- Yermagambetova, A., Tazhibayeva, S., Takhistov, P., Tyussyupova, B., Tapia-Hernández, J. A., ve Musabekov, K. 2024. Microbial polysaccharides as functional components of packaging and drug delivery applications, *Polymers*, 16(20), 2854.
- Yuliana, N., Sumardi, S., Jatmiko, E., Rosaline, M., ve Iqbal, M. 2020. Potentially lactic acid bacteria as an EPS producing starter from yellow sweet potato fermentation, *Biodiversitas*, 21(9). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210944>
- Zeidan, A. A., Poulsen, V. K., Janzen, T., Buldo, P., Derkx, P. M., Øregaard, G., ve Neves, A. R. 2017. Polysaccharide production by lactic acid bacteria: From genes to industrial applications, *FEMS Microbiology Reviews*, 41(Supp_1), S168–S200.
- Zhang, K., Hamidian, A. H., Tubić, A., Zhang, Y., Fang, J. K., Wu, C., ve Lam, P. K. 2021. Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment: A review, *Environmental Pollution*, 274, 116554.
- Zhang, Y., Kumar, A., Hardwidge, P. R., Tanaka, T., Kondo, A., ve Vadlani, P. V. 2016. D-lactic acid production from renewable lignocellulosic biomass via genetically modified *Lactobacillus plantarum*, *Biotechnology Progress*, 32(2), 271–278.
- Zhou, J., Wang, W., Yang, X., Yu, D., ve Liu, P. 2024. Electrospun gelatin/tea polyphenol@pullulan nanofibers for fast-dissolving antibacterial and antioxidant applications, *Journal of Food Science*, 89(11), 7803–7818. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17425>

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Halil İbrahim UZUN

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Gediktaş Lisesi, İstanbul	2004
Üniversite	: Atatürk Üniversitesi, Erzurum	2009
Yüksek Lisans	: Sakarya Üniversitesi, Sakarya	2012
Doktora	: Yıldız Teknik Üniversitesi	2018

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2009-2012	Çevre Vakfı	Genel Sekreter
2012-2018	Yıldız Teknik Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2018-2022	Muş Alparslan Üniversitesi	Araştırma Görevlisi, Dr.
2022 – Halen	Muş Alparslan Üniversitesi	Doktor Öğretim Üyesi

UZMANLIK ALANI

Çevre Mühendisliği, yeraltı suları, su arıtımı, atık azaltımı, biyoteknoloji, yaşam döngüsü analizi

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

Uluslararası dergilerde yayınlanan makaleler

1. Uzun Halil İbrahim, Debik Eyup (2021). Economic Evaluation of Fluoride Removal by Membrane Capacitive Deionization, Environmental Research and Technology, 4(4), 352-357., Doi: 10.35208/ert.915844
2. Ulucan Altuntaş Kubra, Uzun Halil İbrahim, Ustundağ Cem Bulent, Debik Eyup (2019). Adsorption of copper ion from aqueous solutions by well-crystallized nanosized hydroxyapatite, Materials Research Express, 6(12), 125545, Doi: 10.1088/2053-1591/ab66a1
3. Oz Nurtac, Topal Bayram, Uzun Halil İbrahim (2019). Prediction of Water Quality in Riva River Watershed Ecological Chemistry and Engineering S, 26(4), 727-742., Doi: 10.1515/eces-2019-0051

4. Uzun Halil Ibrahim, Debik Eyup (2019). Membran Kapasitif Deiyonizasyon Prosesi ile Sertlik Giderimi. Academic Platform Journal of Engineering and Science, 7, 341-346., Doi: 10.21541/apjes.491791
5. Uzun Halil Ibrahim, Debik Eyup (2019). Detection of effective parameters in arsenic removal with capacitive deionization process and arsenic removal from wastewater. Environmental Research and Technology, 2(1), 13-18.
6. Uzun Halil Ibrahim, Debik Eyup (2019). Economical approach to nitrate removal via membrane capacitive deionization. Separation and Purification Technology, 209, 776-781., Doi: 10.1016/j.seppur.2018.09.037
7. Oz Nurtac, Topal Bayram, Uzun Halil Ibrahim (2016). Assessment of an important river water quality in Turkey. Problems of water supply, drainage and hydraulics, 27, 262-268.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan bildiriler

