

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KATKI MADDELERİ KULLANILARAK POLİLAKTİK
ASİTİN FİZİKSEL VE ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN ARTTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fidan ZALDOVA

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : ANALİTİK KİMYA
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Abdil ÖZDEMİR

Haziran 2022

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KATKI MADDELERİ KULLANILARAK POLİLAKTİK
ASİTİN FİZİKSEL VE ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN ARTTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fidan ZAİDOVA

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : ANALİTİK KİMYA

Bu tez 24/06/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Fidan ZAIĐOVA

20.05.2022

TEŞEKKÜR

Tez çalışması ve yüksek lisans eğitimim boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen, en zor zamanlarımda beni yüreklendiren hocam ve danışmanım Sayın Prof. Dr. Abdil ÖZDEMİR'e, çalışmanın antibakteriyal aşamasında bilgi ve tecrübelerini paylaşarak beni yönlendiren değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Gökçe POLAT YEMİŞ'e, değerli fikirleriyle bana yol gösteren sevgili hocam Doç. Dr. Can Serkan KESKİN'e, çalışma sırasında özverili yardımları için arkadaşlarım Nijat JABRAYILOV'a ve Merve YAMAN'a, tezimin her aşamasında verdikleri sonsuz destek ve gösterdikleri ilgilerinden dolayı sevgili aileme, tüm samimiyetimle teşekkür eder, sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	vii
SUMMARY	viii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI	6
2.1. Paketleme.....	6
2.1.1. Ambalaj	7
2.1.2. Aktif ambalaj	7
2.2. Polilaktik Asit (PLA).....	8
2.3. Nanopartikül	10
2.3.1. Gümüş nanopartikül	12
2.4. Ağır Metal İçeren Antimikrobiyal Maddeler.....	13
2.4.1. Gümüş.....	14
2.5.2. Nano gümüş	14
2.5. Yeşil Sentez	15
2.6. Uçucu Yağlar	15
2.6.1. Karanfil yağı.....	16
2.6.2. Aynısefa yağı.....	17

2.7. Reçine	17
2.8. Epoksi Soya	18
2.9. Antimikrobiyal Organizmler	19
2.9.1. Staphylococcus aureus.....	20
2.9.2. Escherichia coli.....	20
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1. Materyal.....	22
3.2. Materyal Metod	22
BÖLÜM 4.	
ARAŞTIRMA BULGULARI	24
4.1. FITIR Spekturmları	24
4.2. Termal Analiz	24
4.3. Mekanik Özellikler	24
4.4. Antibakteryal Aktivite Testi	25
4.5. SEM ve EDS.....	25
4.6. Su Bukarı Geçirgenliği (WVP).....	26
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA ve SONUÇ	27
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	52

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Ag	: Gümüş
AgNP	: Gümüş Nanopartiküller
CaSO ₄	: Kalsiyum Sülfat
EB	: Kopma uzanması
EDS	: Enerji Dağılım Spektrofotometresi
EM	: Elastiklik modülü
Eo	: Uçucu yağ
Es	: Epoksi soya
E. coli	: Escherichia coli
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
FDA	: Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
NP	: Nanopartikül
nm	: nanometre
PLA	: Polilaktik asit
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
S. aureus	: Staphylococcus aureus
Sr	: Ladin ağacı reçinesi
TS	: Çekme dayanımı
Tg	: Geçiş sıcaklığı
Tm	: Erime sıcaklığı
UV-VİS	: Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi
WCA	: Su Temas Açısı
WVP	: Su Buharı Geçirgenliği

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 5.1. FTIR spektrumları.....	29
Şekil 5.2. Hazırlanan altı farklı filmin SEM görüntüleri.	31
Şekil 5.3. Hazırlanan filmlerin mekanik test sonuçları.	34
Şekil 5.4. A Hazırlanan filmlerin ısı özelliklerini gösterir.	36
Şekil 5.5. Hazırlanan filmlerin temas açısı. Hazırlanan filmlerin üzerine bir su damlası konuldu ve daha sonra bunların.....	39
Şekil 5.6. A hazırlanan filmlerin su buharı geçirgenlik değerlerini gösterir.....	41
Şekil 5.7. B ve C, sırasıyla E. coli ve S. aureus için hazırlanan filmlerin antimikrobiyal çalışmasını göstermektedir.	43

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan materyeller.	23
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar.	23
Tablo 5.1. Hazırlanan filmlerin fiziksel özellikleri.	35
Tablo 5.2. Hazırlanan filmlerin antibakteriyal aktivitesi.	43
Tablo 5.3. Hazırlanan örneklerde içerik miktarı	43

ÖZET

Anahtar kelimeler: kompozit film, yeşil sentez, gümüş nanopartiküller (AgNP), polilaktik asit (PLA)

Bu çalışmanın amacı, mikroorganizmaların büyümesini önleyen ve gıdaların raf ömrünü uzatan gelişmiş fiziksel özelliklere ve güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip düşük maliyetli yeni ambalaj malzemeleri hazırlamaktır. Bu çalışmada solvent döküm yöntemi ile antibakteriyel özelliklere sahip yeni filmler hazırlanmıştır. Polilaktik asit (PLA) filmlerine antimikrobiyal özellikler eklemek için ladin reçinesi, uçucu yağ karışımı ve gümüş nanopartiküller (AgNP) kullanıldı. AgNP'ler, metilen klorür içinde çözünmüş ladin reçinesinden sağlanan polifenol indirgemesi ile sentezlendi. Hazırlanan filmler fiziksel testlere tabi tutuldu. Ladin reçinesi filmlerin fiziksel özelliklerini azaltırken, diğer bileşenler fiziksel özelliklerin çoğunu arttırdı. Sadece ladin reçinesi (SR) ilavesi filmlerin su buharı geçirgenliğini (WVP) azaltmış ve sadece uçucu yağlar (EOs) ilavesi daha yüksek polariteleri nedeniyle bu özelliği arttırmıştır. Hazırlanan filmlerin çekme gerilmesi (TS), kopma uzaması (EB) ve elastik modülü (EM) gibi fiziksel özellikleri de ölçülmüştür. Hazırlanan filmlerin SEM, UV-Vıs, FTIR ve termal özellikleri de araştırıldı. Hazırlanan filmlerin antimikrobiyal özellikleri *Staphylococcus aureus* (S. aureus) ve *Escherichia coli* (E. coli) bakterileri kullanılarak ölçüldü ve antimikrobiyal özellikleri ölçmek için agar disk kuyusu yöntemi kullanıldı. Film hazırlamada kullanılan ladin reçinesi, AgNP'leri, uçucu yağların antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir. Uçucu yağlar, özellikle karanfil yağı, hazırlanan filmlerin WVP dışındaki tüm özellikleri üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Katkı maddelerinin PLA'nın fiziksel özelliklerini bir dereceye kadar iyileştirebileceği sonucuna varılmıştır.

INCREASING THE PHYSICAL AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF POLYLACTIC ACID BY USING ADDITIVES

SUMMARY

Keywords: composite film , green synthesis, silver nanoparticles (AgNP), polylactic acid (PLA)

The aim of this study is to prepare low-cost new packaging materials with improved physical properties and strong antimicrobial properties that prevent the growth of microorganisms and extend the shelf life of food. In this study, new films with antibacterial properties were prepared by solvent casting method. Spruce resin, essential oil mixture, and silver nanoparticles (AgNP) were used to add antimicrobial properties to the polylactic acid (PLA) films. AgNPs were synthesized by polyphenol reduction provided from spruce resin dissolved in methylene chloride. The prepared films were subjected to physical tests. While spruce resin decreased the physical property of the films, other components increased most of the physical properties. Only spruce resin (SR) addition decreased the water vapor permeation (WVP) of the films, and only essential oils (EOs) addition increased this property due to their higher polarity. The physical properties of the prepared films, such as tensile stress (TS), elongation at break (EB), and elastic modulus (EM) were also measured. SEM, UV-Vis, FTIR, and thermal properties of the prepared films were also investigated. The antimicrobial properties of the prepared films were measured using *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*) bacteria, and the agar disc well method was used to measure the antimicrobial properties. It has been observed that SR, AgNPs, EOs used in film preparation have antimicrobial properties. EOs, especially clove oil, have a positive effect on all properties of the prepared films except WVP. It has been concluded that additives can improve the physical properties of PLA to a certain extent.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Polimerler son zamanlarda cam, metal, kağıt, ahşap gibi malzemelerden çok ambalajlamada kullanılan malzemelerden biri haline gelmiştir. Ambalaj malzemeleri bir çok farklı alanlarda, sektörlerde kullanılmaktadır lakin bunlardan en yaygın olanı gıda alanıdır, gıdaların taşınması, depolanması, raf ömrünün uzatılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca ürünü oksijen, nem, bakteri, mantar gibi çeşitli mikroorganizmalardan zararlı faktörlerden koruması oldukça önemlidir. Ne yazık ki, ambalaj üretiminde kullanılan polietilen, polipropilen gibi polimer malzemeleri çevreye büyük miktarda atık birikmesine yol açmaktadır. Buna göre de şu anda kullanılan polimerlerden düşük maliyetli, yüksek mukavimetre, toksik olmayan, bozunabilirlik, kolay çalışma imkanı sunması ve çok iyi absorpsiyon özellikleri nedeniyle alternatif polimerlerden biri polilaktittir (PLA). Gıda ambalaj malzemeleri için bazı temel gereksinimler, su buharı ve oksijene karşı mükemmel bir bariyer özelliği, iyi mekanik performans ve şeffaflığı içerir. Ayrıca doğal ürünlere yönelik artan talep nedeniyle mısır, buğday, şeker kamışı gibi yenile bilen hammaddelerden elde edilen parçalanabilen termoplastik polyesterlerdir. Bir çok tercih edilen özelliklerine rağmen düşük erime noktası, kırılabilirlik, zayıf UV engelleme gibi istenmeyen özelliklere de sahiptir. Ambalaj hazırlanmasında istenmeyen bu özellikleri iyileştirmekten ötrü PLA'ya nano kil, nano selüloz, nano metaller ve nano metal oksitler gibi birçok farklı dolgu maddeleri eklenmektedir [1]. PLA filmlerine dolgu maddelerinin eklenmesi filmin antimikrobiyal, termal ve hava engelleme gibi mekanik özelliklerini arttırmaktadır. Dolgu maddelerinden başka filmin antimikrobiyal özelliklerini arttırmak için PLA'ya uçucu yağ karışımı da (karanfil ve aynı safı yağ) ilave edilmesi yaygın bir yöntemdir. Bu yağlar filmin tazeliğini ve güvenliğini koruyup hem de gıdalarda oluşan mikrobiyel büyümeyi engellemektedir.

PLA bazlı gıda ambalajlarının Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından güvenilir olduğu kabul edilmiştir [2].

Polilaktide dayalı antibakteriyel ambalaj malzemeleri elde etmek için gümüş nanoparçacıkları, reçine, epoksi soya, aynı sefa yağı, karanfil yağı gibi farklı bileşikler kullanılmıştır. Bu tür nanopartiküllerin, bileşiklerin PLA'ya eklenmesi PLA'nın zayıf bariyer özelliklere, ısı direncine sahip olması gibi dezavantaj özelliklerinin üstesinden gelerek filmin mekanik bariyer özelliklerini geliştirir. Ayrıca aynı sefa ve karanfil yağı gibi doğal uçucu yağlar antioksidan içeren aktif ambalaj hem gıdanın güvenirliliği açısından hem de maliyet tasarrufu sağlayan bir yöntemdir. Bu nedenle, doğal bitki özleri ve uçucu yağlar aktif ambalajın antimikrobiyal, antioksidan aktivitesinde önemli rol oynar [3].

PLA kloroformda, diklorometanda çözündüğünden PLA filmleri çözücü yöntem kullanılarak hazırlanmıştır. Ancak gümüş nanopartiküllerini (AgNP) çözücü yöntem kullanılarak PLA'ya dahil etmek zordur çünkü Ag nanopartikülleri sulu çözelti içinde örneğin diklorometanda kolayca çözünmüyor bu yüzden PLA/AgNP kompozit filmlerin hazırlanması için indirgeyici madde olarak reçine kullanıldı. AgNP'leri önce (metilen klorür içinde çözünmüş) reçine ile iyice ezilip çözüldükten sonra diklorometanla indirgeyene kadar karışmaya bırakıldı [4].

Mekanik ve antimikrobiyal özellikleri arttırmak için PLA filmlere farklı tipte dolgu maddeleri eklenir. En çok kullanılan dolgu maddelerinden biri, filmlere farklı boyutlarda ve farklı oranlarda eklenen nanopartiküllerdir. Çinko oksit (ZnO), geniş yüzey alanı, toksik olmayan özelliği, bulunabilirliği, düşük maliyeti, stabilitesi, yüksek ultraviyole ışık emme özelliği ve güçlü antimikrobiyal özelliği nedeniyle en çok kullanılan metal oksitlerden biridir. Bu özellikler de dahil olmak üzere, ZnO ilavesi PLA filmlerine ekstra dayanıklılık sağlar [5]. Filmlerde TiO₂ nanopartikülleri de kullanılmıştır [6]. Yüksek fotokatalitik özelliklere sahip geniş bir yüzey alanına sahiptir. Bu nedenle, geniş bir mikroorganizma spektrumuna karşı önemli antimikrobiyal özellikler gösterir. TiO₂ ve ZnO'nun eklenmesi filmlere hidrofilik

özellikler kazandırır ve PLA / TiO₂ çalışmalarının çoğu fotokatalitik bozunmaya ve filmlerin tokluğunu arttırmaya adanmıştır.

Nanopartiküller, filmlerin fiziksel ve antimikrobiyal özelliklerini geliştirmek için dolgu maddesi olarak kullanılan başka bir gruptur. Gümüş, iletkenliği, optik profili, dövülebilirliği ve antimikrobiyal özellikleri nanopartiküllerin sentezi için en uygun metallerden biridir. Optimum partikül boyutu 15-50 nm aralığında olan AgNP'ler yüksek termal stabiliteleri ve geniş spektrumlu antimikrobiyal özelliklerinden dolayı gıda ambalajında kompozitin hazırlanmasında oldukça yaygın kullanılmıştır. AgNP'lerin polimerlere dahil edilmesindeki en büyük zorluklardan biri nanopartiküllerin polimer matrisindeki homojen dağılımıdır. NP'lerin sebep olduğu bu yetersiz dağılım gümüş nanopartiküllerinin mekanik ve optik özelliklerinin bozulmasına yol açar. Nano Ag parçacıkları güçlü antimikrobiyal özelliğe sahiptir böyle ki, AgNP'ler bakterilere nüfuz edip hücre zarına bağlanarak onları kolayca öldürebilir. Az sayıda AgNP'ler, bakteriler, mantarlar ve virüsler dahil olmak üzere çok çeşitli mikroorganizmaları inhibe edebilir. AgNP'lerin geniş yüzey alanı bakterilerin büyümesi üzerinde engelleyici etkiye sahiptir. Buna göre gıda ambalajlanmasında yaygın olarak kullanılır [7].

AgNP'lerin sentezi, yeşil sentez, kimyasal sentez ve ışığa bağlı gümüş indirgemesi dahil olmak üzere farklı şekillerde olabilir. NP sentezi için en çok tercih edilen yöntem yeşil sentezdir ve filmin içinde AgNP'ler üretilir. Bununla birlikte, NP hazırlığı ile ilgili sorun, gümüş iyonlarının indirgeyici ortamıdır. Ambalaj endüstrisinde çoğunlukla hidrofobik polimerler tercih edilir ve AgNP'lerin bu ortama dahil edilmesi iki şekilde olabilir. Bunlardan biri, NP'lerin polar bir ortamda hazırlanması ve ayrıldıktan sonra bir polimer ile karıştırılması, ikincisi, film döküm çözeltisi içindeki AgNP'lerin sentezidir. Polimer çözeltisi içindeki AgNP'lerin sentezi, indirgeyici reaktiflerin olmaması nedeniyle zordur. Bu nedenle, apolar ortamda bazı polifenol bileşikler eklenerek AgNP'ler üretilir. Shankar ve Rhimproformdaki AgNP'leri sentezlemek için indirgeyici ve kapatma maddesi olarak tokoferol kullandı [8].

Ladin ağacı reçinesi, özellikle insan için tehlikeli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özellikleri nedeniyle en çok kullanılan doğal ürünlerden biridir. Birçok çalışmada cilt yaralarını tedavi etmek için kullanılır. Ladin reçinesi UV bloke edici reaktif için iyi bir adaydır ve ambalaj filmlerinde kullanılabilir [9]. Ladin ağacı reçinesi, PLA filmlerinin fiziksel ve antimikrobiyal özelliklerinin artırılıp artırılmayacağını araştırmak için bu çalışmada dolgu maddesi olarak özel olarak seçilmiştir.

Ambalaj filmlerindeki dolgu maddeleri, eklenecek özelliğe bağlı olarak farklı olabilir. Filmlerin fiziksel ve antimikrobiyal özelliklerini arttırmak için birçok çalışmada bazı spesifik dolgu maddeleri kullanılmıştır. Uçucu yağlar, filmlere birden fazla özellik katan başka bir dolgu grubudur. Uçucu yağlar filmlerin elastik özelliğini arttırırken, filmin antimikrobiyal özelliğini de arttırır. Ancak filmlerin artan WVP'si gibi bazı istenmeyen özellikler ekleyebilirler. Buda gıdaların raf ömrünün azalması nedeniyle istenen bir özellik değildir. Bu nedenle, gıdaların raf ömrünü azaltmamak için uçucu yağların miktarı dikkatli bir şekilde kontrol edilmelidir. Bazı spesifik uçucu yağlar (kekik, karanfil, nergis) mikroorganizmalar üzerinde güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahiptir. Aynısefa yağı ayrıca güçlü antimikrobiyal özelliklere sahiptir ve özellikle ülserleri ve bazı cilt hastalıklarını tedavi etmek için kullanılır.

Bu çalışmanın temel amacı biyolojilik olarak parçalana bilen, gıdaların raf ömrünü uzatan, antimikrobiyal, neme duyarlı, UV bloke edici kompozit bir film üretmektir. Ayrıca, kompozit filmlerde gerilme mukavemetinin azalması, kopma uzanmasının artması ve elastiklik modülünün azalması gibi fiziksel özelliklerin artmasına odaklanmıştır. AgNP'leri gibi dolgu malzemesi, epoksi soya gibi plastikleştiriciler eklenerek filmin mekanik, fiziksel ve fonksiyonel özellikleri iyileştirmeye çalışılmıştır. Filmlerin antimikrobiyal özelliklerini daha da genişlendirmek için tek uçucu yağ yerine uçucu yağların karışımı (aynı safa, karanfil yağı) ve ladin ağacı reçinesi ilave edildi. Ladin ağacı reçinesi, PLA filmlerinde UV bloke edici ve antimikrobiyal reaktif olarak kullanıldı.

