

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**BİTKİSEL EKSTRAKTLI NANOLİFLERİN ELEKTRO-
EĞİRME YÖNTEMİ İLE ÜRETİMİ VE SOSİS
KAPLAMADA KULLANIMI**

DOKTORA TEZİ

ÖZLEM ZAMBAK

DENİZLİ, MART - 2023

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**BİTKİSEL EKSTRAKTLI NANOLİFLERİN ELEKTRO-
EĞİRME YÖNTEMİ İLE ÜRETİMİ VE SOSİS
KAPLAMADA KULLANIMI**

DOKTORA TEZİ

ÖZLEM ZAMBAK

DENİZLİ, MART - 2023

Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2019FEBE048 nolu proje ile desteklenmiştir.

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

ÖZLEM ZAMBAK

ÖZET

BİTKİSEL EKSTRAKTLI NANOLİFLERİN ELEKTRO-EĞİRME YÖNTEMİ İLE ÜRETİMİ VE SOSİS KAPLAMADA KULLANIMI

DOKTORA TEZİ
ÖZLEM ZAMBAK

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SAMİ GÖKHAN ÖZKAL)

DENİZLİ, MART - 2023

Bu çalışmanın ilk aşamasında elektro-eğirme yöntemiyle polimerin %5 (w/w)'i oranında karanfil ekstraktı ve çörekotu atığı ekstraktı ilaveli pullulan ve pullulan/peynir altı suyu proteini nanolifleri farklı çalışma koşullarında (voltaj, iğne ucu-toplayıcı mesafesi, akış hızı) elde edilmiştir. Elde edilen nanoliflerin çapları 168-600 nm arasında değişmektedir. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), X-Işını Kırınımı (XRD) ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) sonuçları, elde edilen nanolifler ile karanfil ekstraktı ve çörekotu atığı ekstraktı arasında uyumlu bir etkileşim olduğunu göstermiştir. Nanoliflerin fenolik madde içeriği 0,62-48,05 mg GAE/g km ve antioksidan aktivitesi (DPPH) 274-4174 µmol TE/g km arasında değişmektedir. Elde edilen nanoliflerden bazıları *S. aureus*, *M. luteus* ve *C. albicans* 'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise ilk aşamada kullanılan koşullardan dördü seçilerek polimerin %30 (w/w)'u oranında karanfil ekstraktı ve çörekotu atığı ekstraktı ilaveli pullulan ve pullulan/peynir altı suyu proteini nanolifleri elde edilmiştir. Liflerin fenolik madde içeriği 26,17-167,02 mg GAE/g km ve antioksidan aktivitesi 1905-17165 µmol TE/g km aralığında saptanmıştır. Karanfil ekstraktı içeren pullulan nanolifi *S. aureus*, *M. luteus*, *E. coli*, *C. albicans* ve *A. flavus* 'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, aynı oranda çörekotu atığı ekstraktı içeren pullulan nanolifi *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Çalışmanın üçüncü aşamasında ise ikinci aşamada üretilen nanoliflerden kesiksiz üretilen, antibakteriyal aktivitesi, antioksidan aktivitesi yüksek olan ve homojen morfolojiye sahip olan ikisi seçilip sosis örneklerini kaplamada kullanılmıştır. Ekstrakt ilaveli nanolifler ile kaplanan sosis örneklerinin pH'si depolama boyunca kontrol grubunun pH'sine göre daha yavaş artmıştır. Ekstrakt ilaveli nanolifler ile kaplanan sosis örneklerinin L* (parlaklık) renk değerleri, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Ekstrakt ilaveli nanolifler ile kaplanan sosis örneklerinin a* değeri depolama süresince azalmış fakat bu azalma kontrol grubuna göre daha yavaş gerçekleşmiştir. Karanfil ekstraktı ve çörekotu atığı ekstraktı içeren nanolifler ile kaplanan sosis örnekleri, kontrol grubuna göre TBARS değerini sırasıyla %20 ve %17 oranında, *E. coli* sayısını sırasıyla 1,98 ve 1,01 log düzeyinde ve *L. monocytogenes* sayısını ise sırasıyla 1,33 ve 0,87 log düzeyinde azaltmıştır.

ANAHTAR KELİMELELER: Karanfil, çörekotu atığı, pullulan, peynir altı suyu proteini, nanolif, elektro-eğirme

ABSTRACT

PRODUCTION OF NANOFIBERS WITH PLANT EXTRACT VIA ELECTROSPINNING METHOD AND USE FOR SAUSAGE COATING

PhD THESIS

ÖZLEM ZAMBAK

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

FOOD ENGINEERING

(SUPERVISOR: PROF. DR. SAMİ GÖKHAN ÖZKAL)

DENİZLİ, MARCH 2023

In the first stage of this study, pullulan and pullulan/whey protein nanofibers containing 5% (w/w) clove extract and black cumin waste extract were obtained by electrospinning method. The diameters of the obtained nanofibers ranged from 168 to 600 nm. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), X-ray Diffraction (XRD) and Differential Scanning Calorimetry (DSC) results showed a close interaction between the obtained nanofibers and clove and black cumin waste extract. The phenolic content of the nanofibers varied between 0.62-48.05 mg GAE/g km and the antioxidant activity varied between 274-4174 $\mu\text{mol TE/g km}$. Some of the obtained nanofibers show antimicrobial activity against *S. aureus*, *M. luteus* and *C. albicans*.

In the second stage of the study, four of the conditions used in the first stage were selected, and 30% (w/w) clove and black cumin waste extract containing pullulan and pullulan/whey protein nanofibers were obtained under these conditions. The phenolic content of the fibers obtained varied between 26.17-167.02 mg GAE/g km and the antioxidant activity varies between 1905-17165 $\mu\text{mol TE/g km}$. Pullulan nanofiber containing clove extract showed antimicrobial activity against *S. aureus*, *M. luteus*, *E. coli*, *C. albicans* and *A. flavus*, while pullulan nanofiber containing black cumin waste extract at the same ratio showed antimicrobial activity against *S. aureus*, and *E. coli* bacteria.

In the third stage of the study, two of the nanofibers produced in the second stage, which are produced continuously, with high antibacterial activity, antioxidant activity and homogeneous morphology, were selected and used in coating the sausage samples. The pH of the sausage samples coated with extract-added nanofibers increased more slowly than the pH of the control group. The L^* (brightness) colour values of the sausage samples coated with extract-added nanofibers were higher than the control group. The a^* value of sausage samples coated with extract-added nanofibers decreased during the storage, but this decrease occurred more slowly than the control group. Sausage samples coated with nanofibers containing clove extract and black cumin waste extract decreased the TBARS value by 20% and 17%, the count of *E. coli* by 1.98 and 1.01 log, and the count of *L. monocytogenes* by 1.33 and 0.87 log, respectively, compared to the control group.

KEYWORDS: Clove, black cumin waste, pullulan, whey protein isolate, nanofiber electrospinning

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	viii
SEMBOL LİSTESİ	ix
ÖNSÖZ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Nanoteknoloji	3
1.2 Nanolif Üretiminde Kullanılan Yöntemler.....	4
1.2.1 Fibrilasyon ile Nanolif Üretim Yöntemi.....	5
1.2.2 Eriyikten Nanolif Üretim Yöntemi	5
1.2.3 Çift Bileşenli Nanolif Üretim Yöntemi	6
1.2.4 Elektro-Eğirme İşlemi ile Nanolif Üretimi	6
1.2.5 Elektro-Eğirme İşlemini Etkileyen Faktörler	8
1.2.5.1 Çözeltinin Özellikleri	8
1.2.5.1.1 Viskozite	8
1.2.5.1.2 Konsantrasyon	8
1.2.5.1.3 Moleküler Ağırlık	9
1.2.5.1.4 Yüzey Gerilimi	9
1.2.5.1.5 Elektriksel İletkenlik.....	10
1.2.5.2 İşlem Parametreleri	10
1.2.5.2.1 İğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe.....	10
1.2.5.2.2 Voltaj	10
1.2.5.2.3 Çözelti debisi	11
1.2.5.3 Çevresel Faktörler	11
1.3 Pullulan.....	12
1.4 Peynir Altı Suyu Proteini	13
1.5 Karanfil.....	14
1.6 Çörekotu	14
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI.....	16
3. MALZEME VE YÖNTEM	22
3.1 MALZEMELER.....	22
3.2 YÖNTEM	22
3.2.1 Bitkisel Ekstraktların Hazırlanması	22
3.2.2 Bitkisel Ekstrakt İçeren Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması.....	23
3.2.3 Polimer Çözeltilerinin Özellikleri.....	24
3.2.3.1 Reolojik Özellikler	24
3.2.3.2 Elektriksel İletkenlik	24
3.2.4 Elektro-eğirme İşlemiyle Nanoliflerin Üretilmesi	25
3.2.4.1 Nanoliflerin Karakterizasyonu	25
3.2.5 Morfoloji Analizi	26
3.2.6 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi.....	28
3.2.7 X- Işını Kırınım Analizi.....	28
3.2.8 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Analizi	28

3.2.9	Toplam Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	29
3.2.10	Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	30
3.2.11	Sosis Örneklerinin Nanolifler ile Kaplanması	31
3.2.11.1	Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin pH Değeri	32
3.2.11.2	Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin Renk Ölçümleri	32
3.2.11.3	Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin TBARS Değerinin Belirlenmesi	33
3.2.11.4	Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin Mikrobiyolojik Kalitesinin Tespiti	33
3.2.12	İstatistiksel Analiz	34
4.	BULGULAR	35
4.1	Polimerin Ağırlıkça %5'i Oranında Bitkisel Ekstrakt İçeren Polimer Çözeltilere ve Nanoliflere Ait Bulgular	35
4.1.1	Polimer Çözeltilerinin Özellikleri	35
4.1.2	Nanoliflerin Morfolojisi	37
4.1.3	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi	44
4.1.4	X-Işını Kırınım Analizi Sonuçları	48
4.1.5	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Analizi Sonuçları	51
4.1.6	Nanoliflerin Toplam Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Aktivitesi	54
4.1.7	Nanoliflerin Antimikrobiyal Aktivitesi	59
4.2	Polimerin Ağırlıkça %30'u Oranında Bitkisel Ekstrakt İçeren Polimer Çözeltilere ve Nanoliflere Ait Bulgular	73
4.2.1	Polimer Çözeltilerinin Özellikleri	73
4.2.2	Nanoliflerin Morfolojisi	75
4.2.3	Nanoliflerin Toplam Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Aktivitesi	78
4.2.4	Nanoliflerin Antimikrobiyal Aktivitesi	80
4.3	Sosis Örneklerinin Nanolifler ile Kaplanması	89
4.3.1	Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin pH Değerleri	89
4.3.2	Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin TBARS Değerleri	90
4.3.3	Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin Renk Değerleri	92
4.3.4	Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin Mikrobiyolojik Kalitesi	95
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	99
6.	KAYNAKLAR	102
7.	EKLER	121
	EK A Nanolif Üretimi Deneme Koşulları	121
8.	ÖZGEÇMİŞ	124