1. Uzun Halil Ibrahim, Onlu Harun (2024). Whey and Chickpea Extract for Sustainable Protein Production: Fermentation with *Lactococcus garvieae*, The 7th International Symposium on the Environment and Morals, 1(1), 200-209.
2. Uzun Halil Ibrahim, Debik Eyup (2020). Membrane Capacitive Deionisation of Groundwater
Economic Approach to Fluoride Removal by Method. The 5th International Symposium on the Environment and Morals, 1(1), 400-409.
3. Uzun Halil Ibrahim, Debik Eyup (2019). Boron removal from wastewater of concentrator and boric acid production. Water Perspectives in Emerging Countries Water Resources and Climate Change -Impacts, Mitigation and Adaptation, 1(1), 164-175.
4. Deveci Gökhan, Uzun Halil Ibrahim, Altuntas Kubra, Debik Eyup (2019). Improvement of the Effect of Agitator Design on Adsorption Performance in Organic Matter Removal by Computational Fluid Dynamics Method. International The 1st Innovation Sustainability Technology and Education in Civil Engineering Conference, 1(1), 602-618.
5. Uzun Halil Ibrahim, Arslan Zumre Busra, Altuntas Kubra, Debik Eyup (2018). Kinetic Study for Nitrate Removal by Nano Zero-Valent Iron. Water-Energy-Food Nexus in MENA Region
6. Oz Nurtac, Topal Bayram, Uzun Halil Ibrahim (2018). Prediction of Water Quality Using Artificial Neural Network (ANN), Decision Tree and Logistics Regression Models: Riva River Watershed. International Conference On Resource Recovery In Environmental Engineering, 1(1), 101-101.
7. Uzun Halil Ibrahim (2018). Boric Acid Recovery from Boric Acid Production and Concentrator Plant Wastewater. International Congress on Resource Recovery in Environmental Engineering, 41-45.
8. Uzun Halil Ibrahim, Debik Eyup (2018). Hardness Removal by Membrane Capacitive Deionisation Process. 4th International Environment and Morality Symposium, 1(1), 590-599.
9. Uzun Halil Ibrahim, Debik Eyup (2018). Detection of Effective Parameters in Arsenic Removal With Capacitive Deionization Process and Arsenic Removal from Wastewater. EurAsia Waste Management Symposium 2018, 577-584.
10. Uzun Halil Ibrahim, Debik Eyup (2018). Sulfate Removal by Capacitive Deionization (CDI) Process and Cost Analysis. Water Perspectives in Emerging Countries, Water Scarcity: Risks and Solutions

11. Uzun Halil Ibrahim, Debik Eyup (2016). Membrane Capacitive Deionization Process in Groundwater Ionic Pollutants Removal: Determination of Performance Parameters and Optimum Operating Conditions. 3. International Symposium on Environment and Morality

12. Uzun Halil Ibrahim, İlhan Fatih, Debik Eyup, Avsar Yasar (2014). Determination of Parameters Affecting the Efficiency of Capacitive Deionisation Process. 2nd International Symposium on Environment and Morality

Kitap Bölümleri

1. Academic Suggestions for the Aftermath of Kahramanmaraş Centred Earthquakes, Chapter title:(Evaluation of 6 February 2023 Kahramanmaraş Earthquakes in terms of Infrastructure and Waste Management)

(2023)., Uzun Halil Ibrahim, Özgür Yayın-Dağıtım Co. Ltd., Editor: Öztürk Musa, Kırcı Mustafa, Edition: 1, ISBN: 978-975-447-613-2,

2. Circular Economy and the Energy Market, Section title:(Energy Production from Waste: Biomass Energy)

(2022)., Uzun Halil Ibrahim, Springer, Cham, Editör:Dinçer Hasan, Yüksel Serhat, ISBN:978-3-031-13145-5,