Filmler önceden ince tabakalar halinde hazırlanmış, çeşitli deneyler için kapak, sarıcı ve ya paketlenme olarak kullanılmaktadır. Hazırlanan bu filmlerin mekanik özellikleri, antimikrobiyal özellikleri, su buharı geçirgenliği gibi gıda fonksiyonel özellikleri araştırılmıştır. Ayrıca filmlerin taramalı elektron mikroskobu (SEM), Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR), Enerji dispersiv spektrum (EDS) ve UV visible spektroskopisi de incelendi. Antimikrobiyal maddelerin plastiklerde uygulanabilmesi için mikroorganizmalara etkili olmanın yanı sıra dayanıklılık, plastikleştiricilerde çözüne bilme, polimer ile uyum UV'e dayanıklılık, çevreye zararsız olma gibi özellikleri olmalıdır. Polilaktik asidin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi için nano gümüş, reçine, epoksi soya, aynı sefa, karanfil yağı katılarak hazırlanan kompozit filmlerin karakterizasyonun yapılması, Staphylococcus aureus ve Escherichia coli karşısındaki antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesi hedeflenmiştir [3].

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Paketleme

Hayatımızın temel rutinlerinden biride gün içinde tükettiğimiz gıdalar besinlerdir. Peki tükettiğimiz bu gıdalarda en önemli nelere dikkat etmemiz gerekiyor? İlk önce gıdanın besin değeri, içeriği ve gıdanın bize güvenli, hijyenik, sağlıklı bir şekilde ulaşması oldukça önemli bir unsurdur. Gıda güvenirliliği gıdanın bize bozulmadan besin değerini yitirmeden ulaşılması için en garanti yöntem gıdanın dikkatli şekilde ambalajlanması ve paketlenmesidir. Çok eski tarihleri (M.Ö 3000 yıllarda) araştırdığımızda bile insanlar fazla gıdalarını saklamak depolamak için kil, cam kaplar kullanmış ağızlarını da zift, mantar, parafınle kaplayıp paketleyerek tükettiğini öğreniyoruz. Gıdaların ambalajlanması gıda ürünlerini mekanik hasarlardan, biyokimyasal bozulmalardan koruyup ve aynı zamanda mikroplar tarafından üretilen değişiklikleri yavaşlatıp gıdaların kalitesini uzun süre uzatarak ve bozulma riskini en aza indiriyor. Polietilen, polipropilen gibi polimer malzemeleri ambalaj üretiminde kullanılsa da çevre kirliliğine yol açıp, büyük miktarda atık birikmesine yol açmaktadır. Bu yüzden de, bozunabilirlik sağlayan, parçalanabilen, kolay çalışma imkanı sunan polilaktik asit (PLA) ambalaj kullanımına daha uygundur.

Et ve et ürünlerinin mikrobiyal gelişimini engelleyerek, raf ömrünü uzatıp tüketiciye sağlıklı bir şekilde ulaşması amacıyla kullanılan antimikrobiyal bileşenler çözelti haline getirilip püskürtme ve daldırma gibi yöntemlerle uygulanabilir. Lakin bu gibi yöntemlerde antimikrobiyal maddelerin doğrudan gıdaya uygulanması durumunda aktif bileşen, yüzeyden gıda kütlelerinin içerisine difüze olduğundan ilave edilen maddenin antimikrobiyal aktivitesinin azalmasına yol açmaktadır. Ayrıca, et ürünlerinin formülasyonuna eklenen antimikrobiyal bileşikler gıda bileşenleri ile interaksyona girip geleneksel uygulamanın faydalarının sınırlandırılmasına yol açabilir.

Bu sebepten yüksek konsantrasyonda aktif bileşen içeren filmlerin kullanılmasıyla bileşenler ürün yüzeyine geçip antimikrobiyal özellik sergileyebilmektedir [7].

2.1.1. Ambalaj

Antimikrobiyal ambalaj nedir? Ürünün raf ömrünü uzata bilen ve tüketicilere mikrobiyolojik güvenlik sağlayan aktif ambalaj şeklidir. Paketlenmiş gıdalarda, ambalaj malzemelerinde patojenik mikroorganizmaların büyümesini engelleyip, inhibe etmek için çalışır. Gıda yüzeyinde istenmeyen mikroorganizmalarla mücadele etmek, gıdaların güvenliğini korumak için polimerlere uçucu ve uçucu olmayan antimikrobiyal bileşimler eklenebilir. Antimikrobiyal ambalajın kullanılmasında iki tür yaklaşım taktiği vardır; Birincisi, antimikrobiyal yüzeyin temas etmediği ambalaj malzemeleri içindir bu da korunmuş gıdalarla ve içinde bulunan aktif maddeler gıdaya geçebilir (bu tür ambalajlar vakum altına, folyoya sarılmış yiyecekler için kullanılabilir). İkinci yaklaşım ise, antimikrobiyal bileşimi paketin içine koyup, ancak gıda ile doğrudan temas halinde olmasını engellemektir. Paketlenmiş antimikrobiyal gıdalarda kullanılması önerilen bileşikler enzimler, mantar öldürücüler, organik asitler ve baharat gibi hem antimikrobiyal hem de antioksidan özelliklere sahip doğal bileşiklerdir. Antibakteriyel bileşiklerin arasında optik, katalitik ve antibakteriyel özelliklerinden başka termal stabilite ve uzun süreli aktivitelerine göre gümüş nanopartikülleri büyük bir ilgi görmektedir. Antimikrobiyal ambalaj, antimikrobiyal maddelerin kullanımı veya yapıldığı polimerin antimikrobiyal özelliklerinden dolayı istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engelleyebilir [11].

2.1.2. Aktif ambalaj

Aktif ambalajlama nedir? Gıdaların raf ömrünü uzatarak, gıda güvenliğini sağlamak, duyu kaliteyi artırmak amacıyla paketleme koşullarının değiştirilmesine dayanan bir ambalaj sistemidir. Ürünün kalitesini korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla belirli katkı maddeleri farklı yöntemlerle ambalaj materyalinin içerisine veya yüzeyine ilave edilmektedir. Aktif ambalajlama sistemlerinin amacı gıdanın içerisine veya gıdanın etrafındaki ortama madde ilavesi veya gıdanı saran ambalaj ile gıdalardan,

çevreden gelen kimyasalların absorbe edilmesini sağlamaktır. Aktif ambalajlama teknolojileri arasında nem düzenleme, oksijenin tutulması veya emilmesi, karbondioksit üretimi, kokuların kontrolü ve tatların artırılması yer almaktadır. Aktif ambalaj et ve et ürünleri için gelecek vaat eden ve en yaygın kullanılan antimikrobiyal paketlenme sistemidir.

2.2. Polilaktik Asit (PLA)

Son yıllarda gıda ambalajlama uygulamaları için biyolojik olarak parçalanabilen, bozunabilir polimerlerin kullanılmasında oldukça önemli artışlar olmuştur [12]. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin 3 ana kategorisi vardır: (1) doğrudan doğal hammaddelerden, yenilebilir kaynaklardan elde edilen polisakkaritler (örneğin selüloz, nişasta), protein ve lipitler; (2) biyo türetilmiş monomerlerden kimyasal olarak sentezlenen PLA; (3) genetiği değiştirilmiş bakterilerden veya mikrobiyolojik olarak üretilen malzemelerden yapılan poli hidroksialkanoatlar [13]. Birçok gıda ürünlerinin raf ömrü gıda ambalaj ortamı arasındaki biyolojik, kimyasal ve fiziksel etkileşimlere bağlıdır.

Polilaktik asit yani PLA, manyok kökleri, mısır nişastası, şeker kamışı ve buğday gibi nişasta zengini, %100 yenilebilen kaynaklardan elde edilen biyobozunur biyoaktif termoplastik alifatik polyesterdir [14]. PLA polimerleri, karbonhidrat fermentasyonu veya laktik asit monomerinin kimyasal sentezi ile üretilen alifatik polyesterdir [15]. Polilaktik asitler yarı kristalin veya amorf yapıda olan alifatik polimerler olup oldukça düzenli bir stereo komplekse sahip polimerlerdir. Yüksek mukavemet, bozunabilirlik, düşük maliyet ve kolay çalışma imkanı sunması nedeniyle PLA bir çok alanlarda tercih edilmektedir. Ayrıca, PLA üretiminin petrol bazlı polimerlere göre %15 ila %60 daha düşük karbon emisyonu ve %25 ila %55 daha düşük enerji tüketimi ile sonuçlandığı bilinmektedir. Bununla birlikte PLA'nın ambalajlamada yaygın kullanılmasını engelleyen doğal kırılganlığı, düşük termal direnci ve zayıf su buharı bariyeri gibi dezavantaj özellikleri vardır. PLA'nın bozunması zamana, sıcaklığa, katalizör konsantrasyonuna bağlıdır. Malzeme performansını artırmak, maliyeti düşürmek ve PLA'yı yeni uygulamalara genişletmek için PLA bir dizi başka polimer, katkı maddesi ve dolgu maddesi ile başarı ile birleştirilmiştir. Özellikle nanofiberlerin,

nanoadditiflerin, nanokompozitlerin kullanılması gıda ambalajlama uygulamalarında oldukça sık kullanılan yöntemlerdendir [16]. Tüketiciler için nanomalzemeler içeren paketler, nanoteknoloji mühendisliyi yapılmış gıda ürünlerinden daha çok kabul edilmektedir. Ancak, PLA bazlı nanomalzemelerin, üretimindeki enerji tüketiminden kaynaklanan yüksek maliyetlerinin yanı sıra insan sağlığı üzerinde de potansiyel bir etki edecek dezavantaj özellikleri görülmektedir [13]. Tetrahidrofuran, dioksan ve sıcak benzende çözünen PLA üç mekanizma (1.Hidroliz 2.Thermal bozunma ve 3.Fotodegradasyon) tarafından abiyotik bozulmaya maruz kalıyor. PLA'nın sahip olduğu bazı fiziksel özellikler bir çok kullanım için PLA'yı uygun hale getirmektedir. Mükemmel yağ direncine, 180° C erime sıcaklığına, 110° C de sıcaklıktaki ısıya dayanma özelliğine tat ve aromalara karşı iyi bir bariyer özelliklere sahiptir. PLA'nın reolojik özellikleri film oluşturmak için oldukça uygundur ve bu özellikleri daha da geliştirmek amacıyla bazı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en önemli ve yaygın olan dallanma yöntemi olarak bilinmektedir. Dallanma yöntemi PLA'nın peroksitle monomerlerin polimerizasyon işlemine girmesiyle sağlanıyor. Dallanmış PLA'nın reolojik özellikleri vardır ki, bunlarda köpükleme, ekstrüzyon kaplama gibi işlemlerde kullanılır. PLA düşük maliyetli, bozunabilirlik ve kolay çalışma imkanı sunması nedeniyle lifler, filmler, ambalajlama, kağıt kaplama gibi bir çok kullanım alanında uygulanmaktadır. Biyolojik olarak parçalanabilir olduğu iddia edilen PLA, son yıllarda Danimarkalı bir süt şirketi tarafından yüksek etkili polistirenden yapılan yoğurt bardakları için kullanıldı [17]. PLA'nın proteinler, nişastalar ve diğer biyopolimerlerle olan karışımları da incelenmiştir ve tamamen yenilebilir, parçalanabilir ambalaj malzemeleri geliştirmek amacıyla kullanılabilir olduğu görülmüştür [18].

Son yıllarda PLA'nın antimikrobiyal ambalajlama uygulamalarında kullanım potansiyeli bir çok araştırmacı tarafından iyice araştırılmıştır [19, 20, 21, 22]. Organik asitler, enzimler, bitki özleri, metaller (örneğin çinko, gümüş), uçucu yağlar (örneğin karanfil yağı) gibi farklı maddeler antimikrobiyal aktivite sağlamak için PLA'ya ilave edilebilir. Antimikrobiyal PLA bazlı malzemelerin etkinliği PLA üzerine ilave edilen antimikrobiyal maddelerin seçimine de bağlıdır. Örneğin, bazı uçucu katkı maddeleri, ekstrüzyon aşamasında yüksek sıcaklık, kesme, basınç içeren işlem sırasında yaranan koşullara karşı oldukça düşük direnç göstermektedir.

Antimikrobiyal maddeler, PLA'ya ıslak veya kuru işleme teknikleriyle dahil edilebilir. Islak işleme tekniğine, karıştırma sırasında düşük sıcaklık kullanarak solvent döküm, solvent buharlaştırma yöntemleri aittir [23]. Solvent döküm yöntemi, ısıya duyarlı antimikrobiyal maddeler, uçucu yağlar ve bunların ekstraktları gibi oldukça uçucu bileşikler için uygundur. Kuru işleme teknikleri sıkıştırma kalıplama, şişirme ve enjeksiyon kalıplama gibi daha çok plastik endüstrisinde kullanılan yöntemlerinden oluşur. Antimikrobiyal bileşimlerden oluşan PLA bazlı malzemeler, nanoteknoloji kullanılarak aktif PLA nanofiber bazlı sistemler şeklinde hazırlanabilir özelliklere sahiptir [24]. Polimer nanofibreler olarak bilinen bu yeni, verimli teknoloji ultra ince lifler üretmek için elektriksel kuvvetlerin kullanılmasını içerir. Antimikrobiyal bileşimlerin PLA'ya nanofiber yöntemi kullanılarak dahil edilmesinin yüksek yüzey alanı, küçük gözenek boyutu ve antimikrobiyal bileşimin salınım hızını artırabilmesi gibi başlıca avantajları vardır. Bununla birlikte, bu yöntemde kullanılan malzemelerin pahalı olması gibi dezavantaj özellikleri vardır.

2.3. Nanopartikül

Nanopartikül nedir? Yüz nanometre boyutları olan maddenin ve altında kalan toz parçalarının adıdır. Nanopartiküller, çok küçük yapıya sahiptir ve bunun içinde soluduğumuz nanopartiküller ciğerlerimizde en derin yerlere, alveollere, ilerliyorlar. Nanopartiküller hücrelere, dokuya oldukça kolay nüfuz etme özelliğine sahiptir ve bu yolla da, alveollerden kan damarlarına ve ordanda tüm organizmaya yayılır. Sonuçta ya hücrenin tahrip edilmesine ya da hücre içine nüfuz edip genetik materyalin tahrip edilmesine yol açıyor. Ayrıca da potansiyel olarak kansere neden olabilecek kontrolsüz hücre bölünmesine yol açabilir. Büyük nanopartiküllerse bunları yapamaz [25].

Nanopartiküller genel olarak 3 sınıfa ayrılır:

- Tek boyutlu nanopartikül (1 D)
- İki boyutlu nanopartikül (2 D)

- Üç boyutlu nanopartikül (3 D)

Nano ölçeekte üç boyuta ve bu aralığın dışındaki ek boyuta sahip nanopartiküller tek boyutlu nanopartiküllerdir. Metal oksitlerin nanofiberleri, metal nanorodlar, karbon nanotüpler nanoteller ve polimerler tek nanopartiküllerin formlarıdır.

Nanometre ölçekli bir boyuta ve mikrometre ölçekli bir boyuta sahip olan iki boyutlu nanopartiküller en çok çalışan ve olağanüstü özellikleri nedeniyle geniş bir uygulamaya sahip nanopartikül sınıfıdır. İki boyutlu nanopartiküllere; metal karbürler, metal nitrürler, grafen, metal ince filmler, nanoplatlar örnektir [26].

Üç boyutlu nanopartiküller ise nanometre ölçeğinde boyutlara sahip olmasa da, iç morfolojileri ve özellikleri nanometre ölçeğindedir. Grafen sünger, grafen köpük, metal köpük ve metal nano çiçekler üç boyutlu nanopartiküllerin örnekleridir [27].

Nanopartiküllerin kökenine göre ve bileşenine göre de sınıflandırmaları vardır. Kökenine göre doğal ve antropojenik. Kimyasal bileşimine göre de organik, inorganik sınıflandırılmaları vardır. Nanomalzemelerin farklı alanlarda kullanımına olan talep giderek artmaktadır, ayrıca gıda ambalajı için son yıllarda büyük ölçüde artışlar gözlemlenmiştir. Nanoteknoloji özellikleri olan gıda ambalajları iki farklı noktaya ayrılır [28]. Polimer nanokompozitleri gibi gaz bariyeri özelliklerini geliştirmek için nanomalzemelerin polimer matrisine karıştırıldığı geliştirilmiş ambalajlama; nanopartiküllerin, güçlü antimikrobiyal bileşenler olarak gümüş nanopartiküller gibi gıdaların güvenilirliğini, korunmasını sağlamak için doğrudan gıda ile etkileşime girdiği aktif paketlenme. Bu sebepten de, güçlü antimikrobiyal özellikleri olan metal nanopartiküller aktif paketlenme olarak kullanılır [29]. Biyosidal özelliklere sahip metal nanopartiküller (Cu, Zn, Ti ve Ag) arasında bakteriler, virüsler, mantarlar gibi çeşitli patojenik mikroorganizmalara karşı AgNP'leri oldukça etkilidir [30].

Nanopartiküller farklı fiziksel ve kimyasal yöntemlerle sentezlenebilir. Saf ve homojen NP'ler kimyasal yöntemlerle üretilir, lakin bu yöntemlerin yüksek maliyet, zaman alıcı, düşük üretim hızı, yüksek enerji kullanımı, sıcaklık ve çevrenin kimyasal kirlenmesi gibi dezavantaj özellikleri vardır. Bu tür sorunları çözmek için, basit ve

biyoyouumlu, hızlılığa ve düşük maliyete sahip yeşil sentez olarak bilinen yöntemin uygulanması önerilir. Bitki özleri kullanılarak yapılan bu yöntemle NP'lerin sentezi toksik kimyasallar içermez ve diğer yöntemlerle kıyasla daha karardır [31].

Nanopartiküller şekilleri, boyutları, boyut dağılımları tarafından idare edilen yeni fizikokimyasal, manyetik ve optoelektronik özelliklerinden dolayı büyük ilgi görmektedir. Nanopartiküllerin küçük boyutu, geniş yüzey alanı/hacim oranı, aynı malzemede biyolojik, katalitik aktivite, mekanik özellikler, termal elektriksel iletkenlik gibi bir çok farklı özelliklere yol açar. Fizikokimyasal ve optoelektronik gibi özellikleri nedeniyle nanopartiküller katalizörler, kimyasal sensörler, elektronik bileşenler, tıbbi teşhis görüntüleme gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır [32].