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Elektro-eğirme düzeneğinde voltajın kademeli olarak artışıyla Taylor konisinin jete dönüşmesi a: Yarım küre şeklindeki damla, b,c: Artan voltaj değerleri ile yarım kürenin büyümesi, d: Taylor konisi, e: Jet oluşumu, f: Kararlı jet oluşumu (Larrondo ve Manley 1981)	7
Şekil 1.2: Pullulanın kimyasal yapısı (Ferreira ve diğ. 2015)	13
Şekil 3.1: Öğütülmüş karanfil (a) ve öğütülmüş çörekotu atığına (b) ait görseller.....	23
Şekil 3.2: Laboratuvar ölçekli elektro-eğirme ünitesi	25
Şekil 3.3: Sosis örneklerinin nanolifler ile kaplanmasını gösteren görseller... 32	
Şekil 4.1: Karanfil ekstraktı içeren bazı nanoliflerin ortalama lif çapı ile FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları a: PN 15 b: KE PN 15 c: P/WN 15 d: KE P/WN 15 e: P/WN 25 15 f: KE P/WN 25 15	38
Şekil 4.2: Karanfil ekstraktı içeren bazı nanoliflerin ortalama lif çapı ile FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları a: PN 20 b: KE PN 20 c: P/WN 20 d: KE P/WN 20 e: P/WN 25 20 f: KE P/WN 25 20	40
Şekil 4.3: Çörekotu atığı ekstraktı içeren bazı nanoliflerin ortalama lif çapı ile FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları a: PN 15 b: ÇAE PN 15 c: P/WN 15 d: ÇAE P/WN 15 e: P/WN 25 15 f: ÇAE P/WN 25 15	42
Şekil 4.4: Çörekotu atığı ekstraktı içeren bazı nanoliflerin ortalama lif çapı ile FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları a: PN 20 b: ÇAE PN 20 c: P/WN 20 d: ÇAE P/WN 20 e: P/WN 25 20 f: ÇAE P/WN 25 20	43
Şekil 4.5: Pullulan, peynir altı suyu, karanfil ekstraktı ve PN 15, KE PN 15, P/WN 15, KE P/WN 15, P/WN 25 15, KE P/WN 25 15 nanoliflerine ait FTIR spektrumları	44
Şekil 4.6: Pullulan, peynir altı suyu, karanfil ekstraktı ve PN 20, KE PN 20, P/WN 20, KE P/WN 20, P/WN 25 20, KE P/WN 25 20 nanoliflerine ait FTIR spektrumları	45
Şekil 4.7: Pullulan, peynir altı suyu, çörekotu atığı ekstraktı ve PN 15, ÇAE PN 15, P/WN 15, ÇAE P/WN 15, P/WN 25 15, ÇAE P/WN 25 15 nanoliflerine ait FTIR spektrumları.....	46
Şekil 4.8: Pullulan, peynir altı suyu, çörekotu atığı ekstraktı ve PN 20, ÇAE PN 20, P/WN 20, ÇAE P/WN 20, P/WN 25 20, ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerine ait FTIR spektrumları	47
Şekil 4.9: Pullulan, peynir altı suyu proteini (PASP) ve karanfil ekstraktına (KE) ait X-ışını kırınım grafiği.....	48
Şekil 4.10: Pullulan, peynir altı suyu proteini (PASP) ve çörekotu atığı ekstraktına (ÇAE) ait X-ışını kırınım grafiği.....	49
Şekil 4.11: PN 15, KE PN 15, ÇAE PN 15, P/WN 15, KE P/WN 15, ÇAE P/WN 15, P/WN 25 15, KE P/WN 25 15, ÇAE P/WN 25 15 nanoliflerine ait X-ışını kırınım grafiği	50

Şekil 4.12: PN 20, KE PN 20, ÇAE PN 20, P/WN 20, KE P/WN 20, ÇAE P/WN 20, P/WN 25 20, KE P/WN 25 20, ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerine ait X-ışını kırınım grafiği.....	51
Şekil 4.13: Pullulan, peyniraltı suyu proteini ve karanfil ekstraktı içeren nanoliflerin DSC grafiği.....	52
Şekil 4.14: Pullulan, peyniraltı suyu proteini ve çörekotu atığı ekstraktı içeren nanoliflerin DSC grafiği.....	54
Şekil 4.15: a: PN 15, b: PN 20, c: KE PN 15, d: KE PN 20, e: ÇAE PN 15, f: ÇAE PN 20 nanoliflerinin <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	61
Şekil 4.16: a: P/WN 15, b: P/WN 20, c: KE P/WN 15, d: KE P/WN 20, e: ÇAE P/WN 15, f: ÇAE P/WN 20 nanoliflerinin <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	62
Şekil 4.17: a: P/WN 25 15, b: P/WN 25 20, c: KE P/WN 25 15, d: KE P/WN 25 20, e: ÇAE P/WN 25 15, f: ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerinin <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	63
Şekil 4.18: Pozitif kontrol (eritromisin (10mg/mL)) örneğinin <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	64
Şekil 4.19: a: PN 15, b: PN 20, c: KE PN 15, d: KE PN 20, e: ÇAE PN 15, f: ÇAE PN 20 nanoliflerinin <i>M. luteus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	65
Şekil 4.20: a: P/WN 15, b: P/WN 20, c: KE P/WN 15, d: KE P/WN 20, e: ÇAE P/WN 15, f: ÇAE P/WN 20 nanoliflerinin <i>M. luteus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	66
Şekil 4.21: a: P/WN 25 15, b: P/WN 25 20, c: KE P/WN 25 15, d: KE P/WN 25 20, e: ÇAE P/WN 25 15, f: ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerinin <i>M. luteus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	67
Şekil 4.22: Pozitif kontrol (eritromisin (10mg/mL)) örneğinin <i>M. luteus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	68
Şekil 4.23: a: PN 15, b: PN 20, c: KE PN 15, d: KE PN 20, e: ÇAE PN 15, f: ÇAE PN 20 nanoliflerinin <i>C. albicans</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	69
Şekil 4.24: a: P/WN 15, b: P/WN 20, c: KE P/WN 15, d: KE P/WN 20, e: ÇAE P/WN 15, f: ÇAE P/WN 20 nanoliflerinin <i>C. albicans</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	70
Şekil 4.25: a: P/WN 25 15, b: P/WN 25 20, c: KE P/WN 25 15, d: KE P/WN 25 20, e: ÇAE P/WN 25 15, f: ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerinin <i>C. albicans</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	71
Şekil 4.26: Pozitif kontrol (siklohegzimit (6mg/mL)) örneğinin <i>C. albicans</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	72
Şekil 4.27: Polimerin %30 (w/w)'u oranında bitkisel ekstrakt içeren bazı nanoliflerin ortalama lif çapı ile FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları; a: ÇAE PN 15 30 b: KE PN 15 30 c: ÇAE P/WN 15 30 d: KE P/WN 20 30.....	77
Şekil 4.28: a: Pozitif kontrol (eritromisin (10 mg/mL)), b: Çörekotu atığı ekstraktı c: Karanfil ekstraktı, d: PN 15 e: ÇAE PN 1530, f: KE PN 1530 g: P/WN 15	

	h: ÇAE P/WN 1530, ı: KE P/WN 1530 nanoliflerinin <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	82
Şekil 4.29:	a: Pozitif kontrol (eritromisin (10 mg/mL)), b: Çörekotu atığı ekstraktı c: Karanfil ekstraktı, d: PN 15 e: ÇAE PN 1530, f: KE PN 1530 g: P/WN 15 h: ÇAE P/WN 1530, ı: KE P/WN 1530 nanoliflerinin <i>M. luteus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	83
Şekil 4.30:	a: Pozitif kontrol (eritromisin (10 mg/mL)), b: Çörekotu atığı ekstraktı c: Karanfil ekstraktı d: PN 15 e: ÇAE PN 1530, f: KE PN 1530 g: P/WN 15 h: ÇAE P/WN 1530, ı: KE P/WN 1530 nanoliflerinin <i>E. coli</i> 'ye karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	84
Şekil 4.31:	a: Pozitif kontrol (siklohegzimit (6 mg/mL), b: Çörekotu atığı ekstraktı c: Karanfil ekstraktı, d: PN 15 e: ÇAE PN 1530, f: KE PN 1530 g: P/WN 15 h: ÇAE P/WN 1530, ı: KE P/WN 1530 nanoliflerinin <i>C. albicans</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	86
Şekil 4.32:	a: Pozitif kontrol (eritromisin (10 mg/mL)), b: Çörekotu atığı ekstraktı c: Karanfil ekstraktı, d: PN 15 e: ÇAE PN 1530, f: KE PN 1530 g: P/WN 15 h: ÇAE P/WN 1530, ı: KE P/WN 1530 nanoliflerinin <i>A. flavus</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	88