3. Sustainable And Renewable Energy Production, Section title:(The Present And Future Of Microbial Fuel Cells Developed For Sustainable And Renewable Energy Production) (2024 on Process), Uzun Halil Ibrahim, Elsevier,

4. City and Management: Ancient and Traditional, Chapter Title: Sustainable Environment and Urbanization, Uzun Halil Ibrahim, (2023)., Nobel Publications, Editors; Aydın Abdullah, Uzun Halil İbrahim, Yalnız Yusuf, İstanbul

5. Different Dimensions of Mus Economy, Chapter Title: Biogas Production Potential from Mus Province Wastes, Uzun Halil Ibrahim (2023)., Scala Publishing, Eds: Yıldırım Abdulmecit, Altunç Ömer Faruk, İstanbul

6. Sectoral Waste Management and Applications from Environmental Perspective Chapter Name: Food Sector Waste Management, (2023), Uzun Halil Ibrahim, Nobel Publications, Editor: Tosun İsmail, Ekinci Kamil, İstanbul

7. Strategic Approaches to Energy Management, Section title:(Renewable Energy and Environment in the Context of Sustainability) (2021)., Uzun Halil Ibrahim, Springer, Cham, Editör:Yüksel Serhat, Dinçer Hasan,

Edition: 1 Page:269, ISBN:978-3-030-76782-2

Projeler

Yürütücü "Bakteriyofaj Destekli Laktik Asit Bakterileri Tek Hücre Protein Tabanlı Antimikrobiyal Biyoplastik Üretimi"

Muş Alparslan Üniversitesi BAP Kapsamlı Araştırma Projesi

Yürütücü "Laktik Asit Bakterileri Tek Hücre Proteini Bazlı Antimikrobiyal Biyoplastik Üretimi" TÜBİTAK ARDEB, 1002-A Rapid Support Program No: 124Z131, Ongoing.

Yürütücü "Laktik Asit Bakteri Bazlı Ekzopolisakkaritler ile Biyoplastik Üretimi"

Muş Alparslan Üniversitesi BAP Kapsamlı Araştırma Projesi, BAP-24-MMF-4901-02,

Danışman "Biyosürefektan Üretiminde Laktik Asit Bakteri Suşlarının Performans Analizi: Peynir Altı Suyuna Dayalı Yenilikçi Bir Yaklaşım"

TÜBİTAK BİDEB, 2209-A, 1919B012319206.

Danışman "Sürdürülebilir Biyopolimerler Kaynağı: Laktik Asit Bakterileri ile Peynir Altı Suyunda Ekzopolisakkarit Üretimi ve Süreç Optimizasyonu"
TÜBİTAK BİDEB, 2209-A, 1919B012318985.

Danışman "Çevre Dostu Malzemeler Gelecek: Kahve Telvesi ve Laktik Asit Bakterileri ile Biyoplastik Üretimi"
TÜBİTAK BİDEB, 2209-A, 1919B012334850.

Araştırmacı "Deiyonizasyon Sırasında Elektrodializ İşlemi Asit-Baz Geri Kazanımı ve Enerji Verimliliğinin İncelenmesi", Yıldız Teknik Üniversitesi BAP, Araştırma Projesi

Araştırmacı "Yeraltı Sularındaki İyonik Kirlenmelerin Kapasitif Deiyonizasyon Prosesi ile Gideriminin Araştırılması" Yıldız Teknik Üniversitesi BAP, Araştırma Projesi

Araştırmacı "Riva Deresi'nde su kalitesinin belirlenmesi ve istatistiksel analizi"

Sakarya Üniversitesi BAP, Araştırma Projesi

Çalışma Grubu Üyesi AB COST Aksiyonları

CA22134 - Sustainable Network for agrofood loss and waste prevention, management, quantification and valorisation (FoodWaStop)

WG1. Prevention of food loss and food waste

WG2. Agrofood loss and waste management

CA20127 / Waste biorefinery technologies for accelerating sustainable energy processes (WIRE)

WG1. Raw Materials for waste biorefineries

WG2. Biorefinery Technologies