Nanopartikülleri PLA'ya dahil etmek, atık gibi bir çok problemi etkili bir şekilde çözebilecek iyi biyolojik bozunabilirliğe sahip bir nanokompozit materyali hazırlıyabilir. Saf PLA ile karşılaştırıldığında, nanokompozit malzemelerinin mekanik özellikleri ve kristal özellikleri yüksek bir şekilde geliştirilmiştir. Kompozitlere metal nanopartiküllerin ilave edilmesi, onlara aktif bir ambalaj gibi kullanılabilen antibakteriyel özellikler verir [33]. Son zamanlarda metal nanopartikülleri olumsuz faktör gibi kabul edilmektedir, çünkü maddelerin insan sağlığı için tehlike yaratması ve gıda maddelerinin bileşimini zararlı yönde değiştirmesi daha bilinmemektedir [34]. Gıdalarla temas eden gümüş bazlı maddelerin kullanımı Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu tarafından iyice araştırılmış ve kg gıda başına 0,05 mg gümüş olacak şekilde sınırlandırılmıştır [35].

2.3.1. Gümüş nanopartikül

Gıda endüstrisinde antimikrobiyal bileşen olarak en yaygın kullanılan nanomalzemeler arasında yer alan gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) ve nanokompozitler; paketlenmiş gıdaların korunması için gıda ile temas eden malzemeler, çeşitli gümüş içeren zeolitler ve ya diğer malzemeler olarak ABD gıda ve ilaç idaresi tarafından onaylanmıştır. Gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etkisi, Ag^+ ve Ag^0 türleri olan rollerle açıklanabilir, yani AgNP'lerin antibakteriyel özellikleri Ag^+ türleri ile kolaylaştırılabilir. AgNP'leri bakteri zarının bütünlüğünü azaltabilir ve

bakterilerin hücrel ölümüne neden olabilir. Mikroorganizma ile daha iyi temas sağlayabilen oldukça geniş yüzey alanları sayesinde gümüş nanopartikülleri, metallik gümüşe kıyasla daha iyi antimikrobiyal özellikler sergiler. Gümüş nanopartiküllerin verimli yüzey modifikasyonu, kısıtlı boyut dağılımı ve arzuolunan biyoyumluluk gibi avantajları vardır.

Gümüş nanopartiküller kimyasal, fiziksel ve biyolojik yöntemler kullanarak sentezlenir. Kimyasal ve fiziksel olarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerden farklı olarak biyolojik sentezlenen gümüş nanopartiküller daha az toksiktir ve daha güvenilirdir bu yüzden de daha çok tercih edilmektedir. Ayrıca, gümüş nanopartiküller yüksek termal stabiliteye, düşük uçuculuğa sahiptir ve buna göre de antimikrobiyal etkileri daha uzun sürebilir. Antimikrobiyal ve antioksidan aktivelerden ilave AgNP'ler anti-fungal, anti-viral, anti-anjiyogenez özelliklerine de sahip olduğu bildirilmiştir. Gümüş nanopartiküller, tıbbi ve farmasötik uygulamalar gibi bir çok alanlarda yaygın kullanılmaktadır.

2.4. Ağır Metal İçeren Antimikrobiyal Maddeler

Dezenfektan ve antiseptik olarak kullanılan metaller genelde ağır metallerdir. Özgül ağırlığı 4-5'ten büyük olan metaller ağır metaller olarak tanımlansa da bu terim belirsizdir ve kesin bir kimyasal tanımlanması yoktur [36]. Ağır metaller mikroorganizmalar üzerinde öldürücü ve üremelerini engelleyici etki gösterir bu da oligodinamik etki adlanır [37]. Ağır metal iyonları arasında, yüksek antimikrobiyal aktivitesi ve düşük insan toksisitesi ile en yararlı metal gümüştür. Gümüşün antimikrobiyal aktivitesinin ilk modern tanımı *Aspergillus niger*'in gümüş kaplarda yetişmediğini gözlemleyen Raulin tarafından 1869'ta yapılmıştır. Bakterilerde gümüş iyonlarının proteinlerdeki nukleofilik amino asit rezidüleri ile reaksiyon verdiği ve karboksil gruplarına birleşerek protein denatürasyonuna yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca gümüş maya alkol dehidrogenaz gibi bir çok oksidatif enzimleri, *E.coli* solunum zincirini inhibe ederek, metabolit sızıntısına neden olduğu ve DNA replikasyonuna engel olmaktadır [38].

2.4.1. Gümüş

1920 yıllarında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından gümüşün yara tedavisinde etkili olduğu kabul edilmiştir. Gümüş yüksek antimikrobiyal aktiviteye ve düşük insan toksisitesine sahip olduğu için diğer metal iyonlarından daha çok yararlıdır [39]. Zaman geçtikçe rengi daha da koyulaşan gümüş yumuşak bir yapıya sahip beyaz parlak bir metaldır, doğada hem serbest hemde bileşenlerle birlikte bulunmaktadır. Gümüş diğer metaller içerisinde en yüksek elektrik ve ısı iletkenliğine sahiptir. Gümüşün tuzları ise oldukça zehirlidir. Gümüş nitrat, gümüş tuzlarının en önemli bileşenlerindendir. Renksiz ve ağır olan gümüş nitrat cilde temas ettiğinde cilt yüzeyinin rengini koyulaştırıyor ve bu nedenle cehennem taşı da deniliyor [40].

2.5.2. Nano gümüş

Malzemelerin partikül boyutunu azaltmanın ve biyouyumluluklarını arttırmanın etkili ve güvenilir bir yoldur. Moleküler problemler gibi nano ölçekli metal parçacıklarının biyoaktivitesi ve bunların kullanımına ilgi zaman geçtikçe daha da artmaktadır. Geleneksel metal ile kıyaslandığında geniş yüzey alanına ve yüksek reaktiviteye sahip nano ölçekli metalik parçacıklar mükemmel fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahiptir. Nano gümüş biyosidal ajanların özel bir sınıfı olarak kullanılmasında giderek artan bir ilgi vardır [30].

Song ve arkadaşları tarafından *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde gümüş nanopartiküller 10 nm'den daha küçük boyutta üretilerek mükemmel antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları ve antimikrobiyal mekanizmaları tespit ediliyor. Bu mekanizmalar arasında gram-negatif bakterilerde görülen plazmoliz, bakteriyel hücre duvarının bakteriyel sitoplazmadan ayrışması, *S. aureus* renkli bakterilerin hücre duvarının sentezinin inhibe edilmesine yol açar [31].

Li ve arkadaşları gümüş nitrat ve titanyum dioksit'ten oluşan karışımda nanopartiküllerin ve nanopartikül kaplı yüz maskelerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını ve deri için herhangi bir zarara, irritasyona neden olmadıklarını söylemişler.

2.5. Yeşil Sentez

Yeşil sentez nedir? Yeşil sentez nanopartiküller bitki atıklarını, mikroorganizmaları, tarımsal atıklar yani meyve sebze kabuklarını, yumurta kabuğunu ve doğada yaranan çeşitli atıklar gibi bioaktif maddeler kullanarak farklı metal parçacıklarının sentezini ifade eder. Güvenli olmayan ürünlerin kullanımını en aza indirmeyi hedefleyen yeşil sentez, ayrıca kimyasal işlemlerin verimliliğini en üst düzeye çıkarmada rehberlik etmektedir [41]. Yeşil sentez, fiziksel ve kimyasal işlemler tarafından üretilenlerden benzersiz, farklı parçacıklar üretir. Biyogenik indirgeme yoluyla, metal öncüleri karşılık gelen nanopartiküllere dönüştürülür, çevresel olarak iyi huyludur, sürdürülebilir, kimyasal indirgemedi arındırılabilir. Yüksek basınç, enerjiye, sıcaklığa, toksik kimyasallara gerek duymayan yeşil sentez bu özellikler sayesinde günümüzde daha da kullanıma uygun ve mükemmel yakın bir yöntem olarak algılanıyor. Doğada üretilen tüm atıkları en aza indirmeyi hedefleyen yeşil sentez yöntemi ekonomik yönden bakıldığında zamana pahalı, karmaşık cihazların olmadığı basit prosedürel bir yöntemdir. Ek olarak, nanopartiküllerin biyolojik üretimi, altın ve gümüş de dahil olmak üzere atık akışlarında bulunan değerli metal bileşiminin geri dönüşümünü sağlayabilmektedir.

Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi 1. Çözücü ortamın seçimi, 2. Çevresel olarak iyi huylu indirgeyici maddenin seçimi ve 3. AgNP'lerin stabilitesi için toksik olmayan maddelerin seçimi dahil olmak üzere yeşil kimya prensibine dayanarak üç ana adımdan oluşur [42].

2.6. Uçucu Yağlar

Gıdaların üretildiği, depolama ve perakende yoluyla işlendikleri andan tüketiciye sağlıklı bir şekilde ulaşması gıda endüstrisinde oldukça önemli unsurdur. Son yıllarda, biyolojik bozunabilirliği ve çevre dostu olması gibi özelliklerinden dolayı polilaktik asit araştırmacıların dikkatini çekmeyi başarmıştır. Bununla birlikte, düşük bariyer özelliklerine, zayıf mekanik özelliklere ve ısı direncine sahip PLA'nın uygulaması sınırlıdır. Araştırmacılar bu gibi dezavantajların üstesinden gelmek için PLA

modifikasyon çalışmasını gerçekleştirdiler. Nano-gümüş, nano-çinko, nanotitanyum dioksit gibi nanopartiküllerin PLA'ya eklenmesi, filmin mekanik bariyer özelliklerinin geliştirilmesini sağlamaktadır. Bununla birlikte, araştırmacılar tüketicinin doğal gıda katkı maddelerine olan talebini karşılamak için, filmlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek amacıyla uçucu yağlar gibi doğal maddeleri polimer filmlerle birleştirdiler. Uçucu yağlar (örneğin karanfil yağı, aynısefa yağı) gibi antioksidanlar içeren aktif ambalaj, gıda güvenliği riskini ortadan kaldırıp, maliyet tasarrufu sağlayan alternatif yöntemdir. Farklı bitki parçalarından elde edilen ve daha çok gıda aroması olarak tercih edilen uçucu yağlar, antimikrobiyal özellikleri ile de karakterize olunur. Önemli biyoaktif bileşik kaynağı olan uçucu yağlar, metalik nanopartiküllerin sentezi için olumlu adaydır. Ek olarak, uçucu yağlarda rastlanan fitokimyasallar nanopartiküllerin yüzeyinde etkileşime girip stabilizasyon ve koruma sağlamaktadır. Kimyasal olarak sentezlenmiş koruyuculardan daha güvenilir oldukları düşünülen uçucu yağlar, Gıda ve İlaç İdaresi tarafından da kullanım için onaylanmıştır. Ancak tatlandırıcı özelliklerinin olması nedeniyle gıda koruyucu olarak kullanımları genellikle sınırlıdır. Güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olan yağlar etkili bir şekilde gıda kaynaklı *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* gibi bir çok patojenlerin yaranmasını engelleyebilir. Ancak uçucu özellikleri nedeniyle, zaman geçtikçe antimikrobiyal aktiviteleri kaybolur. Ayrıca, suda çözünmeyen uçucu yağlar, nanopartiküllerin üretimi için olumsuz faktör olabilir, çünkü çoğu sentez çalışmalarında gümüşün en çok tercih edilen sulu gümüş tozu çözeltisi kullanılmaktadır. Aktif bileşiklerin düşük difüzyon hızı göz önüne alındığında, yeterli antimikrobiyal etkiyi elde etmek için küçük miktarlar gerekmektedir, bu sebepten de uçucu yağların yenilebilir filmlere dahil edilmesi en iyi seçeneklerden biridir [43].

2.6.1. Karanfil yağı

Uçucu yağlar arasında en mükemmel antioksidan, antibiyotik, anestetik aktivitelere sahip karanfil yağı, gıdaların korunmasında büyük potansiyel kullanımı olan doğal bileşik olarak bilinmektedir [44]. Karanfil yağının esas kimyasal bileşeni güçlü

kokusundan sorumlu olan öjenol'dür. Antioksidan, ağrı kesici, mikrop, iltihap önleyici gibi faydaları olan karanfilin fazla kullanımı zararlıdır. Öjenol içerdiğinden dolayı aşırı doz karanfil yağı alerjik reaksiyonlara ve toksik etkilere sebep olabilir.

Karanfil yağında rastlanan yüksek öjenol konsantrasyonları, hücresel proteinleri denatüre edip, hücre zarı fosfolipidleri ile reaksiyona girdiği ve geçirgenliklerini değiştirdiği için biyolojik ve antimikrobiyal aktiviteden sorumludur [25].

2.6.2. Aynısefa yağı

Çiçekleri sarı ve turuncu renklerde olup dış görünüm bakımından papatyayı anımsatan aynısefa bitkisi calendula, altıncık çiçeği, portakal nergisi gibi bir çok farklı isimleri de vardır. Yüzde 25 oranında alfa kardinol içeren aynısefa yağı triol, murrolol, ksantofil gibi farklı organik bileşikler içermektedir [27]. Uçucu özelliğe sahip aynısefa yağı hidrofobiktir alkol, polar olmayan çözücülerde çözünüp, suda çok zayıf çözünüyor [46]. Gümüş katyonlarının gümüş nanoparçacıklarına indirgenmesine yardımcı olup güçlü antioksidan özelliklere sahiptir [47]. Vücutta rastlanan enfeksiyonların gelişimini engelleyerek antibakteriyel, antiseptik, antioksidan, anti tümör, antiviral gibi aktivitelere sahiptir. Önemli şifalı bir bitki olan aynısefa yanıklar, çürükler, kesikler, cilt yaraları, sarılık ve kan artımı gibi bir çok hastalıkların tedavisinde kullanılır [48, 46].

2.7. Reçine

Ağaçların kendilerini zararlı haşerelerden, dış etkenlerden korumak ve yaralarını iyileştirmek için sağladıkları doğal sıvılara reçine deniliyor. Ladin, sarıçam, göknar gibi iğne yapraklı ağaçlarda bulunan reçine, ağaçların kabuk böceklerine karşı kullandıkları önemli direnç faktörüdür. Ağaç karıncaları ve bal arıları, antimikrobiyal özellikleri olan reçineyi yuvalarına dahil eder, reçine yuvalarda olan genel mikrobiyel yükü azaltıp, karıncaları, bal arılarını fungal ve bakteriyel patojenlerden korur [10]. Reçine yapışkan bir dokuya sahip, genellikle koyu sarı veya açık kahve renkli sıvı maddedir, lakin oksijenle birleştiği zaman sertleşme özelliği vardır. Daha çok çam sakızından elde edildiği için reçineye çam sakızıda deniliyor. Suda çözünmeyip,

sadece organik çözücülerde çözünen reçine yumuşak ve kolay erime gibi özelliklere sahiptir. Reçinenin sakız reçine, oleoreçine ve sert reçine gibi 3 çeşidi vardır: 1. Sakız reçine - doğal sakızdan oluşur; 2. Oleoreçineler- uçucu yağlardan oluşur 3. Sert reçine ise - sakızı olmayıp az miktarda uçucu yağdan oluşan reçinelerdir [49]. Ladin reçinesinden hazırlanan reçine metisiline dirençli S.aureus ve vankomisine dirençli enterokok gibi gram pozitif bakterilere karşı bakteriyostatiktir. Reçinenin antibakteriyal etkisinin, insan patojenlerinin hücre duvarını ve hücre zarını hedef aldığı bilinmektedir. Reçine çeşitli cilt enfeksiyonlarında, yaraların iyileştirilmesinde, birçok kozmetik ürünler için hammadde olarak kullanılmaktadır. Gümüşü indirgemesi ve anti bakteriyel özelliğinden dolayı film hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır [50, 51].

2.8. Epoksi Soya

Çevre kirlenmeleri, küresel kaygılar, petrol fiyatlarındaki keskin artış nedeniyle, yenilebilir biokütleden elde edilen biyobazlı ürünlere olan talep gün geçtikçe daha da artmaktadır. Yenilenebilir kaynaklardan elde edilen ve petrol hammaddesine dayalı malzemelerin yerini alabilecek uygun maliyetli, çevre dostu polimerik malzemelere talep vardır. Bitkisel yağlar, polisakkaritler ve proteinler en çok kullanılan, yenilebilir kaynaklardandır. Bitkisel yağlar, bolluğu, düşük maliyeti, biyolojik bozunabilirliği ve çevresel faydalarından dolayı polimerler için oldukça kullanışlı başlangıç malzemeleridir. Soya fasulyesi, keten tohumu, ayçiçeği ve kolza tohumu yağları biyopolimerlerin sentezi için en çok tercih edilen ürünlerdir. Epoksi soya yağı, soya fasulyesi yağının epoksi-dasyonundan elde edilen organik bileşendir. PLA ile karıştırıldığında iyi plastikleştirici, arzu edilen erime mukavimeti ve reolojik performansa sahip özellikler sergiler. Ayrıca, son zamanlarda epoksi soyanın iyi bir plastikleştirici ve stabilizatör özelliklerinden ilave filmlerin esnekliğinin yanı sıra termal stabiliteyi de artırabileceğini göstermişler. Epoksi soya yağı açık sarı renkte olup, esnek yumuşak, yapışkan bir yağlı sıvıdır. Isıya ve güneş ışığına karşı stabilite verme gibi, su ve hidrokarbonlarda çözünme konusunda iyi bir direnç gösterip, uçucu olmaması gibi birçok özelliğe sahiptir. Düşük maliyete, üretim kolaylığına sahip olduğundan dolayı daha çok tercih edilen epoksi soya kullanıldığı ürünlerde ısı ve ışık dayanımını artırıyor. Epoksi soyanın, pigment dağıtıcı, kaydırıcı gibi özellikleri vardır

ve ayrıca da asitlere karşı oldukça dayanma gücü gösteriyor, bu da proses zamanı asit oluşumuna karşı bir duvar oluşturmasını sağlıyor. İnsan vücudunda metabolize edilebilir, biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilme gibi özellikleri olan epoksi soya cerrahi sızdırmazlık maddeleri, stentler, yara iyileştirme cihazları gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılır. Epoksi soya beton katkı maddeleri, yüzey yapıştırıcılar, mobilya, oyuncak, suni deri, kablo, hortum gibi alanlarda tarım ve gıda ambalaj sektöründe de kullanıma uygundur [52].