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1: Pullulan-peynir altı suyu proteini izolatu çözeltilerinden nanolif eldesi için belirlenen proses koşulları	27
Tablo 3.2: Polimerin %30 (w/w)'u oranında ekstrakt içeren nanoliflere ait üretim koşulları	31
Tablo 4.1: Polimer çözeltisi ve nanoliflerin özellikleri.....	36
Tablo 4.2: Polimer çözelti ve nanoliflerin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi.....	56
Tablo 4.3: Nanoliflerin <i>S. aureus</i> , <i>M. luteus</i> , <i>C. albicans</i> mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alan çapları (mm).....	60
Tablo 4.4: Polimer Çözeltisi ve Nanoliflerin Özellikleri	74
Tablo 4.5: Polimer çözelti ve nanoliflerin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi.....	78
Tablo 4.6: Bitkisel ekstrakt ve nanoliflerin <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>M. luteus</i> , <i>C. albicans</i> ve <i>A. flavus</i> mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alan çapları (mm)	81
Tablo 4.7: 4 °C'de 10 gün boyunca depolanan sosislerin pH ve TBARS değerindeki değişimler	91
Tablo 4.8: 4 °C'de 10 gün boyunca depolanan sosislerin CIELAB renk değerindeki değişimler	94
Tablo 4.9: 4 °C'de 10 gün boyunca depolanan sosislerin <i>E.coli</i> ve <i>L.monocytogenes</i> sayısındaki değişimler	97
Tablo 7.1: Pullulan polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları.....	121
Tablo 7.2: %5 (w/w) oranında karanfil ekstraktı içeren pullulan polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları	121
Tablo 7.3: %5 (w/w) oranında çörek otu atığı ekstraktı içeren pullulan polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları.....	121
Tablo 7.4: Pullulan:peynir altı suyu proteini (50:50 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları	122
Tablo 7.5: %5 (w/w) oranında karanfil ekstraktı içeren pullulan:peynir altı suyu proteini (50:50 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları	122
Tablo 7.6: %5 (w/w) oranında çörek otu atığı ekstraktı içeren pullulan: peynir altı suyu proteini (50:50 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları	122
Tablo 7.7: Pullulan:peynir altı suyu proteini (25:75 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları	123
Tablo 7.8: %5 (w/w) oranında karanfil ekstraktı içeren pullulan:peynir altı suyu proteini (25:75 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları	123
Tablo 7.9: %5 (w/w) oranında çörek otu atığı ekstraktı içeren pullulan: peynir altı suyu proteini (25:75 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları	123

SEMBOL LİSTESİ

Semboller ve Kısaltmalar

L*: Parlaklık değeri

a*: Kırmızılık değeri

b*: Sarılık değeri

GAE: Gallik asit eşdeğeri

TE: Troloks eşdeğeri

MAD: Malonaldehit

DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

T: Sıcaklık (°C)

RH: Bağlı nem (%)

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübesiyle her türlü desteği benden esirgemeyen yol göstericim olan değerli hocam Prof. Dr. Sami Gökhan ÖZKAL'a, çalışmamın ilk anından itibaren hem çalışmamla ilgili hem de sosyal olarak desteğini hep yanımda hissettiğim Dr. Öğretim Üyesi Ayşe ÖZKAL'a, tez izleme komitesi toplantılarında her seferinde beni aydınlatan hocalarım Prof. Dr. Yusuf YILMAZ ve Prof. Dr. Ömer ŞİMŞEK'e teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında laboratuvar imkanlarından faydalandığım Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na, ihtiyaç duyduğum her anda desteğini esirgemeyen başta bölüm başkanımız Prof. Dr. Yahya TÜLEK olmak üzere tüm bölüm hocalarımıza teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında verdikleri destekten dolayı, arkadaşlarım Ar. Gör. Dr. Aysun YURDUNUSEVEN YILDIZ, Ar. Gör. Duygu ZEHİR ŞENTÜRK ve Ar. Gör. Ufuk Gökçe AYRANCI, Ar. Gör. Ayşe BIYIKLI, Yüksek Gıda Müh. Ramazan NİÇİN ve Gıda Mühendisi Berna GÜNGÖRDÜ'ye, bu zamana kadar beni hep destekleyen, bugüne gelmem için pek çok fedakarlık gösteren annem Hanife ZAMBAK'a ve abim Ender ZAMBAK'a teşekkür ederim.

Özlem ZAMBAK

Yüksek Gıda Mühendisi

Babama...

1. GİRİŞ

Son yıllarda, günlük diyet yoluyla sağlığın iyileştirilmesi veya hastalıkların önlenmesine yönelik artan talepler nedeniyle, polifenoller, vitaminler, mineraller, omega-3-yağ asitleri, biyoaktif proteinler veya peptitler, probiyotikler gibi biyoaktif bileşenlerin eczacılık, gıda takviyesi ve fonksiyonel gıda alanlarındaki potansiyel uygulamaları hızla artmaktadır (Wen ve diğ. 2017). Biyoaktif bileşenlere olan bu ilgi, yeni teknolojilerin geliştirilmesini ve bu maddelerin özelliklerini ve potansiyel uygulamalarını geliştirmeye yönelik ilerici araştırma çabalarını doğurmaktadır (Dordevic ve diğ. 2015).

Bitki ekstraktı bileşenleri, bitkiler tarafından normal gelişimleri sırasında veya mikroorganizmaların, böceklerin veya olumsuz çevre koşullarının saldırısına bağlı stres koşullarına karşı bir savunma mekanizması olarak üretilen ikincil metabolitlerdir. Bu metabolitler arasında fenolik bileşikler, flavonoidler, fitosteroller, tokoller, terpenoidler, alkaloidler, saponinler, tanenler, aromatik asitler, glukozinolatlar, karotenoidler, uçucu yağlar, klorofil ve organik asitler ile proteaz inhibitörleri bulunmaktadır (Makhuvele ve diğ. 2020). Bitki ekstraktı bileşiklerinin gıda endüstrisinde uygulanması, yüksek uçuculukları, suda düşük çözünürlükleri ve hava, sıcaklık, ışık, pH, nem gibi faktörlere karşı az kararlı olmaları nedeniyle belirli sınırlamalar göstermektedir. Bu bileşenlerin farklı yöntemlerle enkapsülasyonu, sahip oldukları bu dezavantajların üstesinden gelmek için kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu bağlamda enkapsülasyon bir aktif maddenin veya bileşiğin özelliklerini uzun süreli muhafazasına yardımcı olan, duvar malzemesi olarak ifade edilen başka bir maddenin içine hapsedildiği fizikokimyasal bir işlemdir (Muñoz-Shugulı ve diğ. 2021).

Nanoteknolojideki gelişmeler ve bileşenlerin kendiliğinden bir araya gelme davranışının kontrol edilebilirliğine bağlı olarak biyoaktif maddelerin taşınmasına ilişkin yeni bilgiler elde edilebilmekte ve bunların sonucunda yeni nesil kapsüllenmiş biyoaktif maddelerin üretilmesinin imkanı oluşabilmektedir (López-Rubio ve Lagaron 2012). Biyoaktif bileşiklerin ve probiyotik bakterilerin enkapsüle edilmesi, üst

gastrointestinal sistemden geçerken canlılıklarını muhafaza etmek adına gıda teknolojisi açısından önemli bir araştırma konusu haline gelmektedir. Kapsüllenmiş içerik maddeleri, mide-bağırsak (GI) sistemi yolculuğu boyunca hayatta kalacak ve böylelikle yararlı etkiyi en üst düzeye muhafaza etmesi sağlanabilecektir. Enkapsülasyon işlemi ile gıdanın duyuşal niteliklerini etkilemeden matris boyutu azaltılabilmektedir. Daha da önemlisi, matris boyutunu mikrometreden nanometreye düşürerek, taşıma özellikleri daha etkili yeni malzemeler üretilebilmektedir (Ghorani ve Tuckher 2015).

Son zamanlarda mikron alt ölçekten nanometre ölçğine kadar değişen boyutlarda liflerin üretilmesi için elektrostatik potansiyelin kullanımı oldukça dikkat çekmeye başlamıştır. Bu yöntemin esası eski zamanlarda elektrostatik spreyleme olarak ifade edilen yöntemeye dayanmaktadır. 1902 yılında patentlenen bu yöntem 1990’larda unutulmaya başlanmıştır. Nanobilim ve nanoteknolojinin yayılmasıyla birlikte araştırmacılar yeniden nanoliflerin üretilebileceği yüksek voltajlı teknikler geliştirmeye başlamışlardır (Torres-Giner ve diğ. 2008). Elektro-eğirme sistemi yüksek voltaj kaynağı, paslanmaz çelik bir iğne, bir şırınga pompası ve toplayıcıdan oluşan bir sistemdir (Oguz ve diğ. 2018). Elektro-eğirme gelecek vadeden, uygun maliyetli, basit ve çok yönlü bir nanolif üretim tekniğidir (Deng ve diğ. 2018). Elektroeğirilmiş nanolifler, geniş yüzey alanı, düzenli yüzey morfolojileri ve üstün mekanik özelliklere sahiptirler (Oguz ve diğ. 2018). Elektro-eğirme işlemi ile üretilen nanolifler tıp, farmakoloji ve gıda endüstrisinde enkapsülasyon ve paketleme amaçlı kullanılmaktadır (Faki ve diğ. 2019).

Yenilebilir film kaplama, gıda israfını önleme amacıyla kullanılabilecek en iyi çözümlerden biridir. Gıda ürünlerinin mikrobiyal kontaminasyona karşı korunmasını sağlama ve gıda ürününün raf ömrünü uzatma özelliğine sahip olan yenilebilir film kaplamalar gıda ürünlerini teknolojik açıdan geliştirmektedir. Ayrıca yenilebilir film uygulamasıyla gıdaların verimliliği artırılabilir, taşıma ve hijyen sorunları giderilebilir (Kumar 2019). Biyoyumluluk ve biyobozunurluk açısından sentetik polimerlere göre pek çok avantajı bulunan yenilebilir filmler, antimikrobiyal ve antioksidan katkıların taşıyıcısı görevini de görebilmektedirler (Ebrahimi ve diğ. 2019). Yenilebilir filmler, polisakkaritler, lipidler, proteinler ya da bunların karışımları kullanılarak üretilebilmektedir. Bu kaplamalar kaplandıkları ürünleri çeşitli atmosferik gazların,

nem ve su buharının, oksijen ve karbondioksidin, mikroorganizmaların olumsuz etkilerinden korudukları gibi gıdalardaki solunum ve oksidasyon reaksiyonlarının hızlarını da azaltmaktadırlar (Sing ve Packirisamy 2022).