2.9. Antimikrobiyal Organizmalar

Antimikrobiyaller, birçok malzemenin kalitesini ve güvenliğini sağladıkları için bilimsel araştırma ve endüstride ilgi çekmektedirler. Ancak düşük molekül ağırlıklı organik antimikrobiyal maddelerin çevreye toksik olmaları ve kısa süreli antimikrobiyal etkileri de olması gibi dezavantajları vardır. Bu görevleri çözmek için antimikrobiyal ilaçlarla polimer moleküllerine antimikrobiyal fonksiyonel gruplar enjekte edilir. Antimikrobiyal polimerlerin kullanımı, mevcut antimikrobiyal ajanların etkinliğini arttırmak, çevresel sorunları en aza indirmek ve antimikrobiyal ajanların etkinliğini, seçiciliğini ve ömrünü arttırmak için umut vaat etmektedir [53].

Antimikrobiyallerin plastik kütlelerde kullanılması için mikroorganizmalara karşı etkili olmaları ve ayrıca ısı direnci, plastikleştiricilerde çözünürlük, polimerlerle uyumluluk, düşük sızma derecesi, UV ışınlarına karşı direnç, çevreye zararsızlık gibi özelliklere sahip olmaları gerekir [54].

Bakteriler, mantarlar ve algler gibi mikroorganizmalar plastik kütlenin estetik ve fiziksel özelliklerini etkileyerek solmaya, polimer kokusuna, hasara neden olurlar. Gıda endüstrisinde, bitkilerle temas eden cihazlar mikroorganizmalar için ideal bir ortam sağlar, bu nedenle bazı ekipman üreticileri antimikrobiyal katkı maddeleri kullanırlar. Gıda endüstrisinde kullanılan yol astarlarına (malzemelere) antimikrobiyallerin eklenmesi temizlik maliyetlerini düşürür ve bakteri ve mantarlara karşı direnç sağlar [55].

Bu çalışmada *S. Aureus* ATCC 25923 ve *E. Coli*'nin ATCC 25922 antimikrobiyal aktivitesini ölçmek için gümüş nitrat, PLA, reçine, epoksi, aynı sefa ve karanfil yağı kullanılarak geliştirilen kompozit Filmlerin antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesi hedeflenmiştir.

2.9.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcaceae kökeninden gelen *staphylococcus* insanlarda ve sıcakkanlı hayvanlarda, genellikle çevrede bulunan çeşitli enfeksiyonlara neden olan önemli bir patojendir [56]. *S. aureus*'un en önemli yönü, birçok kemoterapi ilacıyla hızla artmasıdır [57].

S. aureus hareketsiz, sporsuz, yuvarlak, orta büyüklükte patojendir [58]. Hücre bölünmesi farklı düzlemlerde meydana geldiğinden, ilaçlarda üzüm kümeleri şeklinde görülür [43]. Ayrıca ayrı, çift veya dört ayaklı gruplar olarak da kabul edilebilirler [55]. *S. aureus* deri, yumuşak doku enfeksiyonları, endokardit ve osteomyelit gibi çeşitli klinik hastalıklara neden olmaktadır.

2.9.2. *Escherichia coli*

E. Enterobacteriaceae ailesinden *Escherichia* geninde bulunan *coli*, insan ve hayvanların kolonunda yaşayan bakterilerin normal bir florasıdır . Doğumdan 1-2 saat veya bir gün sonra, insanlarda ve sıcak kanlı hayvanlarda görülür, ince bağırsağın son bölümünü ve kalın bağırsağın mukozasını kapatırlar. *E. coli*, 2-6 µm yüksekliğinde ve 1-1,5 µm genişliğinde düz yuvarlak çubuklardan oluşur. Bazı kültürlerde kok kadar küçük ve kısa olabilirler [59]. Kirpikleri olduğu için hareketlidirler, ancak yavaş hareket ederler. Hatta hareketsiz görünebilirler ve gram negatiftirler. Bazı koşullarda insan ve hayvanlar için patojen haline gelen *E. coli* sürgün şeklinde ortaya çıkan bağırsak hastalıklarına yol açabilir. Enterotoksijenik, Entero hemorajik gibi növlere olan *E. coli* gastroenterit, kanlı diyare, kolanjit, flebit, apandisit, yara enfeksiyonları gibi bir çok hastalıklara neden olmaktadır. Bu yüzden bu tür hastalıklardan korunmak için oldukça dikkatli olmalı, kullandığımız ürünlerin, besinlerin bize daha sağlıklı, bu tür bakterilerden korunmuş bir şekilde ulaşması için kullanılan ambalaj

ürünlerinin, paketlerin bu tür bakterilere karşı dayanıklı olup olmamasını kontrol etmek sağlık açısından oldukça önemlidir [59].



BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Polilaktik asit yerel bir şirketten satın alındı. HPLC saflığında metilen klorür Sigma kimya şirketinden satın alındı. Gümüş nitrat (AgNO_3) Sigma Firmasından satın alınmıştır. E. Coli ATCC 25922 ve S. Aureus ATCC 25923 kültürleri Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonundan (Manassa, VA, ABD) elde edildi. Bakteri kültürleri, %20 gliserol içeren Triptik Soya Suyu Maya Ekstraktında (TSBYE, Merck, Almanya) 18° C’de donduruldu. Analizden önce, test bakterileri TSBYE ortamında 24 saat boyunca 37° C’de inkübasyonla aktive edildi. Epoksi soya Sigma’dan satın alınmış ve önceden metilen klorürde eritilerek olduğu gibi kullanılmıştır. Ladin reçinesi, Türkiye’nin Akdeniz bölgesinde toplanan yerel mağazalardan elde edildi. Reçine kullanılmadan önce metilen klorür içinde çözüldü. Aynısefa ve karanfil esansiyel yağları yerel mağazalardan saf halde satın alındı ve döküm çözeltisine ilave edilerek kullanıldı.

3.2. Materyal Metot

Bu çalışmadaki tüm filmler solvent döküm yöntemi ile hazırlanmıştır. Bir gram PLA granülü hassas terazide tartıldı ve çözeltiye başka kompozit bileşikler eklenmeden önce altı saat karıştırılarak diklorometan içinde çözüldü. Tamamen çözündükten sonra, ilk PLA filmi için 15×15 cm karelik bir cam substrat üzerine düzgün bir PLA çözeltisi döküldü. Bu film PLA (A) olarak etiketlendi. Filmin kuru formunun ağırlığı 30 µm film kalınlığı için hesaplandı ve bu film kalınlığını elde etmek için tüm katkı malzemeler ağırlıklandırıldı. İkinci film için, aynı miktarda PLA diklorometan içinde çözüldü ve çözeltiye bir miktar önceden çözülmüş ladin ağacı reçinesi ilave edildi. 3 saat karıştırıldıktan sonra, ikinci film PLA’da olduğu gibi hazırlandı ve PLA (B) olarak eklendi. Üçüncü film epoksi soya ilavesiyle hazırlandı. Aynı miktarda PLA

diklorometan içinde çözüldü ve tamamen çözündükten sonra PLA çözeltisine epoksi soya ve önceden çözünmüş ladin ağacı reçinesi ilave edildi. 3 saat karıştırıldıktan sonra, PLA kompozit film aynı şekilde hazırlandı ve PLA (C) olarak etiketlendi. Film hazırlığının dördüncü aşamasında filme AgNP'ler eklendi. AgNP'ler ladin ağacı reçinesi çözeltisi içerisinde sentezlendi. Gümüş nitrat, ladin ağacı reçinesi içeren diklorometan çözeltisi içinde çözüldü ve çözelti içindeki polifenoller, AgNP'leri oluşturmak için gümüş iyonlarını azalttı. Bu indirgeme işlemi yavaşlattı; Bu nedenle, nanoparçacık oluşum hızı, diklorometan içindeki AgNO₃ çözeltisi üzerinde 360 nm UV ışığının parlatılmasıyla arttırıldı. Dördüncü film için PLA çözeltisi, AgNP'ler ladin ağacı reçinesi çözeltisi ve epoksi soya birlikte karıştırıldı ve 3 saat karıştırıldıktan sonra cam substrat üzerinde film hazırlandı ve PLA (D) olarak etiketlendi. Son film için uçucu yağlar filme ilave edildi. Aynısefa ve karanfil yağı 1:1 oranında karıştırıldı ve daha sonra bu karışım doğrudan PLA çözeltisine ilave edildi. Son film, tüm çözeltiler karıştırılarak iki farklı uçucu yağ oranında hazırlandı. İlki PLA (E1) olarak etiketlenmiş %5 uçucu yağ içeriyor, ikincisi ise %10 uçucu yağ içeren PLA (E2) olarak etiketlendi.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan materyaller.

No.	Materyal	Karşılandı
1.	Gümüş nitrat (AgNO ₃)	Merck
2.	Polilaktik asit (PLA)	Sigma-aldrich
3.	Ladin reçine	Analtik Kimya Laboratuvarı / Sakarya Üniversitesi
4.	Epoxy soya	
5.	Aynı sefa yağı	
6.	Diklorometan (CH ₂ Cl ₂)	Sigma-Aldrech
7.	Kalsyum sulfat (CaSO ₄)	
8.	Staphylococcus aureus	Gıda Mühendislik
9.	Escherichia coli	Laboratuvarı / Sakarya Üniversitesi

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar.

No.	Cihaz	Model
1.	Elektron taramalı mikroskop (SEM)	Jeol JSM-6060-LV
2.	Fourier transform infrared spectrometer	Shimadzu PRESTİGE-21 spectrometer, Japan.
3.	UV-Vis Spektrofotometre	Shimadzu UV- Visible 160 Japan.
4.	Çekme- Basma- Eğme testleri	Instron 500 N
5.	Enerji Dağılım spektrometresi	Hitachi TM 3030, Japan.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. FITIR Spektrumları

Her bileşenin FTIR spektrumları, 4 cm^{-1} çözünürlüğe sahip bir SHIMADZU PRESTIGE FTIR spektrofotometresi kullanılarak kaydedildi. Her spektrumun ortalaması 20 spektrum toplanarak alındı. Spektrofotometre bir ATR numune aşaması taşır; bu nedenle spektrumları toplamak için numune hazırlığı gerekmez. Tüm spektrumlar $600\text{ ila }4000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı bölgesi arasında toplandı. Hazırlanan filmler ATR kristali üzerine sıkıştırıldı ve son spektrumlar için aynı sayıda spektrum toplandı ve ortalaması alındı.

4.2. Termal Analiz

Filmlerin termal analizi NETZSCH STA 449F1 cihazı kullanılarak yapıldı. Filmlerin T_g ve T_m değerlerini ölçmek için PLA termal özelliklerine göre herhangi bir farkı gözlemlemek için en yüksek sıcaklık $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ idi. Her filmin 5 mg 'ı kesildi ve analiz için azot atmosferinde bir termal analiz potasına yerleştirildi. Termogravimetrik veriler $40\text{ ila }200\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında $10\text{ }^{\circ}\text{C/dk.}$ ısıtma hızında toplanmıştır.

4.3. Mekanik Özellikler

Hazırlanan altı farklı filmin mekanik özelliklerini test etmek için Instron 500 N marka enstrüman kullanıldı. Hazırlanan filmler $100 \times 12\text{ mm}$ ebatlarında kesildi ve her iki taraf da test makinesinin her iki koluna sıkıştırmak için bir filmle kaplandı. Filmlerin kalınlığı dijital kumpas kullanılarak ölçüldü ve filmlerin yaklaşık kalınlığı $30\text{ }\mu\text{m}$ idi. Çekme dayanımı (TS), elastiklik modülü (EM) ve kopma uzanması (EB) dahil olmak

üzere her numune için anlık olarak üç parametre ölçüldü. Her örnek için üç kopya ölçüldü ve her parametrenin ortalaması rapor edildi.

$$TS=F/A$$

Burada F numuneyi ayırmak için gereken maksimum kuvvet, A ise kompozit filmlerin kesit alanıdır.

4.4. Antibakteriyel Aktivite Testi

Filmlerin antibakteriyel aktivitesi, iki tipik patojenik bakteri Gram negatif E. coli ve Gram pozitif S. aureus kullanılarak agar kuyu difüzyon yöntemi [62] ile belirlendi. Test bakterileri 24 saat boyunca 37 ° C'de bir TSBYE ortamında inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda, bakteri kültürleri, ~ 6 log cfu / ml'lik bir nihai konsantrasyona sahip Triptik Soya Agar ortamına (TSA, Merck, Almanya) aşılandı ve ortamın katılaşması bekleniyordu. Aseptik koşullar altında, steril bir agar matkabı ile 8 mm çapında kuyular açılmış ve kuyulara 100 µL film çözeltisi aktarılmıştır. 37 ° C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra, kuyucukların etrafında oluşan inhibisyon bölgelerinin çapı milimetre olarak ölçüldü. Tüm ölçümler üç kopya halinde yapıldı.

4.5. SEM ve EDS

PLA, reçine, epoksi, AgNO₃ ve aynı saf, karanfil yağ karışımından oluşan filmlerin yapısındaki değişiklikler, morfoloji özellikler yüksek vakum koşullarında taramalı elektron mikroskobu (SEM, JEOL İNSTRUMENT JSM-6060) kullanılarak analiz edildi. Yüksek kaliteli görüntüler elde etmek için önce her numunenin küçük kesimi bantla kaplı bir alüminyum üzerine konuldu daha sonra ultra ince altın tabaka ile iyice kaplandı ve tüm görüntüler 500-1000 kat büyütmede alındı. Enerji Dispersiv Spektrum (EDS) analizi filmlerde kullanılan malzemelerin oranlarını, miktarlarını belirlemek için yapıldı.

4.6. Su Buharı Geçirgenliği (WVP)

Hazırlanan filmlerin su buharı geçirgenliğini (WVP), susuz CaSO_4 'ın su emilimi standart ASTM 96-80 deneyine göre ölçülmüştür. Temiz yıkanıp kurutulmuş bir cam behere 5.0 gram CaSO_4 ilave edildi ve emilen suyu çıkarmak için 100°C 'de bir fırına yerleştirildi. Daha sonra hazırlanan filmlerle kapatıldı, hava sızdırmasını önlemek için film beherin kenarlarına polimerle iyice yapıştırıldı. Sonra beherler 37°C derecede fırına yerleştirildi. Bundan sonra beherlerin ağırlığı 8 gün boyunca her 24 saatte bir kaydedildi. Filmlerin su geçirgenliği, bileşik Fick ve Henry'nin kaplamalar ve filmler yoluyla gaz difüzyon kanunlarına göre hesaplandı. Su buharı hızı, X eksenindeki günlük süre ile Y eksenindeki beher ağırlığı arasındaki noktalarda çizgi çizilerek aşağıdaki formül ile hesaplanıyor:

$$\text{WVP} = (C \times T) \times (A \times P) \text{ g.mm/m.day.k.pa}$$

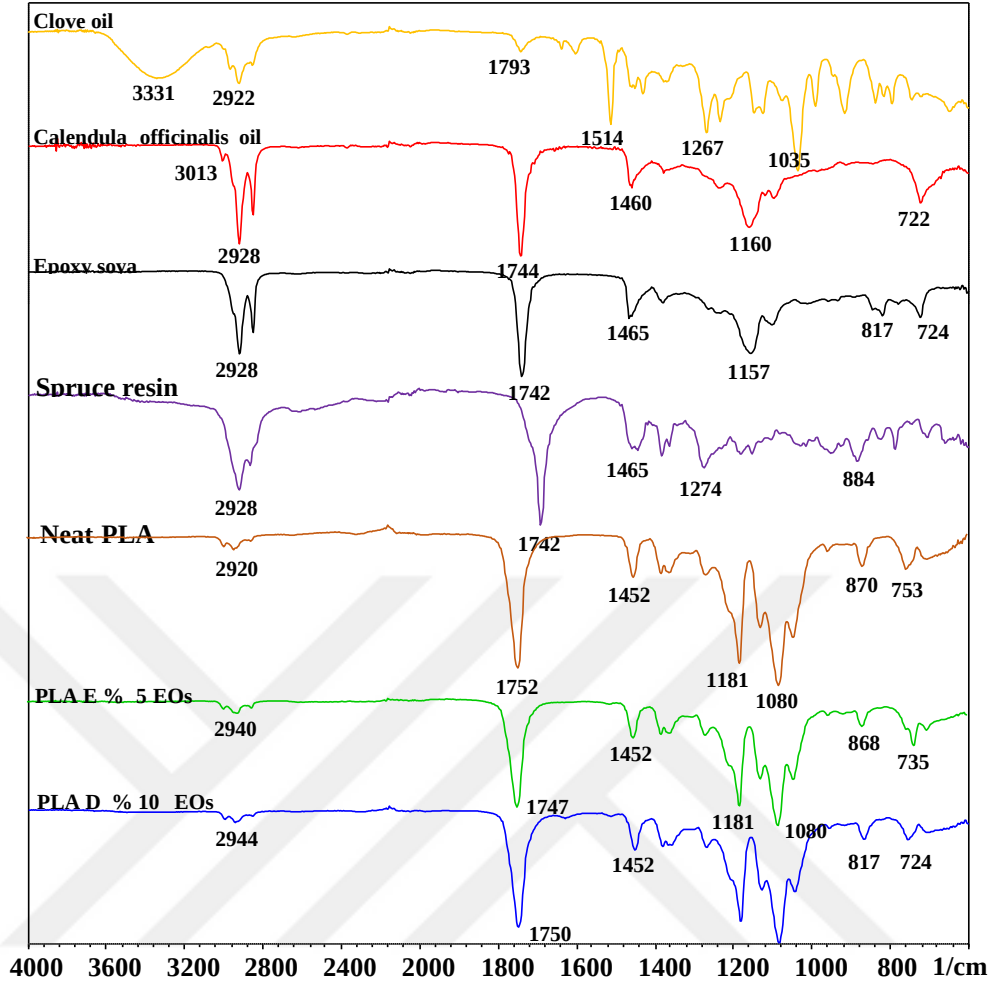
Burada C çizginin eğimi, T filmin kalınlığıdır (mm), A filmin alanıdır, AP iki taraftaki kısmi buhar basıncı varyantıdır (5.94 kPa). Filmin kalınlığı, ısı ve basınç gibi çevresel koşullar da filmin geçirgenliğinin bir etkisine sahiptir.

BÖLÜM 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Filmlerin FTIR analizi, PLA polimerlerinin yapısal değişimleri hakkında bilgi vermektedir. FTIR, absorpsiyonu spektroskopi bir tekniktir ve konsantrasyona bağlı bir tekniktir, bu nedenle bir spektrumu kaydetmek için analit konsantrasyonu belirli bir seviyede olmalıdır. Hazırlanan filmlerin spektrumları, moleküller arasındaki etkileşimlerden kaynaklanan değişiklikleri gözlemlemek için PLA FTIR spektrumları ile karşılaştırıldı. Her filmin spektrumları 600 ila 4000 cm^{-1} arasında kaydedildi. Şekil 5.1.'de kompozit malzeme olarak PLA filmlerine eklenen her bileşenin spektrumlarını göstermektedir. İlk iki spektrum saf karanfil yağı ve aynısefa yağını gösterir. İki uçucu yağ karışımı 1: 1 oranında hazırlandı ve % 5 ve % 10 uçucu yağ içeren iki farklı film hazırlandı. Karanfil yağı öjenol içerir ve spektrumlar öjenolün karakteristik piklerini gösterir. 3331 cm^{-1} etrafındaki bant, belirgin -OH germe titreşimini gösterir. 1793 cm^{-1} bandı C =O germe titreşimlerini gösterir. Parmak izi bölgesinde farklı zirveler görülür, ancak karanfil yağının düşük konsantrasyonu nedeniyle bu piklerin hiçbiri PLA filmlerinde görünmez. Bir apolar ortamda ekstrakte edildiğinde, aynısefa yağı karotenoidler, steroidler, saponinler ve tanenler dahil olmak üzere çeşitli kimyasallar içerir. Polar bir ortamda, flavonoidler, karbonhidratlar, amino asitler ve saponinler dahil olmak üzere farklı bileşikler çıkarılabilir [60]. Aynısefa yağı saf bir madde değildir, bileşiklerin bir karışımıdır. 3013 cm^{-1} civarındaki küçük bant, bileşenlerden birindeki aromatik grupları gösterir. 1744 cm^{-1} civarındaki bant C =O grubu germe titreşimini göstermektedir. Epoksi soya, plastikleştirici olarak PLA filmlerine eklenen başka bir bileşendir. Epoksi soya, C = O germe ve -CO bükme titreşimlerine karşılık gelen 1739 ve 1157 cm^{-1} civarında güçlü absorpsiyon bantları verir. Epoksi soya üzerindeki oksiran grubu, grubun C-O deformasyonuna atfedilen yaklaşık 817 cm^{-1} 'de spesifik bir absorpsiyon zirvesi verir. Bu çalışmanın ilginç katkılarından biri, yerel mağazalardan elde edilen ve herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan kullanılan ladin ağacı reçinesidir. Reçine asitleri, sinamik asit, liganlar ve diğer bileşenleri içerir.

Reçine asidi, diterpenler adı verilen bir bileşen grubundadır ve reçinenin ana bölümünü oluşturur. Reçine asitlerinin her ikisi de polar olmayan polar gruplara sahiptir ve bu onları polar ortamlarda kısmen çözünür hale getirir, ancak reçinenin kendisi suda çözünmez. Yaygın ladin ağacı reçinesi asitleri abietik, neoabietik, dehidroabietik, pimarik, izopimarik, levopimarik, sandrakopimarik ve palustrik asitlerdir [61].

Reçinenin en belirgin piki, $C=O$ germe titreşimlerinden 1742 cm^{-1} civarında görülür. 2928 cm^{-1} etrafındaki tepe noktaları, $-CH_3$ titreşimlerinin $C-H$ gerilmesine karşılık gelir. Parmak izi bölgesinde başka pikler var, ancak bu saf bir bileşik değil, bu yüzden onları değerlendirmek zordur. Düzgün PLA spektrumu, diğer bileşenlerde olduğu gibi benzer bantlar verir. Alifatik gruplar, 2920 cm^{-1} civarında küçük bantlar ve 1752 cm^{-1} 'de güçlü bir $C=O$ bandı verir. $C-O-C$ grubu, bu grubun simetrik ve asimetrik germe titreşimlerine atfedilen 1180 ve 1083 cm^{-1} civarında bantlar verir. $-CH_3$ bükme titreşimi 1452 cm^{-1} civarında bir bant verir. Alt dalga sayısı bölgesinde, $C-COO$ ve $C=O$ bükülme titreşimlerinin $C-C$ gerilmesine karşılık gelen 865 cm^{-1} ve 753 cm^{-1} 'de bantlar görünür. Şekil 5.1.'deki son iki spektrum, içindeki tüm bileşenleri içeren hazırlanmış PLA filmlerini göstermektedir. Yeşil renkli spektrum% 5 uçucu yağları, mavi renkli spektrum ise% 10 uçucu yağları içerir. PLA filmi nihai ürünle karşılaştırırken çok fazla fark yoktur. Tüm bileşen pikleri, yüksek PLA konsantrasyonu nedeniyle PLA piklerine gömülür. Tek fark, 1080 cm^{-1} civarında tepe noktalarının nispi yoğunluğunda görülebilir. Karbonil pikinin etrafında ve üzerinde küçük bir fark daha belirir. Diğer bileşen karbonil pikleri bu pikleri katkıda bulunur, pikler daha kalın ve daha geniş olur. Elde edilen FTIR çalışması temel olarak bileşenlerin çok fazla etkileşim özelliği göstermemektedir.



Şekil 5.1. FTIR spektrumları.

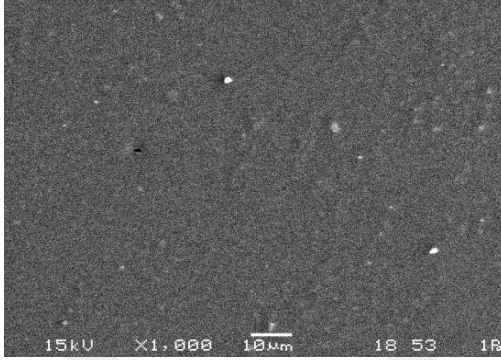
Altı farklı filmin sentezi için tüm bileşenlerin FTIR spektrumları kullanıldı. Son iki spektrum (yeşil ve mavi renkli), tüm bileşenleri içeren hazırlanmış filmleri gösterir. Yeşil renkli spektrumlar %5 uçucu yağları ve mavi renkli spektrumlar %10 uçucu yağları içerir.

Üretilen tüm filmler taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri alınarak yüzey özellikleri karşılaştırılarak değerlendirildi. Şekil 5.2. A şekillerdeki PLA olarak etiketlenmiş saf PLA filminin SEM görüntüsünü göstermektedir. Filmin yüzeyi pürüzsüz, düzgün ve üzerinde çatlak yoktur. Filmin hazırlanması sırasında oda koşullarından dolayı filmde bazı safsızlıklar vardır. Filmlerin yüzey özelliği çözücünün buharlaşma süresine ve sıcaklığına bağlıdır. Kurutma işlemi çok hızlı olmamalıdır, aksi takdirde filmin içinde küçük delikler oluşacaktır. Şekil 5.2. B, ladin

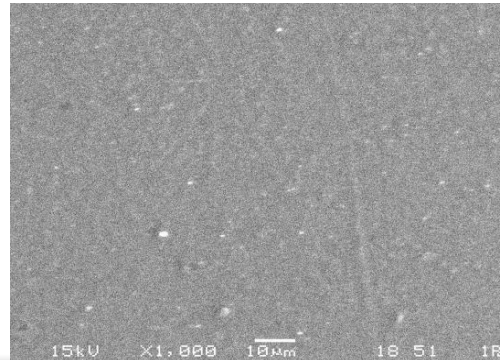
ağacı reçinesi eklenmiş PLA filmini göstermektedir ve PLA A olarak etiketlenmiştir. Filmin yüzey yapısı homojendir ve filmin yüzeyinde düzgün PLA filminde olduğu gibi görünür bir kırılma görülmez. Ladin reçinesi, PLA filminin içinde homojen bir dağılım gösterir. Filmin içinde oda koşullarından gelen bazı beyaz parçacıklar var. Şekil 5.2. C, ladin reçinesi ve epoksi soya eklenmiş PLA filmini göstermektedir ve bu filmin içine plastikleştirici olarak epoksi soya eklenmiştir. Epoksi soyanın eklenmesi filmin yüzey dokusunu değiştirdi ve yüzeyde çok sayıda küçük delik oluştu. Bunlar filmin içinden geçen delikler değil. Kurutma işleminde çözücünün buharlaşması sırasında oluşabilir. Plastikleştirici olarak epoksi soya, PLA zincirleri arasına girer ve herhangi bir gerilme koşulunda polimer zincirleri kolayca birbiri üzerine kayar. Bu, PLA'ya ekstra uzama özelliği verir. Bu işlem sırasında filmin opak yapısı kaybolur ve bulutlu yapı bir filme dönüşür. Bir miktar ısı uygulandığında, opak yapı geri gelir. Şekil 5.2. D, ladin reçinesi ve epoksi soya içeren AgNP'leri eklenmiş filmi göstermektedir. Bu film PLA C olarak etiketlenmiştir. Ladin reçinesi çözeltisinin içinde AgNP'ler oluşur. Epoksi soya çözünmüş metilen klorür çözücüsünde çözünmüş bir miktar gümüş nitrat ve polifenoller yardımıyla gümüş iyonu azalınca kadar bir süre karıştırılır. Bu işlem yavaştır, daha uzun zaman alır, ancak 365 nm UV ışığının uygulanmasıyla kısa sürede (15 sn) AgNP'LER oluşturulabilir. Kahverengi renk oluşumu, çözelti içindeki AgNP'lerin sentezini gösterir ve PLA filmi, kurutma işleminden sonra bu kahverengi rengi gösterir. AgNP'lerin eklenmesi filmin yüzey özelliğini değiştirir ve bu küçük delik benzeri yapılar kaybolur. Bu sefer delikler yerine, filmin yüzeyinde sıkı parçalar vardır ki, bunlar da muhtemelen çözücü ile oluşturulmuş yerlerdedir. AgNP'ler delikleri doldurabilir ve PLA zincirlerini ve diğer bileşenleri filmin içine yapıştırmak için yapıştırıcı görevi görebilir. Şekil 5.2. E ve F, uçucu yağların, ladin reçinesinin, epoksi soyanın ve AgNP'leri içeren PLA filmi eklediğini göstermektedir. Uçucu yağ miktarı filmlerin yüzey özelliklerini çok değiştirir. Şekil 5.2. E'de, PLA filminin yüzeyi yükseltilmiş solucan benzeri yapılar göstermektedir ve bu film% 5 uçucu yağ içermektedir. Bileşenlerin kutupsal grupları bir araya geliyor ve apolar gruplar onları çevreliyor gibi görünüyor. Eklenen ikinci uçucu yağ filmi% 10 uçucu yağ içerir ve PLA E olarak etiketlenir. Yüzeyde delik benzeri yapılar vardır; bu delikler filmden geçebilir. Epoksi soya oranındaki bir artış, filmin tüm yapısını değiştirir. Delik benzeri yapıların farklı boyutları oluşur ve bu delikler film boyunca küçük kılcal damarlar

oluşturabilir. Epoksi soya oranında bir artış olsa da, filmde filmlerin elastikliği çok artar ve bu kısım mekanik özellik kısmında tartışılacaktır.

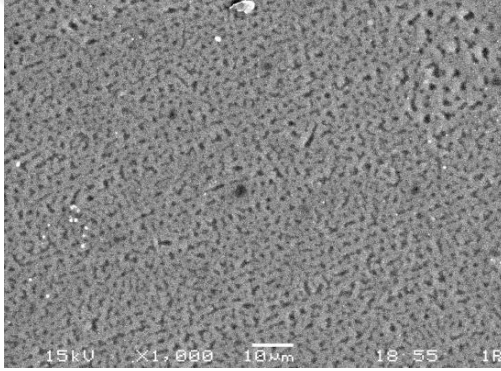
A PLA



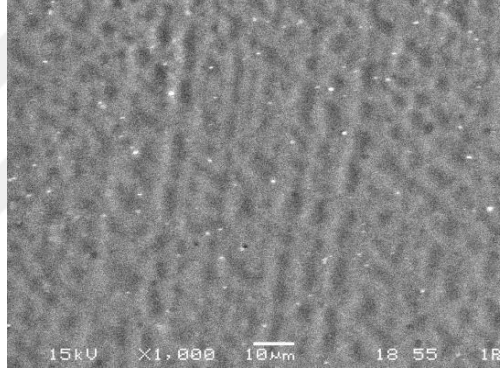
B PLA A



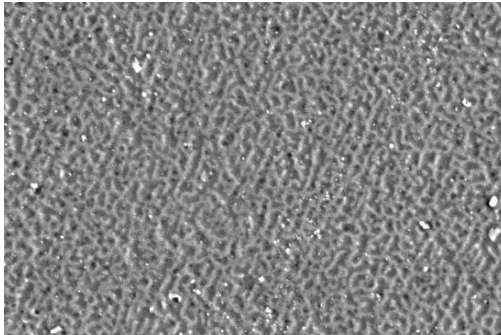
C PLA B



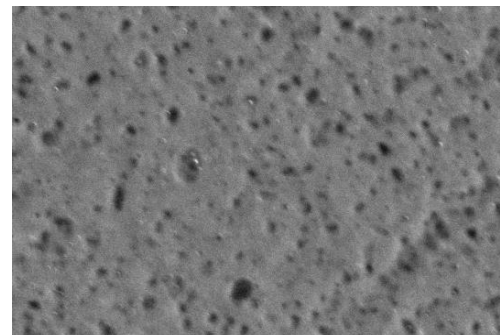
D PLA C



E PLA D %5



F PLA E % 10



Şekil 5.2. Hazırlanan altı farklı filmin SEM görüntüleri.

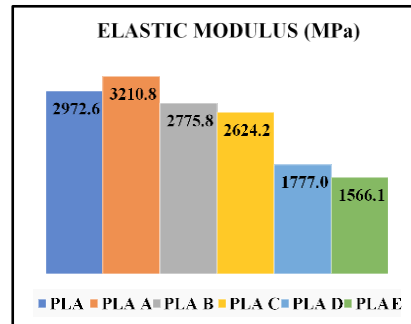
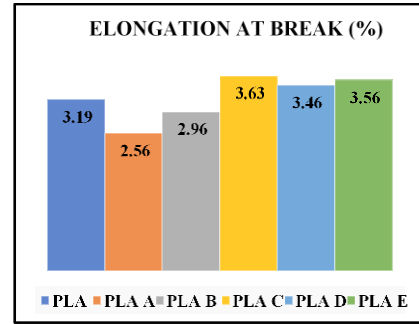
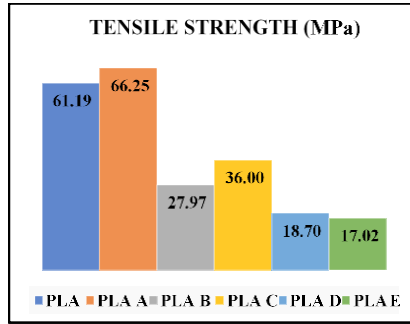
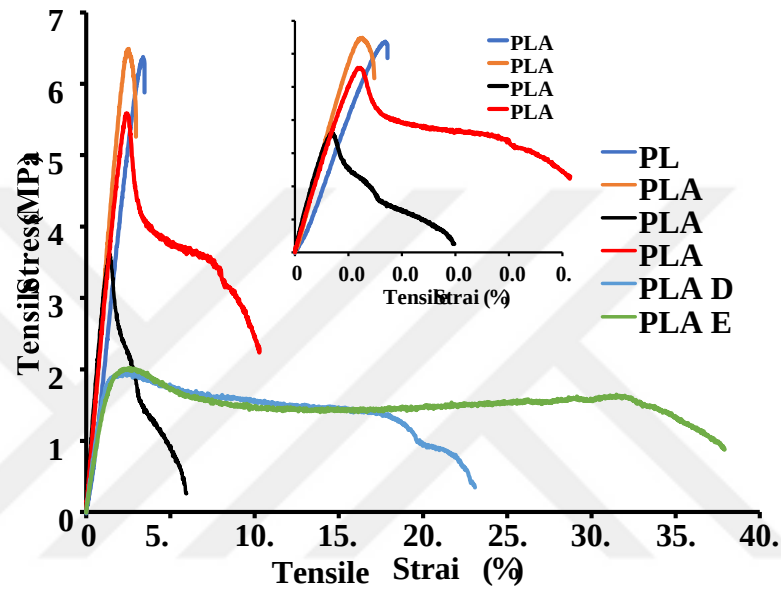
A sadece PLA'yı gösterir, B ladin reçinesi eklenen PLA filmini gösterir, C ladin reçinesi ve epoksi soya eklenen PLA filmini temsil eder, D ladin reçinesi, epoksi soya ve AgNP eklenen filmleri temsil eder ve E ve F filmlere eklenen ladin reçinesi, epoksi soya, AgNP ve uçucu yağları gösterir (sırasıyla % 5 ve % 10).