Bu çalışmanın amacı; karanfil ve çörek otu atığı ekstraktı içeren pullulan ve pullulan-peynir altı suyu proteini polimerleri kullanılarak elektro-eğirme yöntemiyle nanolif üretmek ve nanoliflerin karakterizasyonunu FE-SEM görüntüleme, XRD, DSC, FTIR, antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktive yöntemleriyle gerçekleştirmek, elde edilen nanoliflerin gıda sistemlerinde kaplama materyali olarak kullanım potansiyelini test etmek amacıyla seçilen nanoliflerin kaplama malzemesi olarak sosis örneklerine uygulanması ve sosis örneklerinin kalite parametreleri üzerine kaplama materyalinin etkisini araştırmaktır.

1.1 Nanoteknoloji

Nanobilim ve nanoteknoloji malzemelerin atomik, moleküler ve makromoleküler düzeyde üretilmesi ve incelenmesidir. Aynı kimyasal yapıya sahip daha büyük bileşenlerle karşılaştırıldığında birim kütleye düşen daha büyük yüzey alanı nedeniyle biyolojik bileşenler daha aktif hale gelir (Chau ve diğ. 2007). Bu teknoloji; antijenler, reseptörler, bağışıklık sisteminin hücre altı bileşenleri ve mikroorganizmalar gibi birçok biyolojik yapı ile aynı ölçekte olan 1 ila 1000 nanometre toplam boyut aralığında bir birim olarak işlev gören nesnelerin benzersiz özelliklerinden yararlanır (Smith ve diğ. 2013). Nanomateryaller yüzey-hacim oranlarının geniş olması nedeniyle buldukları malzemelere önemli özellikler kazandırır. Kozmetik, gıda, tekstil, ilaç, elektronik, bilgisayar araç gereçleri, gibi sektörler nanomateryallerin bu özelliklerinden faydalanan sektörlerin başında gelmektedir (Hannon ve diğ. 2015).

Nanoteknoloji ile malzemeler ve cihazlar daha hızlı, daha küçük, daha güçlü, daha verimli ve çok yönlü olarak kullanılabilir. Uygulamaların daha etkili, spesifik ve esnek olması ve nanoteknoloji aracılığıyla elde edilen cihazların ve ilaçların daha özelleştirilmiş, çok yönlü ve uygun maliyetli olması beklenmektedir (Nasir 2010).

Nanoteknoloji, gıda işleme ve paketlenme de dahil olmak üzere birçok endüstride çağın devrimi olarak nitelendirilmiştir (Chau ve diğ. 2007). Yeni fonksiyonel malzemelerin geliştirilmesi, mikro ve nano ölçekli örnek işleme, ürün geliştirme ve gıda güvenliği, biyogüvenlik için yöntem ve enstrüman tasarımı gibi alanlar gıda endüstrisinde nanoteknoloji ile önemli ölçüde geliştirilebilecek alanlardır (Moraru ve diğ 2003).

Gıda uygulamaları için nanoteknoloji, 'aşağıdan yukarıya' veya 'yukarıdan aşağıya' olmak üzere iki farklı yaklaşımla uygulanabilir. Yukarıdan aşağıya yaklaşım temel olarak gıda malzemelerinin öğütme gibi fiziksel yöntemlerle işlenerek daha küçük boyutlara getirilmesidir. Yüksek su tutma kapasitesine sahip ince boyutlu buğday unu elde etmek için kullanılan kuru öğütme teknolojisi bu yaklaşıma örnek gösterilebilir. Buna karşılık, biyolojinin kendi kendine montaj ve kendi kendine organizasyon kavramları aşağıdan yukarıya gıda nanoteknolojisine ilham veren kavramlardır. Kazein miselleri veya nişastanın düzenlenmesi ve küresel proteinler ile protein kümeleri gibi kararlı yapıların oluşması, kendi kendine birleşen yapıların örnekleridir. Nanometre ölçeğinde kendi kendine yapılandırma, farklı kovalent olmayan kuvvetler arasında bir denge kurularak elde edilebilir (Sozer ve Kokini 2009).

1.2 Nanolif Üretiminde Kullanılan Yöntemler

Nanolif üretim yöntemlerini;

- Fibrilasyon yöntemi ile nanolif üretimi
- Eriyik üfleme (meltblown) yöntemi ile nanolif üretimi
- Çift bileşenli (bicomponent) yöntem ile nanolif üretimi
- Elektro-eğirme (electrospinning) yöntemi ile nanolif üretimi olmak üzere dört ana başlık altında toplamak mümkündür (Kriegel ve diğ. 2008).

1.2.1 Fibrilasyon ile Nanolif Üretim Yöntemi

Doğal selüloz demetlerinin selüloz nanoliflerine ayrışmasına fibrilasyon veya daha az yaygın bir ifadeyle defibrilasyon denir. Biyokütlenin selüloz nanoliflerine fibrilasyonu, en yaygın olarak enzimatik, kimyasal, mekanik işlem veya bunların bir kombinasyonu yoluyla elde edilmektedir (Pennells ve diğ. 2020). Fibrilasyonu gerçekleştirmek için homojenizasyon, sonikasyon ve mikro-akışkanlaştırma gibi tekrarlanan mekanik işlemler, lifler arası hidrojen bağlarını parçalamak amacıyla gereklidir. Fakat bu işlemler, ticari uygulamalar için yüksek enerji maliyeti gerektirdiğinden oldukça pahalıdır (Wang ve diğ. 2020).

1.2.2 Eriyikten Nanolif Üretim Yöntemi

Eriyikten nanolif üretimi genel olarak küçük çaplara sahip lifler üretmek için kullanılan yöntemlerden biridir. Eriyikten nanolif üretimi yönteminde teorikte 0,5 ile 30 µm arasında değişen boyutlarda, pratikte ise 2-7 µm arasında değişen boyutlarda lif üretmek mümkündür. Bu yöntemde öncelikle bir ekstrüdere beslenen polimer burada sıvı hale gelir. Daha sonra çeşitli filtrelerden geçirilerek bir pompa yardımıyla karıştırıcı bölgeye iletilir. Sonrasında yüksek basınç altında sıcak hava üflenerek metal uçtan çıkan filamentler inceltir ve hareketli bir bant üzerine dökülür. Taşıyıcı bantta uzunlamasına serilen filamentler silindirlere geçirildikten sonra lif üretimi gerçekleşir. (Kozanoğlu 2006). Bu teknikte üretilen nanolifin çapı, malzeme özelliklerinden ve işlem parametrelerinden etkilenir. Üretimi etkileyen malzeme özellikleri; polimer tipi, polimer formu (pelet, granül veya toz), moleküler ağırlık veya eriyik akış indeksi ve katkı maddesi kullanımı olarak ifade edilebilir. Nanolif çapını etkileyen işlem parametreleri ise, uçtan toplayıcıya olan mesafe, polimerin sıcaklığı ve akış hızı, havanın sıcaklığı ve akış hızı ve kalıp profili olarak ifade edilebilir (Sarbatly ve diğ. 2021).

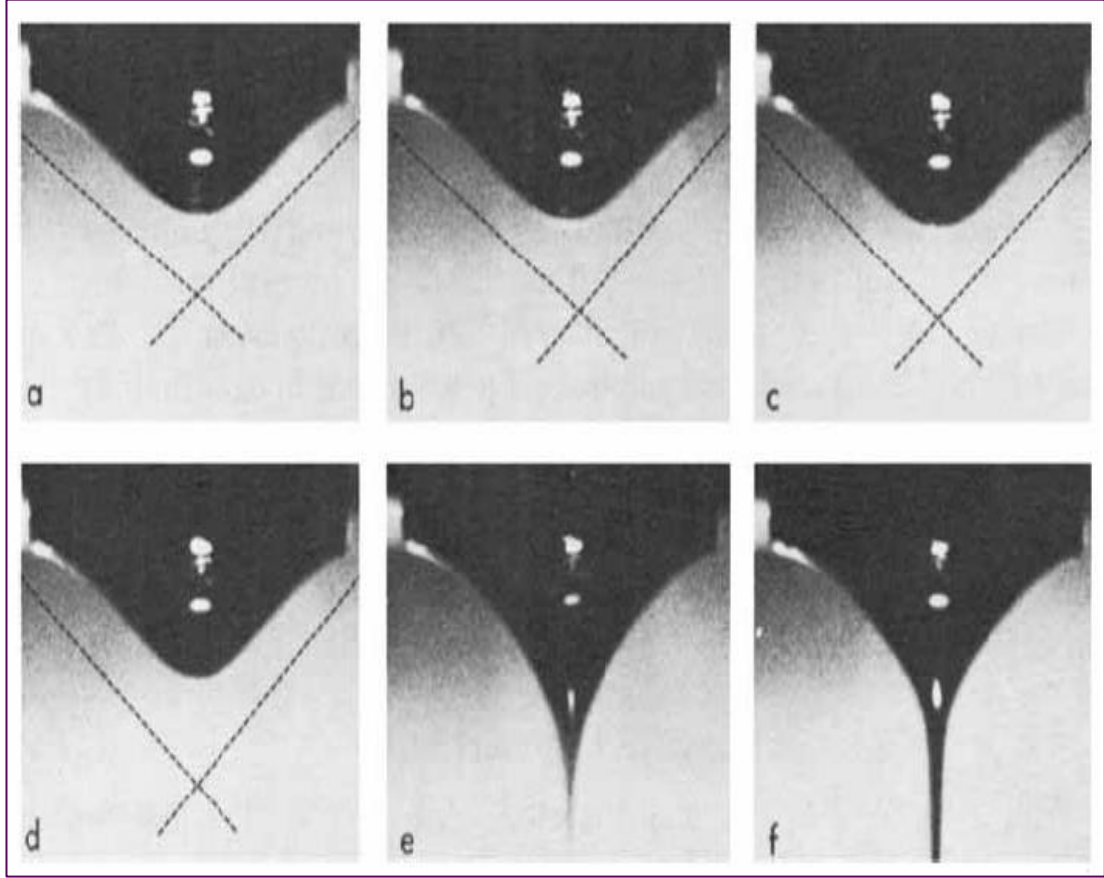
1.2.3 Çift Bileşenli Nanolif Üretim Yöntemi