PLA filmlerinin mekanik özellikleri iyi değildir; bu nedenle gıda ambalaj endüstrisi için PLA filminin bazı fiziksel özelliklerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Altı farklı film sentezlendi ve bu filmlerin fiziksel özellikleri yalnız PLA'dan oluşan film ile karşılaştırılarak belirlendi. PLA ve kompozit formların mekanik özellikleri çekme dayanımı (TS), kopma uzanması (EB) ve elastiklik modülü (EM) ölçümleri ile incelenmiştir. Şekil 5.2. A, hazırlanan tüm filmlerin gerilme-gerilim eğrilerini göstermektedir. PLA filmlerin başlıca zayıf yönleri sertlik, kırılganlık ve düşük uzayabilirliktir. Böylece filmler kuvvet uygulanarak kolayca kırılmıştır [62]. Bu plastikleştiricilerin eklenmesinin temel amaçlarından biri, filmlerin gerilme mukavemetini azaltmaktır. Şekil 5.2.'de hazırlanan filmlerin mekanik özelliklerini göstermektedir. Şekil 5.2. B, C ve D, Şekil 5.3. A'nın özetini göstermektedir. PLA filminin çekme dayanımı diğer filmlerle karşılaştırıldığında, ikinci en yüksek değere sahiptir. PLA ve ladin reçinesi karışımı 66.25 MPa olarak en yüksek gerilme mukavemetine sahiptir. PLA, 61.19 MPa civarında daha düşük gerilme mukavemetine sahiptir. Ladin reçinesinin PLA filmine dahil edilmesi, reçinenin yüksek viskozitesi nedeniyle çekme dayanımını (TS) artırır. PLA ve PLA A'nın elastiklik modülü diğerlerinden daha yüksektir. Elastik modülü, filmin esnekliğini belirler ve bir film için daha düşük değerler daha iyi olacaktır. Tüm mekanik ölçümler Şekil 5.3.'de özetlenmiştir. Kopma uzaması durumunda PLA A'nın davranışı farklıdır. Ladin reçinesi ilavesiyle çekme dayanımı ve elastiklik modülü artarken kopma uzanması değeri azalır. Bu büyük olasılıkla ladin reçinesinin yüksek viskozitesinden ve içindeki bazı kutup gruplarından kaynaklanmaktadır. Ladin reçinesi plastikleştirici olarak eklenmedi; filmin antimikrobiyal özelliğini arttırmak için antimikrobiyal bir reaktif olarak eklenmiştir. Ladin reçinesi içinde polifenoller içerir ve buda reçinenin polifenol içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Standart bir polifenol çözeltisi kullanılarak bir kalibrasyon grafiği hazırlandı ve aynı koşullarda deney ladin reçinesi için tekrarlandı. Filmin içindeki epoksi soyadan sonra ladin reçinesi eklenirse, ve bu artış görülemezse, epoksi soya PLA filmleri üzerindeki reçine etkisini ortadan kaldırır. Epoksi soyadan sonra ladin reçinesinin eklenmesi, filmlerin gerilme mukavemetini azaltacaktır. Bu bölüm deneysel sonuçlarda gösterilmemiştir. PLA B'nin mekanik özellikleri, filmin içine epoksi soya eklenmesi nedeniyle daha iyi hale gelir. Filmin TS ve EM değerleri sırasıyla 27.97 MPa ve 2775.8 MPa'ya düşmüştür.

Beklendiği gibi EB değeri %2,96'ya yükselmektedir. Epoksi soyanın eklenmesi moleküller arası etkileşimleri azaltır ve polimer zincirleri filmin içinde hareket edebilir. Bu, filmlerin esnekliğini ve genişletilebilirliğini artırır [63, 64]. PLA hidrofobik bir polimerdir ve polimer zincirleri arasında güçlü Van der Waals etkileşimleri vardır. Epoksi soyanın eklenmesi, zincirler arası etkileşimleri engeller; bu nedenle, filmin TS'si % 50'den fazla azalır. Filmlerin EB değeri önemli bir parametredir; numunenin elastik deformasyona karşı direncini gösterir ve daha düşük değer filmlerin elastikliliğini yansıtır [65, 66]. PLA C, filmin içinde ekstra AgNP'ler içerir. Filmlerin fiziksel özelliklerindeki değişiklikler diğerlerinden farklıdır. Filmin TS ve EB değerleri artarken, filmin EM değerleri azalır. Artışın nedeni büyük olasılıkla AgNP'lerin dolgu etkisinden ve PLA zincirlerinin moleküler hareketliliğini kısıtlayan güçlü etkileşim geliştirmesinden kaynaklanmaktadır. Filmin hesaplanan TS, EB ve EM değerleri sırasıyla 27.97 MPa, %2.96 ve 2775.8 MPa'dan 36.0 MPa, %3.63 ve 2624.2 MPa'ya değişmiştir. Son iki film PLA D ve PLA E farklı miktarda uçucu yağlar içerir. PLA D % 5 ve PLA E % 10 uçucu yağ içerir ve tek fark uçucu yağ miktarı olmasına rağmen filmlerin yüzey morfolojisini ve fiziksel özelliklerini etkiler. Uçucu yağ ilavesinin nedeni, filmlerin antimikrobiyal özelliğini ve elastikliğini arttırmaktır. Bu özellikleri arttırmak için iki uçucu yağ karışımı kullanıldı. Her iki uçucu yağ antimikrobiyal özelliklere sahiptir ve karanfil yağı filmlerin mekanik özelliklerini büyük ölçüde değiştirir. Uçucu yağların ilavesiyle kopma değerindeki uzama çok fazla değişmese de, hem filmlerin TS hem de EM değerleri neredeyse %50 azalmaktadır. Özellikle PLA E diğer filmlerle kıyaslandığında çok yüksek elastikiyete sahiptir. Filmin TS ve EM değerleri sırasıyla 17.02 MPa ve 1566.1 MPa'ya düşmüştür. Çekme mukavemeti ve elastik modülündeki yüksek miktardaki azalma, daha yüksek uçucu yağ konsantrasyonlarında artan plastikleştiriciplastikleştirici etkileşimleridir [67,68].

Filmlerin mekanik özelliklerinin tam olarak değerlendirilmesinden sonra, filmlerin tüm özelliklerini geliştirmek neredeyse imkansızdır. Bu tür çalışmalar her defasında uzlaşma sonuçları verir. Genel olarak, plastikleştirici epoksi soya tatmin edici sonuçlar vermiştir ve reçine tek başına bir plastikleştirici olarak hareket etmese de, epoksi soya ile kombinasyon halinde iyi sonuçlar vermektedir. Epoksi soyanın eklenmesi filmlerin fiziksel özelliklerini önemli ölçüde değiştirir. Filmin TS ve EM değeri çok azalırken,

EB değeri aynı anda artar. AgNP'ler, boşlukları doldurarak elastik modülünü azaltıp ve filme eklenen tüm bileşenler arasındaki etkileşimleri artırarak TS ve EB değerlerini artırır. Filmlere EO eklenmesi filmlerin fiziksel özelliklerini artırır. Filmlerin elastikliliyi, uçucu yağ konsantrasyonunu artırarak artar. Uçucu yağların konsantrasyonu ne kadar yüksek olursa, belirli bir değere kadar sonuçlar o kadar iyi elde edilebilir. Tüm bu veriler Tablo 5.1.'de özetlenmiştir.



Şekil 5.3. Hazırlanan filmlerin mekanik test sonuçları.

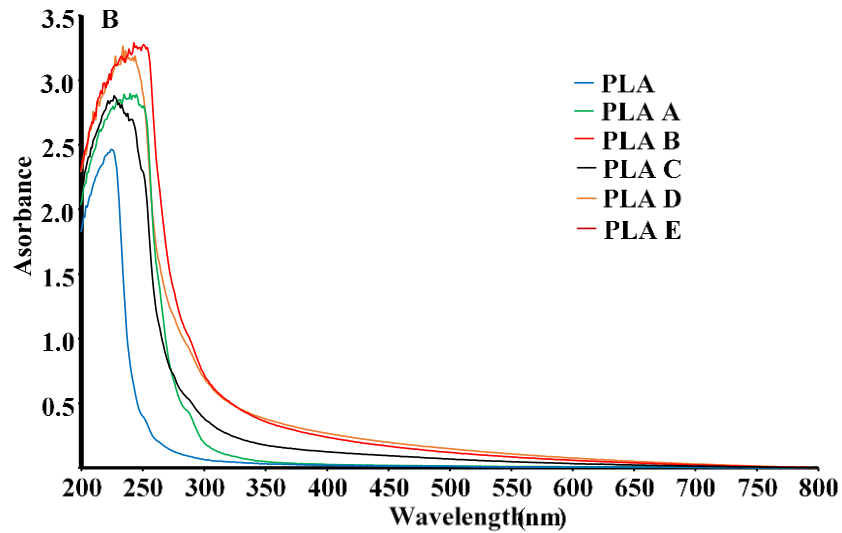
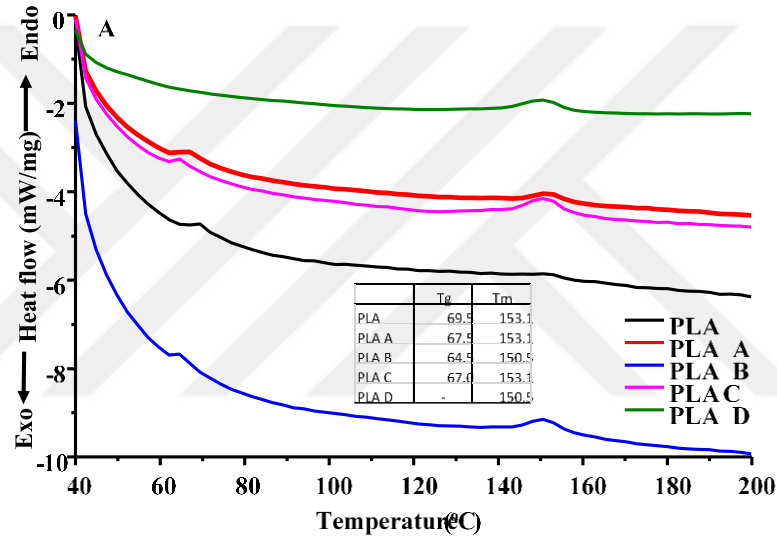
A, her filmin gerilme-gerilim eğrilerini gösterir. B, her filmin gerilme mukavemeti (TS) değerlerini gösterir, C, kopma değerlerinde uzamayı (EB) temsil eder ve D, elastik modül (EM) değerlerini gösterir.

Tablo 5.1. Hazırlanan filmlerin fiziksel özellikleri.

FILMS	THICKNESS (μm)	TENSILE STRENGTH (Mpa)	LONGATION AT BREAK (%)	ELASTIC MODULUS (Mpa)	Water Vapor Permeation (WVP)
PLA	0.03	61.19 $\pm$ 2.78	3.19 $\pm$ 0.10	2972.6 $\pm$ 73.6	0.063 $\pm$ 0.0045
PLA A	0.03	66.25 $\pm$ 4.70	2.56 $\pm$ 0.18	3210.8 $\pm$ 76.5	0.044 $\pm$ 0.0027
PLA B	0.03	27.97 $\pm$ 0.91	2.96 $\pm$ 0.34	2775.8 $\pm$ 38.9	0.068 $\pm$ 0.0058
PLA C	0.03	36.14 $\pm$ 1.75	3.63 $\pm$ 0.25	2624.2 $\pm$ 42.0	0.068 $\pm$ 0.0067
PLA D	0.03	18.70 $\pm$ 0.79	3.46 $\pm$ 0.25	1777.0 $\pm$ 56.8	0.091 $\pm$ 0.0072
PLA E	0.03	17.02 $\pm$ 1.06	3.56 $\pm$ 0.33	1566.1 $\pm$ 16.6	0.133 $\pm$ 0.0127

Şekil 5.4. A, hazırlanan tüm filmlerin DSC eğrilerini göstermektedir. Cam geçiş sıcaklığı (T_g), kristalleşme sıcaklığı (T_c) ve erime sıcaklıkları (T_m) değerlerini gözlemlemek için taranan sıcaklık aralığı 40 °C ile 200 °C arasındadır. Filmler hiçbir kristalleşme sıcaklığı vermedi. Filmlerin T_m ve T_g değerleri Tablo5.1.'deki tabloda gösterilmiştir. Filmlerin T_g değerlerinin karşılaştırılmasında PLA en yüksek değere sahiptir. Reçinenin ve epoksi soyanın eklenmesi, filmlerin T_g değerlerini 69.5'ten 64.5'e düşürür. PLA filminin içindeki elastikliyetin eklenmesi zincirler arası etkileşimi azaltır, bu nedenle T_g değeri bir miktar azalma gösterir. Plastikleştirici ilavesi T_g değerini düşürse de T_m değerindeki değişim anlamlı değildir. Genel olarak plastikleştiricilerin eklenmesi polimerlerin T_g ve T_m değerlerini düşürecektir [69]. Filmin içine reçine eklenmesi çekme mukavemetini artırır, ancak filmin T_g değerlerini aynı şekilde etkilemez. Ladin reçinesi yüksek viskoziteye sahiptir; bu nedenle, bu zincirler arasında yer alarak polimer zincir etkileşimlerini azaltmalıdır. PLA C, AgNP ilavesinden sonra filmin T_g değerini gösterir. PLA'nın T_g değeri, NP'lerin eklenmesinden sonra artar. Bu, reçine ilavesinde olduğu gibi sınırlı polimer zincir hareketlerinden kaynaklanıyor olabilir [70]. Uçucu yağların ilavesinden sonra filmlerin T_g ve T_m değerleri düşmeli ancak T_g değerinde bir fark gözlenmedi. Bu,

uçucu yağlar eklendikten sonra buharlaşma sürecinden kaynaklanmaktadır ve ayrıca uçucu yağlar, polimer zinciri arasındaki etkileşim kuvvetlerini azaltacak ve polimer zincir hareketliliğini artıracaktır. Bu nedenle filmlerin T_g değeri gözlenmeyebilir. Uçucu yağ ilavesinden sonra filmin T_m değeri azalır. Uçucu yağ ilavesi ne kadar fazla olursa, polimer zincirleri arasındaki etkileşim kuvvetleri o kadar azalacak ve zincirlerin hareketliliği artacaktır. Filmlerin hiçbirinde kristal oluşumu görülmedi. PLA granüllerinde daha yüksek D-izomer içeriği olabilir. Tüm DSC eğrilerinde, faz ayrılmasının gerçekleşmediğini kanıtlayan başka hiçbir erime veya kristalleşme gözlenmedi. Bu çalışmada PLA E'nin termal özelliği gösterilmemiştir.

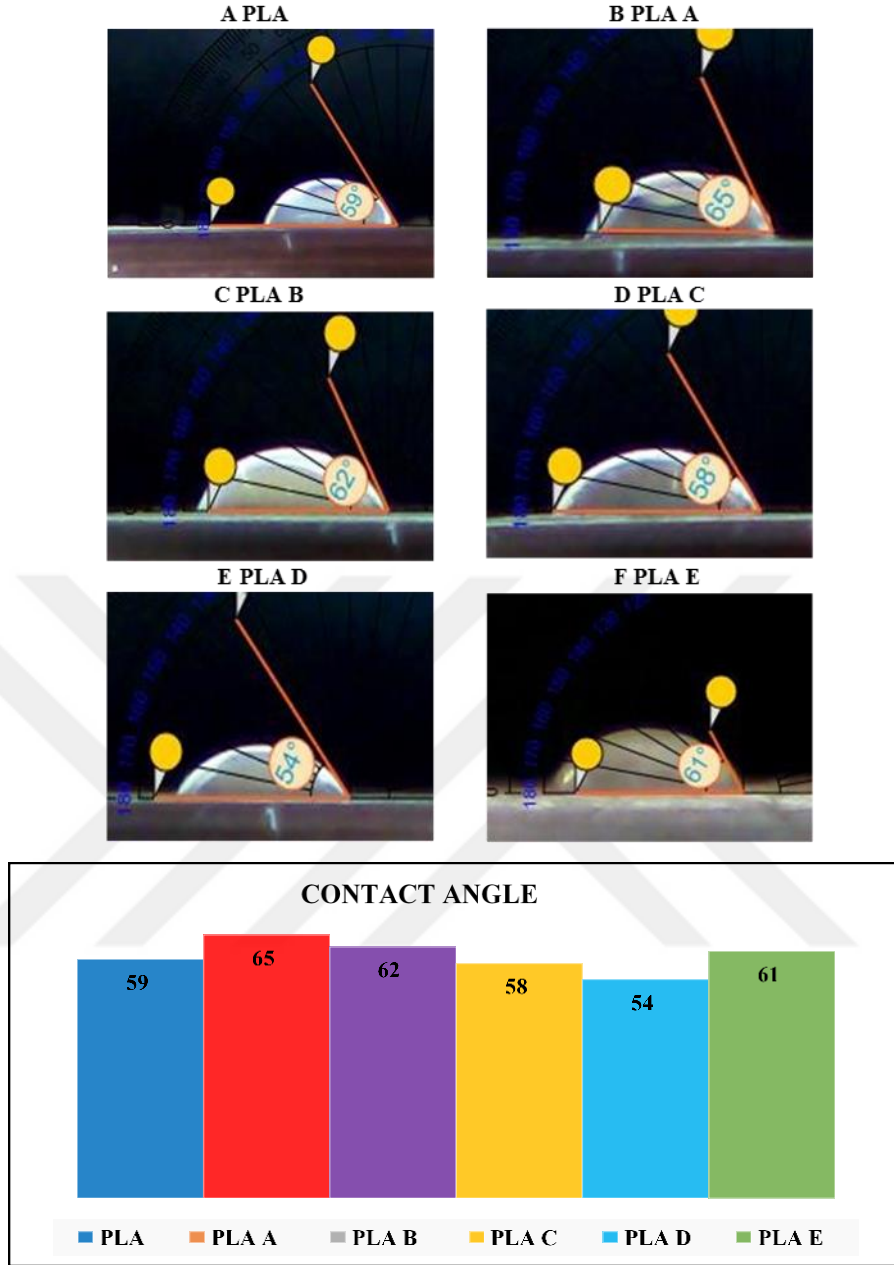


Şekil 5.4. A Hazırlanan filmlerin ısı özelliklerini gösterir.

En yüksek sıcaklık, PLA filmlerin hem T_g hem de T_m değerlerini kapsayan 200 °C dir. B hazırlanan filmlerin ışık geçirgenlik özelliğini gösterir. Yer en düşük ışık geçirgenliğine sahiptir.

Filmlerin ışık geçirgenliği özellikle UV ışınlarına duyarlı gıdalar için önemli bir parametredir. Bu nedenle, gıda maddelerine ulaşmadan önce UV ışığı durdurulmalıdır. UV ışığının farklı bölgeleri vardır ve en tehlikeli olanı UVC bölgesidir. Gıda koruma filmleri genellikle şeffaftır ve PLA filmleri UVC ışığını durdurmaz. Kompozit film hazırlığının nedenlerinden biri UV ışığını engellemektir. Filmlerin ışık geçirgenlik özelliği 200-700 nm dalga boyu aralığında UV-Vis spektrumları ölçülerek değerlendirildi. Şekil 5.4. B, filmlerin ışık saydamlığını göstermektedir. Katkı maddelerinin eklenmesi farklı amaçlara sahip olsa da, ışığın bazı kısımlarını da engelleyebilirler. Şekil 5.4. B'de görüldüğü gibi, PLA filminin ışık şeffaflığı en yüksektir. UVC ışıklarının daha yüksek dalga boyları filme nüfuz edebilir. Filmin kalınlığına bağlı olarak, PLA ışığı 240 nm'ye kadar durdurabilir. Bu dalga boyundan daha yüksek olan diğer tüm dalga boyları filme nüfuz eder. PLA filmlerine reçine ve epoksi soya eklenmesi daha fazla UVC bölgesini bloke eder. Fakat yine de, UVC ışığının daha yüksek dalga boyları filmlere nüfuz edebilir. 270 Nm'den fazla dalga boyu filmlerden geçebilir ve tüm UVC ışığını durdurabilir, ya reçine ve epoksi soya konsantrasyonu artırılmalı ya da filmlere başka bir UVC engelleyici eklenmelidir. AgNP'lerin eklenmesi, filmlerin ışık Emilimini artırır. Filmin absorpsiyon eğrisi 300 nm civarında artmaya başlar ve 265 nm civarında en yüksek seviyesine ulaşır, bu da hala bazı UVC ışıklarının girmesine izin verir. AgNP'lerin eklenmesi filmlere kahverengi bir renk verir, ancak bu UVC ışığını durdurmaya yardımcı olmaz. PLA D film, içindeki tüm kompozit bileşikleri ve % 5 uçucu yağ içerir ve UV spektrumlarında görüldüğü gibi, belirgin bir UVC engelleme özelliği gösterir. Filmin Emilimi 300 nm civarında başlar ve UVC bölgesinin dışında olan 290 nm civarında keskin bir artış gösterir. PLA E, filmin benzer absorpsiyon özelliğinden dolayı spektrumlarda gösterilmemiştir. İçinde% 10 uçucu yağ bulunur ve daha yüksek bir dalga boyuna küçük bir kayma gözlemlendi.

Temas açısı ölçümleri WVP çalışmalarının doğrulanmasıdır. Filmlerin hidrofobik veya hidrofilik özelliklerini gösterir. Filmlerin temas açısı, filmin yüzeyinde bir damla su kullanılarak ölçülmüştür. Su damlacıkları ile yüzey arasında bir etkileşim varsa, açı küçülür ve açı derecesi filmlerin etkileşim yoğunluğunu yansıtır. AF her filmdeki su damlacıklarını ve ölçülen açıları göstermektedir ve bu açılar Şekil 5.5. G'de özetlenmiştir. Filmlerin bireysel olarak incelenmesi, filmlerin hidrofobikliğini ortaya koymaktadır. PLA, diğer filmlere kıyasla orta derecede hidrofobikliğe sahiptir ve PLA filmine ladin reçinesinin eklenmesi, filmin hidrofobik özelliğini artırır. WVP deneylerinde de benzer sonuçlar gözlemlendi ve deneylerden en az WVP değeri ölçüldü. Reçinenin ilavesi filmin temas açısını arttırsa da, epoksi soyanın ilavesi filmin temas açısını azaltır ve WVP çalışmalarında da benzer sonuçlar gözlemlenmiştir. Bu, reçine ve epoksi bileşen etkileşimlerinden kaynaklanabilir ve bileşenlerin hidrofobik tarafı birbirini çekerken, polar gruplar dışarıya itilir. Bu nedenle su damlası ve filmin yüzey etkileşimi artar. Filme AgNP'lerin eklenmesi temas açısını azalttı. İnorganik parçacıklar hem polar hem de apolar bileşiklerle etkileşime girebilir. Bu parçacıkların filmin yüzeyine eklenmesi etkileşimi artıracak ve filmlerin temas açısını azaltacaktır. Film hazırlamanın son adımı, filme uçucu yağların ilavesidir. WVP çalışmasında olduğu gibi bu bölümde de benzer sonuçlar gözlemlenmiş ve EO miktarı ne kadar yüksekse temas açısı o kadar düşük bulunmuştur. Bu, uçucu yağların içindeki kutup gruplarından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, filmleri paketlemek için istenen durum bu değildir; Filmin antimikrobiyal özelliğini arttırmak için, bu uçucu yağlar filmin içine dahil edilmelidir.

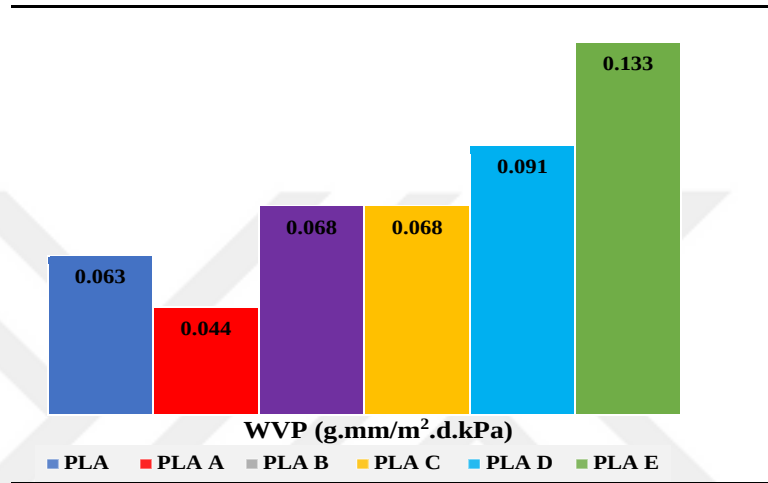


Şekil 5.5. Hazırlanan filmlerin temas açısı. Hazırlanan filmlerin üzerine bir su damlası konuldu ve daha sonra bunların

Gıda ambalaj filmi özelliğinin önemli özelliklerinden biri hidrofobiklik ve su buharı engelleme özelliğidir. Bazı gıda maddeleri su buharına duyarlıdır. Filmin su geçirgenliği, ürünlerin depolama süresini değiştirecek ve ürünlere ulaşmadan önce bir şekilde durdurulması gerekecektir. Bazı polimer filmler hidrofobik özelliklere sahip olsalar da, küçük kanallar veya kırıklar nedeniyle su buharı penetrasyonuna izin verebilirler. Filmlerin su buharı tıkanıklığını iyileştirmenin farklı yolları vardır ve

bunlar çoğunlukla filmin içine dolgu maddelerinin eklenmesidir. PLA hidrofobik bir polimerdir ve içindeki hidrofilik bileşikler kabul etmez. Kompozit katkı maddeleri, birbirleriyle Van der Waals etkileşimlerine sahip olmak için AgNP'ler veya hidrofobik moleküller olarak inorganik olmalıdır. Şekil 5.6.'da hazırlanan PLA filmlerin su buharı geçirgenlik özelliğini göstermektedir. Her katkı maddesi film özelliklerini farklı şekillerde etkiler. Asıl amaç su buharını durdurmak olsa da, katkı maddelerinin olumsuz etkileri nedeniyle çoğu zaman bu mümkün değildir. Filmlerin tüm özelliklerini geliştirmek mümkün olmayabilir; bu nedenle, katkı maddeleri, özellikle bu çalışmadaki uçucu yağlar, su buharını istediğiniz gibi durdurmaz. Düzgün pla'nın 0.063'ü g.mm/m².d.kPA literatür sonuçları ile karşılaştırılabilir olan su buharı geçirgenliği vardır [71]. Aynı solvent döküm yöntemini kullanmalarına rağmen bazı varyasyonları bulmak mümkündür [72]. Bu varyasyonların başlıca nedeni filmlerin solvent tipi ve kurutma işlemi olabilir. Filmler cam alt tabaka üzerinde çok hızlı kurutulursa, tek taraflı buharlaşma işlemi nedeniyle birçok mikro delik oluşacaktır. Filmlerin cam tarafı çözücünün uzaklaştırılmasına izin vermeyeceğinden çözücü film içinden uzaklaştırılmalıdır ve bu işlem filmin içinde çok sayıda küçük delik oluşturabilir. Filmler yüksek sıcaklıklarda imal edildiyse, daha büyük delikler oluşacak ve bu fenomen film kurutma işlemi sırasında deneysel olarak gözlemlenecektir. Filmin içerisine reçine ilavesi geçirgenlik miktarını azaltır. Ladin reçinesi viskoz bir yapıya sahiptir ve filmin içindeki küçük delikleri tıkayabilir. Bu nedenle, reçine eklendikten sonra WVP azalır. Ve sonuçta reçine ilavesi PLA filminin WVP'sini 0.044'e düşürdü. Saf PLA film, güçlü zincirler arası etkileşimler ve film içindeki daha az serbest hacim nedeniyle daha düşük WVP sağlamalıdır. Şekil 5.6. her filmin WVP'sini göstermektedir ve sonuçlar Şekil 5.5.'de özetlenmiştir. Filmlere reçine eklenmesi beklentileri karşılarsa da, diğer katkı maddeleri için de aynı şeyi söylemek mümkün değildir. Epoksi soya ve reçinenin plastikleştiriciler olarak eklenmesi, filmlerin WVP'sini arttırdı. Epoksi soya aynı zamanda hidrofobik bir bileşiktir ve su geçirgenliğine izin vermez. Bununla birlikte, reçine bileşenlerinin epoksi ile etkileşimi, reçinenin bazı bileşenlerindeki polar gruplar nedeniyle tamamen uyumlu olmayabilir. PLA C, ekstra AgNP'ler içeren filmlerin WVP'sini etkilemedi. AgNP'ler polar ve polar olmayan gruplarla etkileşime girebilir; bu nedenle, filmin içindeki gruplar arasında tutkal gibi davranabilirler. PLA filmlerin içine uçucu

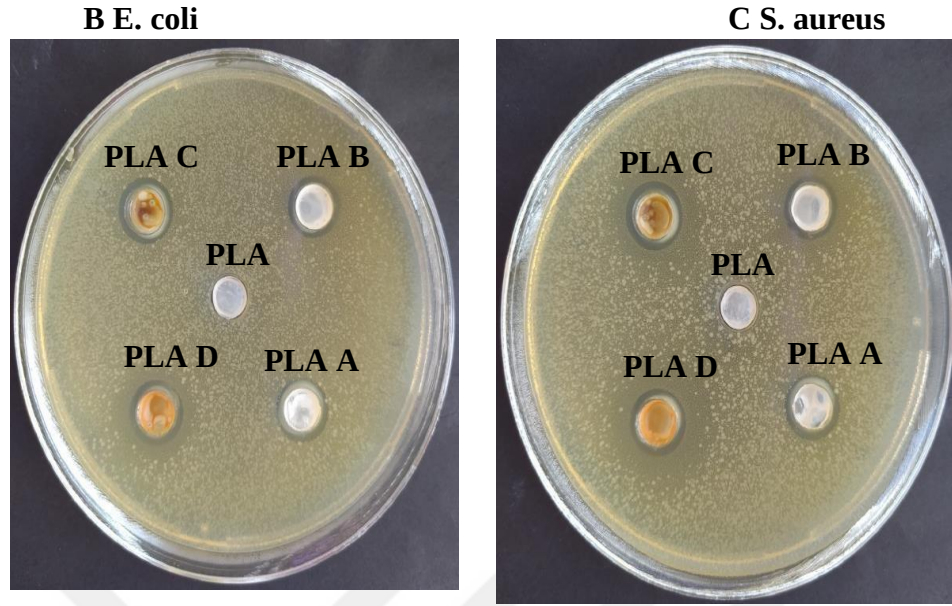
yağların eklenmesi filmlerin WVP'sini artırır. % 5 uçucu yağ ilavesinde bu miktar 0.091 iken,% 10 uçucu yağ ilavesinden sonra WVP 0.133'e kadar çıkmaktadır g.mm/m².d.kPa . uçucu yağlar üzerlerinde kutup grupları vardır ve bunlar hava içindeki su molekülleri ile etkileşime gireceklerdir. SEM görüntülerinde görüldüğü gibi, filmlerde çok sayıda delik benzeri yapı vardır. Bu deliklerden bazıları muhtemelen filmlerden geçer ve suyun içeri girmesine izin verir.



Şekil 5.6. A hazırlanan filmlerin su buharı geçirgenlik değerlerini gösterir.

Bu çalışmanın temel amaçlarından biri, gıda ambalaj endüstrisi için antimikrobiyal bir PLA filmi geliştirmektir. Bu nedenle her film, filmin antimikrobiyal özelliğini ölçmek için test edildi. PLA filminin antimikrobiyal özelliğini arttırmak için üç farklı antimikrobiyal reaktif kullanıldı. Bunlardan ilki, literatürde bildirilen antimikrobiyal özellikleri kanıtlanmış ladin reçinesidir . Reçine miktarı, PLA filmlerinin fiziksel özelliklerini korumak için optimize edildi. İkincisi, birçok alanda antimikrobiyal ajan olarak kullanılan AgNP'lerdir. NP'ler hücre yapısındaki fosfolipitleri oksitleyerek mikroorganizmaları etkisiz hale getirir. Bu nedenle, antimikrobiyal özellik için, bakteriler AgNP'lerle doğrudan temas halinde olmalıdır. Üçüncü antimikrobiyal reaktif grubu karanfil ve aynısefa yağlarıdır (uçucu yağlar). Bu iki uçucu yağ 1: 1 oranında karıştırıldı ve filmlerin içine eklendi. Bu yağlar, filmlerin yüzeyindeki daha yüksek difüzyon etkisinden dolayı antimikrobiyal reaktifler olarak diğerlerinden daha etkilidir. Uçucu yağların dezavantajı hızlı buharlaşma işlemidir. Uzun süreli antimikrobiyal özellikler için, bu yağlar PLA filmlerinin içinde daha uzun süre

kalmalıdır. Daha uzun salım süresi büyük olasılıkla uçucu yağların bileşenlerinin reçine bileşenleri ve epoksi ile etkileşiminden kaynaklanmaktadır. Nanopartiküllerin temas halinde olduklarında *E. coli* ve *S. aureus*'u etkisiz hale getirdiği zaten bilinmektedir. Şekil 5.7. A ve B, hazırlanan filmlerin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesinin sonuçlarını göstermektedir. PLA her iki bakteriye karşı herhangi bir antimikrobiyal etki göstermez ve bu literatürde de bilinen bir durumdur [73, 74]. Reçine ilavesi bazı antimikrobiyal özellikler gösterdi. Şekil 5.7. B ve C, agar plakasındaki reçine filmi için kuyu etrafındaki inhibisyon bölgelerini göstermektedir. Hazırlanan her film için bölge boyutları Şekil 5.7.'de verilmiştir. Epoksi soyanın bir plastikleştirici olarak eklenmesi de her iki bakteriye karşı herhangi bir antimikrobiyal özellik göstermedi. Reçine ve epoksi, PLA B filmi için sırasıyla *E. coli* ve *S. aureus* için ~ 11.83 ve 12.67 mm ile aynı boyutta inhibisyon bölgesini verir. AgNP'lerin eklenmesi, her iki bakteriye karşı PLA antimikrobiyal özelliğini artırır. İnhibisyon bölgesi *E. coli* ve *S. aureus* için sırasıyla 15.67 ve 18.33 mm olarak ölçüldü. Ekstra antibiyotik bileşikler ayrıca filmlerin antibiyotik özelliklerini artıran bu sonucu gösterir. PLA D filmi içinde ekstra uçucu yağ içerir ve en yüksek antimikrobiyal özelliği göstermelidir. İki farklı uçucu yağlar birlikte karıştırıldı ve bu karışım filme eklendi. Elde edilen sonuçlar, filmin içindeki tüm kompozit malzemelere sahip olan PLA D için en yüksek antimikrobiyal özelliğin görülebileceğini göstermektedir. Filmlerin antimikrobiyal özelliği her iki bakteri için de aynı değildi. *S. aureus*, *E.coli* bakterilerinden daha fazla etkilendi. Filmlerin inhibisyon bölgesi karşılaştırıldığında PLA D, agar plakalarında *E.coli* ve *S. aureus* için sırasıyla 15.67 ve 18.33 mm.'de en yüksek inhibisyon bölgesini verdi. Genel olarak, üç antimikrobiyal reaktif, her iki bakteri üzerinde ayrı ayrı önemli bir etkiye sahiptir. Reçine, AgNP'ler ve uçucu yağların kombinasyonu, bir agar plakası üzerindeki inhibisyon boyutlarında görüldüğü gibi daha güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahiptir. Epoksi soya dışında, eklenen diğer bileşenlerin birden çok işlevi vardır.



Şekil 5.7. B ve C, sırasıyla *E. coli* ve *S. aureus* için hazırlanan filmlerin antimikrobiyal çalışmasını göstermektedir.

Tablo 5.2. Hazırlanan filmlerin antibakteriyal aktivitesi.