Nanolif eldesinde kullanılan bir diğer yöntem ise, ayrıştırılabilen veya çözülebilen çift bileşenli liflerin üretimidir. Bu yöntemde iki eriyik/çözelti halindeki farklı polimerler, çekirdek/kabuk (veya çekirdek/kılıf), yan/yana ve denizde ada (I/S) gibi istenen konfigürasyonları oluşturmak için farklı enine kesitlerle iğne ucu çıkışında buluşur. Bu lifler, iki bileşenli liflerin üretiminde kullanılan polimerlerin yapısına bağlı olarak iletkenlik ve kendi kendine kıvrılma gibi farklı özelliklere sahiptir (Naeimirad ve diğ. 2018). Yan yana iki bileşenli liflerin üretimi için temel prensip, iki polimerin erimesi veya iki ayrı çözeltinin bir ayırıcı yardımıyla ayrılmış iğne deliklerine ulaşması ve son olarak iğne deliğine yan yana akmasıdır (Zhu ve diğ. 2021). Denizde ada şeklindeki lifler aynı zamanda matris-filament lifleri olarak da adlandırılır çünkü enine kesitte bir polimerin ikinci bir polimerin matrisine sokulması gibi görünürler. Denizde ada lifleri, ada kısmının çapının homojen veya homojen olmayan dağılımına sahip olabilir (Almetwally ve diğ. 2017). Bir çekirdek-kabuk lifi ise, dış bölme ("kabuk" olarak gösterilir) ve iç bölme ("çekirdek" olarak gösterilir) olmak üzere ikincisinin birincisi tarafından tamamen kapatıldığı iki ayrı bölmeden oluşur. Ayrı olmalarına rağmen (genellikle ayrı bir sınır tabakası ile gözlenir), hem çekirdek hem de kabuk tabakaları içlerinden moleküler geçişe izin verir. Bu mekanizma biyomolekül salım çalışmalarında difüzyon güdümlü mekanizma olarak bilinir (Abdullah ve diğ. 2019).

1.2.4 Elektro-Eğirme İşlemi ile Nanolif Üretimi

Elektro-eğirme yöntemiyle nanolif eldesinin gerçekleştirilebilmesi için uygun bir polimer çözeltiye, polimer çözelti ile temas eden bir elektroda, yüksek gerilim sağlayan düz akım bir güç kaynağına ve topraklanmış toplayıcı plakaya ihtiyaç duyulmaktadır (Andrady 2008). Elektro-eğirme işlemi ile nanolif eldesi için uygun bir çözücü ile çözünen polimer cam bir pipet veya şırıngaya aktarılır. Pompa düzeneğine yerleştirilen şırınga ile karşısındaki toplayıcı levha arasına yüksek gerilim potansiyeli uygulanır. Polimer çözelti damlası belirli bir eşik voltaj değerine kadar besleyici ünitedeki iğnenin ucunda yarım küre şeklinde asılı durumda küresel bir biçimde bulunmaktadır (Weiss ve diğ. 2012). Potansiyel fark değeri bir eşik değerine

geldiğinde elektrostatik kuvvetler ile yüzey gerilimi kuvvetleri arasındaki fark ortadan kalkar, kuvvetler birbirine eşitlenmiş olur. Bu noktada şırınganın ucundaki damla şekil değiştirir ve koni şeklini alır. Bu koni 'Taylor konisi' olarak ifade edilir (Şekil 1.1). (Subbiah ve diğ. 2005).



Şekil 1.1: Elektro-eğirme düzeneğinde voltajın kademeli olarak artışıyla Taylor konisinin jete dönüşmesi a: Yarım küre şeklindeki damla, b,c: Artan voltaj değerleri ile yarım kürenin büyümesi, d: Taylor konisi, e: Jet oluşumu, f: Kararlı jet oluşumu (Larrondo ve Manley 1981)

Çözeltinin bu konik şekli aldığı andaki voltaj kritik voltaj olarak ifade edilir ve kritik voltaj değerine gelmesiyle beraber besleme ucunda fiskiyeye benzer bir jet oluşumu gerçekleşir (Khalf ve Madihally 2017). Bu jet, elektrik alan tarafından topraklanmış toplayıcıya doğru hızlandırılır. Jet elektrik alanından geçerken, jet yüzeyinde yükler birikir. Bu yükler, jetin bir kamçılama veya bükülme hareketine neden olacak şekilde eşit olmayan bir şekilde dağıtılabilir. Sonuç olarak, jet içindeki polimer zincirleri gerilme ve yönlendirme eğilimi gösterirken çözücü buharlaşması hızla meydana gelebilir (Kriegel ve diğ. 2008). Bunun sonucunda toplayıcıya doğru hareket

eden parçacıkların çaplarında mikro veya nano boyuta kadar azalma gerçekleşir ve böylece istenen özellikte nano yapılar elde edilir (Khalf ve Madihally 2017).

1.2.5 Elektro-Eğirme İşlemini Etkileyen Faktörler

Elektro-eğirme süreci ve nanoliflerin morfolojisi ve çapı; işleme parametreleri, polimer çözeltisinin özellikleri ve çevresel faktörler olmak üzere 3 ana faktörden etkilenmektedir (Angamma ve Jayaram 2016).

1.2.5.1 Çözeltinin Özellikleri

1.2.5.1.1 Viskozite

Çözelti viskozitesi, polimerik liflerin elektro-eğrilmesi sırasında lif boyutunun ve morfolojisinin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Polimer çözeltinin çok düşük viskoziteye sahip olmasının sürekli lif oluşumunu kısıtladığı, çok yüksek viskoziteye sahip olmasının ise jet oluşumunu zorlaştırdığı belirtilmektedir. Bu nedenle elektro-eğirme yönteminde kullanılacak polimer çözeltilerin optimum viskozite değerlerine sahip olması gerekmektedir (Bhardwaj ve Kundu 2010). Optimum viskozite değerlerinin yaklaşık olarak 1 ila 200 poise arasında değiştiği fakat 1- 20 poise aralığında homojen nanoliflerin üretilebildiği tespit edilmiştir (Islam ve diğ. 2019). Bunun yansira çözelti viskozitesi azaldıkça, yüksek kristallik ve mukavemete sahip ince lifler elde edilirken, çözelti viskozitesi arttıkça, düşük voltaj değerlerinde bile lif oluşumu meydana gelmektedir (Ibrahim ve Klingner 2020).

1.2.5.1.2 Konsantrasyon

Çözelti konsantrasyonu, viskozite ve yüzey gerilimindeki değişimler nedeniyle elektro eğrilmiş liflerin oluşumu için önemli bir parametredir. Çok düşük konsantrasyona sahip polimer çözelti, yüzey geriliminin etkisiyle baloncuklu lifler oluştururken, çok yüksek konsantrasyona sahip çözelti ise, daha yüksek viskoziteye

sahip olması nedeniyle lif oluşumunu kısıtlamaktadır (Subbiah ve diğ. 2005, Haider ve diğ. 2018). Aynı elektro-eğirme koşulları altında, polimer çözeltinin konsantrasyonunun belli bir düzeye kadar arttırılması ise, nanoliflerin çapını arttırmaktadır (Bera 2016).

1.2.5.1.3 Moleküler Ağırlık

Elektro-eğirme işleminin gerçekleşmesi için kullanılacak olan polimer çözeltisinin eldesinde kullanılacak polimerin molekül ağırlığı yeterli düzeyde olmalıdır. Çünkü molekül ağırlığı çözelti viskozitesi ve çözelti konsantrasyonu gibi elektro-eğirmeyi etkileyen diğer önemli değişkenlerle bağlantılıdır. Molekül ağırlığının arttırılmasıyla birlikte polimerin zincir uzunluğu da artar bu da çözeltinin viskozitesini artırır ve böylece elektro-eğirme sırasında polimer jetinin yoğun zincir karmaşıklığına sahip olmasına neden olur. Böylelikle boncuksuz ve daha kalın lifler elde edilmektedir (Mihindukulasuriya 2012).

1.2.5.1.4 Yüzey Gerilimi

Yüzey gerilimi, elektro-eğirme işlemi sırasında uygulanan gerilime karşı gösterilen birincil kuvvettir ve nanolif oluşumunu etkiler. Düşük yüzey gerilimli polimer çözeltileri genellikle düzgün morfolojiye sahip lifler üretmektedir. Ancak bu, düşük yüzey gerilimine sahip her çözeltden nanolif elde edilebileceği anlamına gelmez. Nanolif üretimi için gerekli olan minimum voltaj, çözeltinin yüzey gerilimi ile artar fakat bu artış her zaman doğrusal bir şekilde gerçekleşmemektedir. Polimer çözeltilerinin yüzey gerilimleri çözelti konsantrasyonu, çözeltinin kimyasal bileşimi ve sıcaklıktan etkilenir (Okutan ve diğ. 2017). Polimer çözeltisinin yüzey gerilimi elektro-eğirme sürecinde damlacıkların, boncukların veya liflerin oluşumunu etkilemektedir. Elektro-eğirme sırasında lif oluşumunun meydana gelmesi için, düşük yüzey gerilimine sahip polimer çözeltiler, daha yüksek yüzey gerilimine sahip çözeltilere göre daha düşük elektrik alana ihtiyaç duymaktadırlar. Çok yüksek yüzey geriliminde, kararsız bir polimer jetin oluşmasından dolayı lifler yerine damlacıklar oluşmaktadır (Rezaei ve diğ. 2015).

1.2.5.1.5 Elektriksel İletkenlik

Polimerler, birkaç dielektrik malzeme haricinde genellikle iletkenlerdir ve polimer çözeltisindeki yüklü iyonlar, polimer jetinin meydana gelmesinde oldukça etkilidir. İyonlar, jetin yük taşıma kapasitesini arttırarak uygulanan elektrik alan sayesinde jeti daha yüksek gerilime maruz bırakır (Subbiah 2005). Çözeltinin elektriksel iletkenliği arttığında, nanoliflerin çapında önemli bir düşüş olur. Düşük elektriksel iletkenliğe sahip olan çözeltilerde polimer jeti yeterince uzamaz bu da elde edilen liflerin boncuklu bir yapıda olmasına neden olmaktadır. Genel olarak, yüksek elektriksel iletkenlik değerine sahip olan polimer çözeltilerden daha küçük çaplı nanolifler üretilebilmektedir (Haghi ve Akbari 2017).

1.2.5.2 İşlem Parametreleri

1.2.5.2.1 İğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe

Toplayıcı ile iğne ucu arasındaki mesafenin arttırılmasıyla elektro-eğirme işlemi sırasında lifler daha uzun süre havada kalmaktadır. Sürenin uzamasıyla birlikte daha kuru ve küçük çaptaki nanolif eldesi gerçekleşmektedir. Mesafenin çok kısaltılması ise liflerin kurumadan toplayıcıya ulaşmasına bu yüzden nemli ve boncuklu liflerin oluşmasına neden olabilmektedir (Mihindukulasuriya 2012). Fakat mesafe belli bir değeri aştığında ise elektrik alan zayıflayacağından lif çapının artmasına neden olabilmektedir (Li ve diğ. 2021).

1.2.5.2.2 Voltaj

Elektro-eğirme sürecinde voltaj, polimer jetinde yüzey yükü oluşturduğu ve nanoliflerin çapını etkilediği için kritik unsurlardan biridir. Artan voltaj değerleri genel olarak akışkan jeti üzerinde artan elektrostatik itme kuvvetlerine neden olur ve bu da nanolif çapının azalması sonucunu doğurur. Fakat bazen, çok yüksek voltaj değerleri iğne ucundan daha fazla polimer tahliyesine neden olduğundan nanoliflerin çapında artış meydana getirebilmektedir (Okutan ve diğ. 2017). Elektro-eğirme düzeneğinde

voltajın değişimi, iğne ucu ile toplayıcı arasındaki elektrik alanın g¼c¼n¼ kontrol eder. Çözeltiye gerilim uygulandığında, çözeltideki elektrostatik kuvvet çözeltinin yüzey gerilimini yener böylelikle elektrik alan elektro-eğirme işlemine başlatır. Akış hızına bağlı olmakla birlikte kararlı bir Taylor konisi oluşunu için yüksek voltaj değerlerine gerek duyulmaktadır (Ghorani ve Tuckher 2015).

Elektrik alanın yoğunluğu elde edilen nanoliflerin lif çapı üzerine doğrudan etkilidir. Yetersiz veya uygun olmayan elektrik alan yoğunluğu elde edilen nanoliflerin boncuklu yapıda olmasına ya da polimer jetinin kesilmesine neden olabilmektedir. Uygulanan voltaj yükseltildiğinde, Taylor konisi oluşturacak damlanın hacmindeki bir azalma meydana geldiği ve bununda boncuklu nanolif eldesine neden olduğu belirtilmektedir (Chinnappan ve diğ. 2022).

1.2.5.2.3 Çözelti debisi

Polimer çözeltinin debisi diğer bir ifade ile akış hızı elektro-eğirme sürecini etkileyen bir diğer faktördür. öz¼c¼n¼n tamamıyla uzaklaştırılması ve kuru nanolif eldesi için çözeltinin akış hızı ile jetin oluşum hızının uyumlu olması gerekmektedir. Aksi halde çok d¼ř¼k akış hızlarında jet oluşmamakta ve elektro-eğirme işlemi gerçekleşmemektedir. Çok yüksek akış hızlarında ise öz¼c¼ tam anlamıyla uzaklaştırılmadığı için baloncuk içeren ve kalın çaplı nanolifler elde edilmektedir (Işık 2016).

1.2.5.3 Çevresel Fakt¼rler

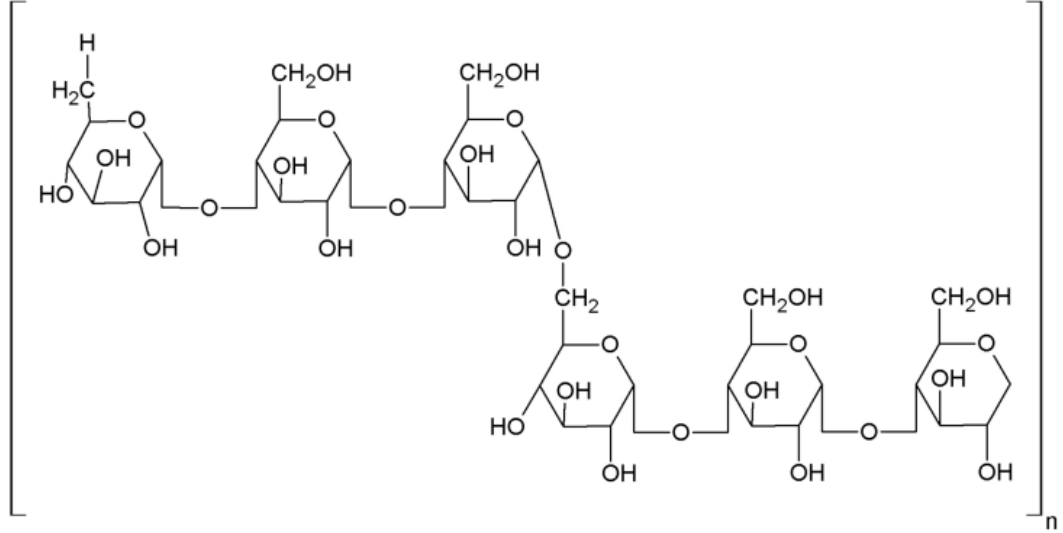
Elektro-eğirme sürecini etkileyen, üzerinde yoğun bir şekilde çalışılan en önemli iki ortam parametresi nem ve sıcaklıktır. Nanolif konfig¼rasyonu, elektro-eğirme sırasında nemdeki değişim ile değişmektedir. Nemli koşullarda gözenekli liflerin elde edildiği bilinmektedir. Nanolifin şekli, boyutu ve çap dağılımları gibi gözenekle ilgili nitelikler, ortam neminin değişmesi ile değişmektedir. Bu nedenle ortam nemi arttığında nanoliflerin gözenek çapları ve gözenekliliği de artmaktadır (Azizzadeh 2017). Ortam sıcaklığı arttığında ise polimer çözelti içerisindeki öz¼c¼

daha hızlı buharlaşabilmektedir bu da daha homojen ve ince lif çapına sahip nanolif eldesini sağlamaktadır (Yılmaz ve Altan 2017).

1.3 Pullulan

Doğal ve modifiye edilmiş polisakkaritler, biyolojik olarak uyumlu ve parçalanabilir olmaları ve istenilen özellikleri elde etme amacıyla modifiye edilebilir olduklarından bioaktif bileşenlerin enkapsülasyonu için umut vaadeden materyallerdir. Karbonhidrat bazlı dağıtım sistemlerine sahip olmaları nedeniyle fonksiyonel grupları aracılığıyla hem hidrofilik hem de hidrofobik bioaktif bileşenlerle tepkimeye girerek onları bağlamak ve hapsedmek için çok yönlü taşıyıcı özelliği sergilemektedirler. Ayrıca protein ve lipit bazlı dağıtım sistemlerine kıyasla daha yüksek sıcaklık stabilitesine sahiplerdir (Ghorani ve Tucker 2015). Aljinat, selüloz, kitosan, pullulan, nişasta, dextran gibi polimerler elektro-eğirme işleminde sıkça kullanılan polisakkaritlerdendir (Angel ve diğ. 2022).

Pullulan; mantar benzeri bir maya olan *Aureobasidium pullulans* tarafından üretilen, maltotrioz (glukoz ünitelerinin α -1,4 glikozidik bağlarıyla bağlanması sonucunda oluşur) ünitelerinin α -1,6 glikozidik bağlarıyla bağlanması sonucunda oluşan düz zincirli bir egzopolisakkarittir (Şekil 1.2). Pullulanın bu yapısı ona esneklik, suda çözünme ve lif oluşturabilme gibi özellikler vermektedir (Qin ve diğ. 2019). Renksiz, tatsız, kokusuz ve toksik olmayan pullulan Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi tarafından GRAS (Genel olarak güvenli kabul edilen) olarak kabul edilmektedir. Bu özellikleri nedeniyle gıda sanayi, kağıt sanayi, doku mühendisliği ve eczacılık gibi sektörlerde kullanılmaktadır (Çabuk ve Harsa 2015, Wang ve Ziegler 2017, Yang ve diğ. 2020). Pullulan merdiven basamağı benzeri molekül yapısına sahiptir. Bu nedenle etkili bir biçimde lif ve film oluşturabilmektedir. Bu özellikleri pullulanın ambalaj ve kaplama malzemesi olarak kullanılmasına katkı sağlamaktadır. Ayrıca pullulanın linaj yapısı, reolojik özellikleri elektro-eğirme yöntemiyle lif elde edilmesini kolaylaştırmaktadır. Hatta problemler elektro-eğirme proseslerinde elektro-eğirme işlemi gerçekleştirilecek çözeltinin özelliklerini geliştirmesi ve eğirme işlemi kolaylaştırması amacıyla pullulan kullanılabilir (Celebioğlu ve Uyar 2021).