Samples	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
A PLA	0,00±0,00 ^{dA}	0,00±0,00 ^{dA}
B PLA B	11,67±0,58 ^{cB}	12,33±0,58 ^{cA}
C PLA C	11,83±0,29 ^{cB}	12,67±0,58 ^{cA}
D PLA D	15,67±0,58 ^{bB}	18,33±0,58 ^{bA}
E PLA E	17,67±0,58 ^{aB}	21,33±0,58 ^{aA}

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. a-d: Aynı sütundaki numuneler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). A-B: Aynı sıradaki numuneler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Tablo 5.3. Hazırlanan örneklerde içerik miktarı

	PLA	SR	ES	AgNP	EOs
PLA	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PLA A	95.00	5.00	0.00	0.00	0.00
PLA B	85.00	5.00	10.00	0.00	0.00
PLA C	84.87	5.00	10.00	0.13	0.00
PLA D	79.87	5.00	10.00	0.13	5.00
PLA D	74.87	5.00	10.00	0.13	10.00

Bu çalışmanın temel amacı, gıda ambalajlama amacıyla PLA filminin mekanik ve antimikrobiyal özelliklerini geliştirmektir. PLA umut verici biyolojik olarak

parçalanabilen bir polimerdir ve birçok alanda kullanılmıştır. Yaygın olarak kullanılmasına rağmen, PLA'nın fiziksel özelliklerinin iyileştirilmesi gerekir ve bazı antimikrobiyal özellikler eklenebilir. Ladin ağacı reçinesi farklı kimyasal özelliklere sahiptir ve PLA filmine antimikrobiyal reaktif olarak eklenmiştir. Filmin WVP'si ve temas açısı dışında filmlerin antimikrobiyal özelliklerini geliştirmesine rağmen PLA'nın fiziksel özellikleri olumsuz etkilenmiştir. WVP ve filmin temas açısı, filmin hidrofobikliğine bağlıdır. Bu nedenle, reçine ilavesi filmin hidrofobikliğini arttırdı. Epoksi soyanın bir plastikleştirici olarak eklenmesi, PLA filminin fiziksel özelliklerini değiştirdi. TS ve EM parametreleri azalırken, reçine eklenen PLA filminin içine epoksi soya eklendikten sonra EB parametreleri arttı. AgNP'ler ayrıca filmlerin fiziksel özelliklerini de değiştirdi. Filmin TS'si, NP'lerin polar ve apolar gruplarla güçlü etkileşimi nedeniyle artmış ve filmin sadece EM değeri küçük bir düşüş göstermiştir. Nanopartiküller filmlerin WVP'sini etkilemedi, ancak su molekülleri ile güçlü etkileşim nedeniyle filmlerin temas açısını azalttılar. AgNP'ler ayrıca E. coli ve S. aureus bakterilerine karşı önemli antimikrobiyal özellikler gösterdi. Kompozit malzemelerin filmlerin ısı özelliklerine etkisi, filmin Tg ve Tm değerleri ölçülerek incelenmiştir. Reçine ilavesi filmin Tg değerlerini değiştirmezken, plastikleştirici ilavesi filmin Tg'sini önemli ölçüde değiştirdi. Filmlerin Tm değerleri kompozit malzeme ilavesinden çok fazla etkilenmemiştir. Uçucu yağların eklenmesi filmlerin fiziksel özelliklerini etkilemiş ve seçilen bakterilere karşı antimikrobiyal özellik kazanmıştır. Özellikle karanfil yağı, TS'yi düşürerek ve EB değerini artırarak filmin fiziksel özelliklerini önemli ölçüde değiştirdi. Ancak uçucu yağların eklenmesi, filmlerin WVP'sini yüksek hidrofilik özelliğe yükseltir ve temas açısı ölçümleri sırasında da benzer sonuçlar gözlemlendi. Genel olarak, epoksi soya, ladin ağacı reçinesi, AgNP'ler ve uçucu yağların eklenmesi filmlerin fiziksel özelliklerini hem olumlu hem de olumsuz yönde değiştirir. Ayrıca, reçine, AgNP'ler ve uçucu yağlar, E. coli ve S. aureus'a karşı önemli kombine antimikrobiyal etkiler göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Therias, S., Larche, J.F., Bussiere, P.O., Gardette, J.L., Murariu, M., Dubois, P., Photochemical behavior of polylactide/ZnO nanocomposite films, *Biomacromolecules* 13 3283–3291, 2012.
- [2] Torres-Giner, S., Ocio, M.J., Lagaron, J.M., Development of active antimicrobial fiber-based chitosan polysaccharide nanostructures using electrospinning. *Eng Life Sci* 8(3):303–14, 2008.
- [3] Song, H.Y., Ko, K.K., Oh, I.H., Lee, B.T., Fabrication of silver nanoparticles and their antimicrobial mechanisms, *European Cells and Materials*, 11:58, 2006.
- [4] Tsang, Y. F., Kumar, V., Samadar, P., Yang, Y., Lee, J., Ok, Y. S., Jeon, Y. J., Production of bioplastic through food waste valorization. *Environment International*, 127(January), 625– 644, 2019.
- [5] Tari, O., Aronne, A., Addonizio, M.L., Daliento, S., Fanelli, E., Pernice, P., Sol–gel synthesis of ZnO transparent and conductive films: a critical approach, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* 105 179–186, 2012.
- [6] Lin, Q. B., Li, H., Zhong, H. N., Zhao, Q., Xiao, D. H., & Wang, Z.W., Migration of Ti from nano-TiO₂-polyethylene composite packaging into food simulants. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 31(7), 1284–1290, 2014.
- [7] Cho, K.H., Park, J.E., Osaka, T., Park, S.G., The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient, *Electrochimica Acta*, 51:956-960, 200.
- [8] Shankar, S., Rhim, J.W., Tocopherol-mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial PBAT/silver nanoparticles composite films, *LWT-Food Sci. Technol.* 72 149–156, 2016.
- [9] Polat, Y.G., & Candoğan, K., Antibacterial activity of soy edible coatings incorporated with thyme and oregano essential oils on beef against pathogenic bacteria. *Food Science and Biotechnology*, 26(4): 1113-1121, 2017.

- [10] Chu, Z., Zhao, T., Li, L., Fan, J., & Qin, Y, Characterization of Antimicrobial Poly (Lactic Acid)/Nano-Composite Films with Silver and Zinc Oxide Nanoparticles. *Materials*, 10(6), 2017.
- [11] Ahmed, J., Varshney, S.K, Polylactides chemistry, properties and green packaging technology: a review. *Int. J. Food Prop.* 14, 37e58, 2004.
- [12] Auras R., Harte B., Selke, S., An overview of polylactides as packing materials. *Macromol Biosci* 4(9): 835-64, 2004.
- [13] Chandra, R., Rustgi, R., Biodegradable polymers. *Prog Polym Sci* 23(7):1273–335, 1998.
- [14] Azadbakht, E., Maghsoudlou, Y., Khomiri, M., Kashiri, M, Development and structural characterization of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil: Potential as an antimicrobial carrier for packaging of slipcase sausage. *Food Pack. Shelf Life*, 17, 65–72, 2018.
- [15] Jamshidian, M., Tehrany, E.A., Imran, M., Jacquot, M., Desobry, S., Polylactic acid: production, applications, nanocomposites, and release studies. *Comp Rev Food Sci Food Safety* 9(5):552– 71, 2010.
- [16] Suyatma, N.E., Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan and poly(lactic acid) blends. *J Polym Environ* 12(1):1–6, 2004.
- [17] Jessen, B., Sustainability and emerging topics in food research and education. *Danish Dairy Food Ind* 17:22–3, 2007.
- [18] Rhim, J.W., Hong, S.I., Ha, C.S., Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films. *LWT-Food Sci Technol* 42(2):612–7, 2009.
- [19] Mahady, G.B., Medicinal plants for the prevention and treatment of bacterial infections. *Curr Pharm Des* 11:2405–2427, 2005.
- [20] Pan, S.Y., Zhou, S.F., Gao, S.H., Yu, Z.L., Zhang, S.F., Tang, M.K., Sun, J.N., Ma, D.L., Han, Y.F., Fong, W.F., & Ko, K.M., New Perspectives on How to Discover Drugs from Herbal Medicines: CAM's Outstanding Contribution to Modern Therapeutics. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013: 627375, 2013.
- [21] Chen, Y., Lian, X., Wang, Y., Wang, Y., Xiong, Y., Wuhan Univ. of Technology, People's Republic of China assignee. Lysozyme/lentinan sulfate self-assembly modified polylactic acid material and its preparation. China, Patent 102675674A, 2012.

- [22] Fei, Y.N., Wang, H.B., Gao, W.D., Wan, Y.Q., Fu, J.J., Yang, R.H., Antimicrobial activity and mechanism of PLA/TP composite nanofibrous films. *J Text Inst* 105(2):196–202, 2014.
- [23] Kenawy, el-R., Worley, S.D., Broughton, R., The chemistry and applications of antimicrobial polymers: A state-of-the-art review, *American Chemical Society*, 8(5):1359-1384, 2007.
- [24] Xu, X., Yang, Q., Wang, Y., Yu, H., Chen, X., Jing, X., Biodegradable electrospun poly(L-lactide) fibers containing antibacterial silver nanoparticles. *Eur Polym J* 42(9):2081–7, 2006.
- [25] Butnariu, M., & Coradini, C.Z., Evaluation of Biologically Active Compounds from *Calendula officinalis* Flowers using Spectrophotometry. *Chem Cent J*. 6:35, 2012.
- [26] Ağaçfıdan, A., Anı, Ö., Bal, Ç., Berkiten, R., Büyükbaba Boral, Ö., Bozkaya, E., Büget, E., Erturan, Z., Gürlü, N., Anı Küçükler, M., Öner, Y.A., Töreci, K., Uzun, M., Yeğenoğlu, Y., Tıbbi Mikrobiyoloji 2, Emel Bozkaya (editör), Nobel Tıp Kitabevleri, sf. 1-97, İstanbul, 2005.
- [27] Panacek, A., Kvitek, L., Pucek, R., Kolar, M., Vecerova, R., Pizurova, N., Sharma, V.K., Nevecna, T., Zboril, R., Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity, *J Phys Chem B*, 110:16248-16253, 2006.
- [28] Simone-Finstron, M. D., Spivak, M., Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, 41,295-311, 2010.
- [29] Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W., Zhang, S., Yang, X., Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@Ag nanoparticles, *Nanotechnology*, 18:285604-285611, 86, 2007.
- [30] Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckert, J., Lindenmann, J., Tıbbi Mikrobiyoloji, 8.Baskı, Mine Anđ Küçükler, Emel Tümbay, Özdem Anı (editörler), Nobel Tıp Kitabevleri, sf.153, İstanbul, 1997.
- [31] Ke, T., Sun, X., Melting behavior and crystallization kinetics of starch and poly(lactic acid) composites. *J Appl Polym Sci* 89(5):1203–10, 2003.
- [32] Chora, I., The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: A useful development or a cause for concern, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*,59:587-590, 2007.
- [33] Braydich-stolle, L., Hussain, S., Schlager, J.J., Hofmann, M.C., In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells, *Toxicological Sciences*, 88(2):412-419, 2005.

- [34] Hussain, S.M., Hess, K.L., Gearhart, J.M., Geiss, K.T., Schlager, J.J., In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells, *Toxicology In Vitro*, 19:975-983, 2005.
- [35] Simpson, K., Using silver to fight microbial attack, *Plastics Additives & Compounding*, September/October, 32-35, 2003.
- [36] Mcdonnel, G.E., Antisepsis, Disinfection and Sterilization: Types, Action and Resistance, American Society for Microbiology, pp.79-148, Washington D.C., 2007.
- [37] Bilgehan, H., Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, 10.Basım, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, sf.189-226, İzmir, 2002.
- [38] Percival, S.L., Bowler, P.G., Russell, D., Bacterial Resistance to Silver in Wound Care, *Journal of Hospital Infection*, 60:1-7, 2005.
- [39] Bueno-Ferrer, C., Garrigós, M.C., Jiménez, A., Characterization and thermal stability of poly(vinyl chloride) plasticized with epoxidized soybean oil for food packaging, 2010.
- [40] Appendini, P., Hotchkiss, J.H., Review of antimicrobial food packaging. *Innov Food Sci Emerg Technol* 3(2):113–26, 2002.
- [41] Clement, J.L., Jarrett, P.S., Antibacterial silver, *Met Based Drugs*, 1:467-482, 1994.
- [42] Anastas, P.T., Warner, J.C., Green Chemistry: Theory and Practice. New York: Oxford University Press, Inc, 1998.
- [43] Baysal, B., “Escherichia coli”, Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, A.Tevfik Cengiz (editör), Güneş Kitabevi, sf. 453-459, Ankara, 2004.
- [44] Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoilova, I., Stoyanova, A., Krastanov, A., Schmidt, E, Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *J. Agric. Food Chem*, 54, 6303–6307, 2006.
- [45] Mustapha, A., Ariyapitipun, T., Clarke, A.D., Survival of Escherichia coli O157:H7 on vacuum packaged raw beef treated with polylactic acid, lactic acid, and nisin. *J Food Sci* 67(1):262, 2002.
- [46] Lok, C.N., Ho, C.M., Chen, R., He, Q.Y., Yu, W.Y., Sun, H., Tam, P.K.H., Chgu, J.F., Che, C.M., Silver nanoparticles: Partial oxidation and antibacterial activities, *J Biol İnorg Chem*, 12:527-534, 2007.

- [47] Efstratiou, E., Hussain, A.I., Nigam, P.S., Moor, J.E., Ayub, M.A., & Rao, J.R., Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complement Ther Clin Pract.* 18:173-6, 2012.
- [48] Christe, P., Opplinger, A., Bancala, F., Castella, G., Chapuisat, M., Evidence for collective medication in ants. *Ecology Letters*, 6, 19-22, 2003.
- [49] Sipponen, A., Jokinen, J.J., Lohi, J., Resin salve from the Norwegian spruce tree: a “novel” method for the treatment of chronic wounds. *J Wound Care* 16:72–74, 2007.
- [50] Martins, F.S., Conceição, E.C., Bandeira, E.S., Silva Junior, J.O., & Costa, R.M., The effects of extraction method on recovery rutin from *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). *Pharmacogn Mag.* 10:S569-73, 2014.
- [51] Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M., Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends Food Sci. Tech.* 19, 634e643, 2008.
- [52] West, P.R., Ishii, S., Naik, G.V., Emani, N.K., Shalaev, V.M., Boltasseva, A., Searching for better plasmonic materials. *Laser Photonics Res*, 4, 795–808, 2010.
- [53] Borgmann-Strahsen, R., “Microbiocides for PVC and other polymers”, *Industrial biocides selection and application*, D. R. Karsa, David Ashworth(eds), Royal Society of Chemistry, pp. 103-107, Cambridge, 2002.
- [54] Wilson, W.R., Sande, M.A., *Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi*, Ismail H.Dündar (editör) , Nobel Tıp Kitabevi, sf. 475-556, İstanbul, 2004.
- [55] Raghavan, D., Emekalam, A., Characterization of starch/polyethylene and starch/polyethylene/poly(lactic acid) composites. *Polym Degrad Stab* 72(3):509–17, 2001.
- [56] Averous, L., Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: A review, *Journal of Macromolecular Science*, C44(3): 231-274, 2000.
- [57] Baker, C., Pradhan, A., Pakstis, L., Pochan, D.J., Shaha, S.I., Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 5(2):244-249, 2005.
- [58] Zhong, Y., Godwin, P., Jin, Y., & Xiao, H., Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 3(1), 27–35, 2020.
- [59] Bilgehan, H., *Klinik Mikrobiyoloji: Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, sf. 4-206, İzmir, 83, 1992.

- [60] Ali Esmail, A.S., The chemical constituents and pharmacological effects of *calendula officinalis* – A review , Indian Journal of Pharmaceutical Science & Research, 5, 3, 172185, 2015.
- [61] Janne, J., Jokinen¹., Arno Sipponen, Refined Spruce Resin to Treat Chronic Wounds: Rebirth of an Old Folkloristic Therapy, Advances in wound care, volume 5, number 5, 199-207, doi: 10.1089/wound.2013.0492, 2013.
- [62] Javidi, Z., Hosseini, S.F., Rezaei, M., Development of flexible bactericidal films based on poly (lactic acid) and essential oil and its effectiveness to reduce microbial growth of refrigerated rainbow trout. LWT Food Sci Tech 72:251–260, 2016.
- [63] Pluta, M., Galeski, A., Crystalline and supermolecular structure of polylactide in relation to the crystallization method. J App Polym Sci 86:1386–1395, 2002.
- [64] Özgür, S.M., Misra, M., Mohanty, A., Synergistic improvements in the impact strength and % elongation of polyhydroxybutyrate-co-valerate copolymers with functionalized soybean oils and POSS. International journal of plastics technology 14(1):1-16. [https:// doi. org/ 10. 1007/ s12588- 010- 0005-3](https://doi.org/10.1007/s12588-010-0005-3), 2010.
- [65] Omelczuk, M.O., McGinity, J.W., The influence of polymer glass transition temperature and molecular weight on drug release from tablets containing poly (DLlactic acid). Pharmaceutical research 9:26–32. [https:// doi. org/ 10. 1023/A: 10189 67424 392](https://doi.org/10.1023/A:1018967424392), 1992.
- [66] Roberts, R.J., Rowe, R.C., The Young's modulus of pharmaceutical materials. International journal of pharmaceutics 37(1-2):15–18. [https:// doi. org/ 10. 1016/ 0378- 5173\(87\) 90004-4](https://doi.org/10.1016/0378-5173(87)90004-4), 1987
- [67] Chieng, B., Ibrahim, N., Then, Y., Loo, Y., Epoxidized vegetable oils plasticized poly (lactic acid) biocomposites: mechanical, thermal and morphology properties. Molecules 19(10):16024–16038, 2014.
- [68] Shojaei-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M.A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S.M.S.M., Hosseini, S.M.S.M., Khaksar, R., Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. Int J Biol Macromol 52:116–124, 2013.
- [69] Yasir, A. A., Jasim, A., Mohammed, E., & Mehrajfatimah, M., Polylactide/graphene oxide nanosheets/clove essential oil composite films for potential food packaging applications, International Journal of Biological Macromolecules, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.156>, 2017.
- [70] Ahmed, J., Mulla, M., Jacob, H.H., Luciano, G., Bini, T., Almusallam, A., Polylactide/poly (ϵ -caprolactone)/zinc oxide/clove essential oil composite antimicrobial films for scrambled egg packaging. Food Packag Shelf Life 21:100355, 2019.

- [71] Mojtaba, H.M., Babak, G., Mostafa, S.N., Anna Abdolshahi, Somayeh Dahmardeh, Maedeh Malek Mohammadi. Poly(lactic acid)-based bionanocomposites: effects of ZnO nanoparticles and essential oils on physicochemical properties, *Polymer Bulletin* volume 79, 2022, 97-119, 2022.
- [72] Rhim, J.W., Mohanty, A.K., Singh, S.P., Ng, P., Effect of the processing methods on the performance of polylactide films: thermocompression versus solvent casting. *J Polym Sci* 101(6):3736–3742, 2006.
- [73] Soderberg, T.A., Johansson, A., Gref, R., Toxic effects of some conifer resin acids and tea tree oil on human epithelial and fibroblast cells. *Toxicology*. 107:99– 109, 1996.
- [74] Yahyaoui, M., Gordobil, O., Herrera Díaz, R., Abderrabba, M., Labidi, J., Development of novel antimicrobial films based on poly(lactic acid) and essential oils, *React. Funct. Polym.* 109 1–8, 2016.
- [75] Ke, T., Sun, X., Melting behavior and crystallization kinetics of starch and poly(lactic acid) composites. *J Appl Polym Sci* 89(5):1203–10, 2003.
- [76] Panacek, A., Kvitek, L., Pucek, R., Kolar, M., Vecerova , R., Pizurova, N., Sharma, V.K., Nevecna, T., Zboril, R., Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity, *J Phys Chem B*, 110:16248-16253, 2006.
- [77] Suyatma, N.E., Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan and poly(lactic acid) blends. *J Polym Environ* 12(1):1–6, 2004.
- [78] Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M., Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends Food Sci. Tech.* 19, 634e643, 2008.
- [79] Torres-Giner, S., Ocio, M.J., Lagaron, J.M., Development of active antimicrobial fiber-based chitosan polysaccharide nanostructures using electrospinning. *Eng Life Sci* 8(3):303–14, 2008.
- [80] Tari, O., Aronne, A., Addonizio, M.L., Daliento, S., Fanelli, E., Pernice, P., Sol–gel synthesis of ZnO transparent and conductive films: a critical approach, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* 105 179–186, 2012.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Fidan ZAIĐOVA

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Analitik Kimya	Devam ediyor
Lisans	Bakü Devlet Üniversitesi / Kimya Fakültesi / Kimya	2019
Lise	Azerbaycan, Barda	2015

YABANCI DİL

İngilizce

Türkçe