Şekil 1.2: Pullulanın kimyasal yapısı (Ferreira ve diğ. 2015)

1.4 Peynir Altı Suyu Proteini

İnsan vücudunun ana bileşenini oluşturmaları, değerli besin içeriğine sahip olmaları ve fonksiyonel gıda katkıları olmaları nedeniyle proteinler, bioaktif bileşenlerin enkapsülasyonunda sentetik polimerlere göre daha çok tercih edilmektedirler. Proteinlerin, esas olarak karmaşık ikincil ve üçüncül yapıları nedeniyle, proteinlerden tek başına elektro-eğirme yöntemiyle nanolif eldesi oldukça zordur. Küresel proteinler, eğirme işlemi sırasında karışmak ve iç içe geçmek için çok az iç etkileşime sahiptirler (Ghorani ve Tucker 2015). Fakat doğru çözücü seçimi, polimer çözeltisine denatüre edici ajan ilavesi ya da ısı uygulamasıyla proteinlerin elektro-eğirilmeleri kolaylaştırılabilmektedir (Mendes ve diğ. 2017). Proteinlerin elektro-eğirilmesini sağlayacak bir diğer yöntem ise yüksek elektro-eğirme kapasitesine sahip taşıyıcı bir polimer ile proteinleri karıştırmaktır (Nieuwland ve diğ. 2014). Jelatin, kolajen, elastin, kazein, amarant, zein, peynir altı suyu proteini ve hordein gibi proteinler elektro-eğirme sırasında kullanılan proteinlere örnek olarak verilebilmektedir (Mendes ve diğ. 2017).

Peynir altı suyu proteinleri kazeinlerle birlikte iki önemli süt proteini grubundan biridir (Çabuk ve Harsa 2015). Su bağlayıcı, lezzet artırıcı, jelleştirici, emülsifiye edici ve köpürtücü karakterlerinden dolayı gıda takviyesi ve fonksiyonellik

arttırıcı olarak da kullanılabilirler. Antimikrobiyal, antiviral ve antikarsinojenik özelliklere sahip olmaları peynir altı suyu proteinlerinin önemini arttırmaktadır (Sullivan ve diğ. 2014). Ayrıca peynir altı suyu proteini kullanılarak üretilen nanoliflerin biyoaktif bileşen salınımını daha kontrollü bir şekilde gerçekleştirdiği belirtilmektedir (Mendes ve diğ. 2017).

1.5 Karanfil

Karanfil (*Syzygium aromaticum*), Endonezya, Sri Lanka ve Hindistan'a özgü ve Myrtaceae familyasına ait iyi bilinen şifalı bir bitkidir (Hameed ve diğ. 2021). Esansiyel yağı ve özü uzun süredir tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Cortés-Rojas ve diğ. 2014). Karanfilin etken maddeleri olan öjenol, öjenol asetat, β -karyofillen teröpatik etkilerinden sorumludur (Hameed ve diğ. 2021). Karanfilin yapısında bulunan bu etken maddelerin ağrı kesici özelliklerinin olduğu bilinmektedir (Moghimian ve diğ. 2018). Bunun yanı sıra karanfilin antibakteriyel, antiinflamatuvar, antifungal ve antioksidan etkileri de mevcuttur (Suantawee ve diğ. 2015). Ancak karanfil ekstresi uçucu bileşenleri nedeniyle stabilitesini uzun süre koruyamamaktadır. Bu nedenle, antibakteriyel ve antioksidan özelliklerini daha uzun süre koruyabilmek için aktif maddelerinin çeşitli yöntemlerle enkapsüle edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Elektro-eğirme, aktif maddelerin enkapsülasyonunda kullanılan en yaygın yöntemlerden biridir ve elektro-eğirme yöntemiyle elde edilen nanolifler, tıp, farmakoloji, ilaç ve gıda endüstrilerinde kullanılmaktadırlar (Faki ve diğ. 2019, Ünal ve diğ. 2019).

1.6 Çörekotu

Çörek otu (*Nigella sativa L.*), birçok Asya, Orta Doğu ve Uzakdoğu ülkesi tarafından geleneksel tıpta kullanılan bir baharattır (Sharifi ve diğ. 2020). Çörek otu esas olarak sabit ve uçucu yağlar, karbonhidratlar, proteinler, alkaloidler, vitaminler ve mineraller içermektedir (Aras ve diğ. 2021). Timokinon (%30-48), timohidrokinon, ditimokinon, simen (%7-15), karvakrol (%6-12), 4-terpineol (%2-7), t-anetol (%1-4), pinen ve timol, gibi başlıca biyoaktif bileşikler çörekotu yağında önemli miktarlarda

bulunmaktadır. Tüm biyoaktif bileşikler arasında timokinon (TQ), çörek otu yağının en önemli aromatik bileşeni olarak kabul edilir (Ali ve diğ. 2022). Çörek otunun analjezik ve antiinflamatuvar etkileri, antikanser özellikleri, antibakteriyel aktivitesi, antifungal etkileri ve antioksidan kapasitesinin olduğu bilinmektedir. Çörek otu yağı veya çörek otu ekstraktının elektro-eğirme yoluyla polimerik nanoliflere yüklendiği bilinmektedir (Aras ve diğ. 2021).

Çörek otu atığı ise, bir yan ürün olarak aynı zamanda değerli biyoaktif bileşiklerin (örneğin, hidroksibenzoik, siringik ve *p*-kumarik asitler) kaynağını oluşturmaktadır. Ayrıca, protein açısından zengin bu değerli bir yan ürün olan çörek otu atığı, yenilebilir film eldesinde başarılı bir şekilde kullanılabilir. Mevcut bilgiler göz önüne alındığında çörek otu atığı, besin değeri ve yüksek değerli biyoaktif bileşikler nedeniyle biyopolimer karışımlarında düşük fiyatlı bir antioksidan ajan haline gelebilir (Tymczewska ve diğ. 2022).

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Terzi (2013), tarafından yapılan çalışmada %15'lik jelatin çözeltisi kullanılarak elektro-eğirme yöntemiyle jelatin nanolifleri elde edilmiştir. Elde edilen jelatin nanolifi ve jelatin polimeri %0,5, 1,0 ve 1,5 konsantrasyonlarda su, zeytinyağı ve süt gibi model gıdalara eklenerek bu gıdaların reolojik özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda ise jelatin nanolifleri ilave edilen model gıdaların viskozite değerlerinin sadece jelatin polimeri içeren gıdalara göre daha yüksek olduğu belirlenmiş ve bu nedenle jelatin nanoliflerinin gıdalarda kıvam verici olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Miyoshi ve diğ. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada zein proteininden nanolif eldesi gerçekleştirilmiş ve bu nanolif eldesi üzerine hangi parametrelerin etkili olduğu araştırılmıştır. Zein %80'lik etanol-su karışımı içinde çözündürülmüş ve elektro-eğirme yöntemiyle 700 nm çapında zein lifleri elde edilmiştir. Liflerin morfolojisi polimer konsantrasyonu ve uygulanan elektrik alanın şiddeti gibi parametrelerin değişiminden etkilenmiştir. Çözelti konsantrasyonu arttıkça daha dayanıklı lifler oluştuğu belirlenmiştir. 15 kV elektrik alanda çözelti konsantrasyonu %21 ve üzerinde olduğunda 30 kV elektrik alanda ise çözelti konsantrasyonu %18 ve üzerinde olduğunda nanolif eldesi gerçekleştirilmiştir.

Drosou ve diğ. (2018) pullulan ve peynir altı suyu proteinini farklı oranlarda (100:0, 80:20, 70:30, 50:50, 20:80 (w/w)) kullanarak elektro-eğirme yöntemiyle nanolif eldesi gerçekleştirdikleri çalışmalarında, karışım oranlarının viskozite, elektriksel iletkenlik, yüzey gerilimi, akış hızı, uygulanan voltaj, uç-toplayıcı mesafesi gibi parametrelerin elde edilen nanoliflerin morfolojisi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada elde edilen nanoliflerin çaplarının yaklaşık olarak 231 nm olduğu ve %30 (w/w)'dan daha düşük oranlarda pullulan içeren çözeltilerin boncuklu morfolojiye sahip oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca karışımda pullulan oranı arttıkça nanolif çapında artış meydana geldiği akış hızı, uygulanan voltaj, uç-toplayıcı mesafesi gibi parametrelerin nanolif morfolojisini etkilediği, pullulan: peynir altı suyu proteini nanoliflerinin ısıl açıdan peynir altı suyu proteini nanoliflerine göre daha kararlı olduğu tespit edilmiştir.

Yılmaz (2015), E vitamininin elektro-eğirme yöntemiyle jelatin nanoliflerine enkapsülasyonunu gerçekleştirmiştir. 22 kV voltaj, 0,5 mL/h akış hızı, 10 cm plaka-şırınga arası mesafede, E vitamini jelatin polimeri kullanılarak elektro-eğirme yöntemiyle enkapsüle edilmiş ve nanolif eldesi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, elektro-eğirme yöntemiyle 45-300 nm arasındaki çaplarda nanolifler elde edilmiştir. Nanoliflerin temas açısı ölçüm sonuçlarına göre E vitamininin enkapsüle edilmesiyle elde edilen nanoliflerin hidrofilik karakterde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca E vitamininin jelatin nanolifinin difüzyon yeteneğini artırıcı etkisi olduğu ifade edilmiştir.

Ghayempour ve Mortazavi (2014) tarafından yapılan bir çalışmada nane yağı alginat biyopolimeri ile elektro-eğirme yöntemi ile kaplanmış ve depolama stabilitesi araştırılmıştır. Bu amaç kapsamında nano- ve mikro-kapsüller üretilmiş ve SEM ile yapılan ölçümler sonucunda boyut karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. İnce tabaka kromatografisi (TLC), gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) ve termogravimetrik analiz (TGA) yöntemleri kullanılarak nane esansiyel yağının enkapsülasyon stabilitesi belirlenmiştir. Üretilen nano-kapsüllerin antimikrobiyal aktivitesi Gram-negatif bakteri olan *Escherichia coli* ve Gram-pozitif bakteri olan *Staphylococcus aureus* kullanılarak belirlenmiştir. Kapsüllenmiş ve kapsüllenmemiş nane yağının *E.coli* ve *S.aureus* üzerinde %100 oranında bir azaltma etkisi söz konusuysen, sadece alginat nanoliflerinin de bu bakteriler üzerinde inhibisyon etkisinin *E. coli* için %73,2 ve *S. aureus* için ise %75,0 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kullanılan yöntemle nane yağının %94'ü enkapsüle edilmiştir.

López-Rubio ve diğ. (2012) yaptıkları çalışmada *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 suşunu pullulan ve peynir altı suyu proteinleriyle enkapsüle etmişler ve probiyotiklerin canlılığını dondurularak kurutulmuş örnekler ile kıyaslamışlardır. Analizler 2 farklı sıcaklık (4 ve 20°C) ve 4 farklı bağıl nem (%0, 11, 53 ve 75) değerinde gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda elektro-eğirme yoluyla kapsülleme, özellikle 20°C'de bifidobakteriyel suşun yaşayabilirliğini önemli ölçüde arttırmıştır. Peynir altı suyu proteinleri yüksek bağıl nemde bile hücrelerin hayatta kalmasını etkili bir şekilde uzattığından, kapsülleme malzemesi olarak pullulandan daha fazla koruma kabiliyeti göstermiştir.

Gomez-Mascaraque ve diğ. (2016) tarafından yapılan bir başka çalışmada peynir altı suyu proteinleri matriksi ile *L. plantarum* suşuna ait probiyotik mikroorganizmaların enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan voltaj büyüklüğünün, yüzey aktif madde konsantrasyonunun ve ortama probiyotik ilavesinin hücre canlılığı ve üretkenliği üzerine etkisi araştırılmış olup aynı zamanda dondurularak kurutulmuş suşlarla karşılaştırma gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda canlılık kayıplarının $1 \log_{10}$ kob'dan daha az olduğu ve son ürünün bakteri sayısının $8,5 \log_{10}$ kob/g'ı aştığı tespit edilmiştir. Ayrıca voltajın büyüklüğü, yüzey aktif madde konsantrasyonundaki artış ve probiyotik ilavesinin ürün verimini artırdığı belirtilmiştir.

Fernandez ve diğ. (2009) yılında yaptıkları bir çalışmada gıda endüstrisinde ışığa duyarlılığı ile bilinen renklendirici ve antioksidan madde özelliğiyle yaygın olarak kullanılan β -karoteni zein prolamin duvarıyla elektro-eğirme yöntemiyle kaplamışlardır. Oluşan lif kapsüllerinin nano ve mikro boyutlarda olduğu ve Raman görüntüleme spektroskopisiyle yapılan gözlemler sonucunda β -karotenin zein lifleri içinde dağıldığı fakat bazı yerlerde kümeleşmeler oluşturduğu ve antioksidan aktivite stabilitesini koruduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, kapsüllenmiş bileşik için UV ışına maruz bırakıldığında β -karotenin ışık stabilitesinde önemli bir artış tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda, zein prolamininden elektro-eğirme yöntemiyle nanolif eldesinin, ışığa duyarlı katma değeri yüksek gıda bileşenlerinin stabilizasyonu için önemli bir yöntem olduğu belirtilmiştir.

Fabra ve diğ. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada farklı hidrokolloid matrisler (Peynir altı suyu proteini izolatu (WPI), Soya proteini izolatu (SPI) ve Zein) kullanarak antioksidan özelliği olan alfa-tokoferol bileşimini enkapsüle etmişlerdir. Bu hibrit yapılar doğrudan termoplastik bir buğday glüten filminin bir yüzeyine elektro-eğirme yöntemi ile uygulanmış ve böylece aktif/ biyoaktif bir ambalaj materyali eldesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda termoplastik buğday glüten filmlerinin su buharı bariyeri etkinliğinin aktif kaplama tabakası ile geliştirildiği belirtilmiştir. Ayrıca, bu yapılar endüstriyel bir sterilizasyon işlemine tabi tutulduğunda, özellikle zein kabuk malzemesi olarak kullanıldığında, kaplama işleminde alfa-tokoferol stabilitesi korunmuştur. Sulu ortamda salınan alfa-tokoferol miktarı bir spektrofotometrik yöntemle değerlendirilmiş ve alfa-tokoferol salım profilleri, zein matrislerinde kapsüllenmiş antioksidan salınımının gecikmiş olduğunu göstermiştir. WPI ve SPI

matrisleri söz konusu olduğunda, salınım muhtemelen hem kapsül morfolojisi hem de bu suda çözünabilir protein matrislerinin şişmesi ve daha hızlı çözünmesi nedeniyle daha hızlı olmuştur. Bu çalışma, gıda uygulamalarıyla ilgili olarak aktif/biyoaktif paketleme sistemlerinin geliştirilmesi için yeni bir yöntem sunmaktadır.

Aslaner ve diğ. (2021) üzüm çekirdeği ekstraktını elektro-eğirme yöntemiyle çavdar unu, peynir altı suyu proteini ve polietilen oksit ile enkapsüle ettikleri çalışmalarında, çavdar unu konsantrasyonu ve farklı ısıtma tekniklerinin (geleneksel ve mikrodalga) nanolif eldesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda mikrodalga işleminin nanolif morfolojisini olumlu yönde etkilediğini, polimer çözeltinin yapısına üzüm çekirdeği ekstraktı ilavesinin elde edilen liflerin lif çapları üzerinde olumlu bir etkiye neden olduğunu ve çavdar unu konsantrasyonunun artmasıyla üzüm çekirdeği ekstraktının enkapsülasyon verimliliğinin arttığını tespit etmişlerdir.

Colin-Orozco ve diğ. (2015) farklı oranlarda polietilen oksit ve peynir altı suyu proteini kullanılarak elektro-eğirme yöntemiyle nanolif eldesi gerçekleştirdikleri bir çalışmada, yüksek viskozite değerlerine sahip çözeltilerin 227-264 nm arasında değişen çaplarda homojen nanolif eldesine neden oldukları fakat düşük viskozite, düşük yüzey gerilimi ve yüksek elektriksel iletkenlik değerlerinde elde edilen nanoliflerin baloncuklu bir morfolojiye sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca nanoliflerin taşıma özelliklerini tespit etmek için %10 (w/w) oranında biberiye ekstraktı ilave ettikleri ağırlık esasına göre 60:40, 50:50 ve 40:60 polietilen oksit: peynir altı suyu proteini izolatu polimer çözeltilerinden nanolif eldesi gerçekleştirip, biberiye ekstraktının salınım davranışını incelemişler ve elde edilen nanoliflerin kısa süreli taşıma sistemi olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Najafi ve diğ. (2022b) engerek otu yağı içeren pullulan-pektin ve pullulan-bezelye protein izolatu nanoliflerine, nanoliflerin hem morfolojisini hemde oksidatif stabilitesini araştırmak için, safran ekstraktı veya safran ekstraktı yüklü nanolipozomlar ilave etmişlerdir. Yüzde 20 oranında engerek otu yağı ve %1 oranında safran ekstraktı veya safran ekstraktı yüklü nanolipozomlar içeren nanoliflerin 11 kV voltajda, 0,8 mL/h akış hızında, 15 cm iğne ucu-plaka arası mesafede üretildiğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda engerek otu yağının enkapsülasyon etkinliğinin %70'ten, safran ekstraktının enkapsülasyon etkinliğinin ise %65'ten daha yüksek

olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca safran ekstraktı nanolipozomu ilave edilen pullulan-pektin veya pullulan-bezelye proteini izolatu nanoliflerindeki engerek otu yağının oksidatif stabilitesinin daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Isik ve diğ. (2018) vişne konsantresi polifenollerini ilave edilerek jelatin ve jelatin-laktalbumin polimerlerinden tek eksenli ve çift eksenli elektro-eğirme yöntemiyle nanolif elde ettikleri çalışmalarında fenolik asitlerin, antosiyaninlerden daha yüksek enkapsülasyon verimine sahip olduğunu, polifenollerin biyoyararlılığının elektro-eğirme işlemi sonrasında arttığını ve elektro-eğirme işlemi ile enkapsüle edilmiş siyanidin-3-glikozitin, enkapsüle edilmemiş vişne suyu polifenollerine göre 8 kat koruma sağlandığını tespit etmişlerdir.

Can (2021) elektro-eğirme yöntemiyle jelatin ve polikaprolakton polimerleriyle limon otu yağınını enkapsüle ettikleri çalışmalarında, polimer çözeltilerin elektriksel iletkenlik, viskozite, dielektrik sabiti özelliklerini belirleyip, bu özelliklerin lif çapı ve morfolojisine etkisini araştırmışlardır. Daha sonra deneysel optimizasyon ile yenilebilir ambalaj olarak kullanılacak liflerin optimum koşullarını belirlemişler ve bu koşullarda üretilen nanolifin *Salmonella typhimurium* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı %99 oranında antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Daha sonra optimum koşullarda elde ettikleri nanolif ile tavuk göğüs eti örneklerini kaplayarak 7 gün boyunca buzdolabı sıcaklığında depolamışlar ve kaplamanın tavuk göğüs etinin raf ömrü üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda ise limon otu yağı içeren nanolifler ile kaplanan tavuk göğüs etlerinde *Salmonella* gelişiminin kontrol altına alındığını, pH ve renk değişimlerinin kontrol grubuna göre daha yavaş gerçekleştiğini tespit etmişlerdir.

Najafi ve diğ. (2022a) safran ekstraktını zein nanoliflerine enkapsüle ettikleri çalışmalarında, safran konsantrasyonunun (%5 ve 10 w/w), zein konsantrasyonunun (%15, 25 ve 30 w/v) ve uygulanan voltajın nanolif morfolojisi üzerine etkisini araştırmışlardır. Yüzde 30 w/v oranında zein, %10 w/w oranında safran içeren çözeltilerden 6 ve 14 kV voltajlarda ortalama lif çapı sırasıyla 440 ve 544 nm olan pürüzsüz nanolifler elde etmişlerdir. Safran ekstraktı ilave edilen nanoliflerin termal stabilitesinin azaldığını, krosin ve pikrokrosinin enkapsülasyon veriminin sırasıyla %64 ve 47 olduğunu, %10 oranında safran ekstraktı ilave edilen nanoliflerin zein nanolifinde %53 oranında fazla antioksidan içerdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca %30

oranında zein, %10 oranında safran içeren nanolif ile levrek örneklerini kaplayıp 8 gün boyunca 2°C’de muhafaza eden araştırmacılar, toplam uçucu bazik azot (TVBN) değerinin safran-zein nanolifi ile kaplanan örneklerde kontrol grubundan göre %30 oranında daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 MALZEMELER

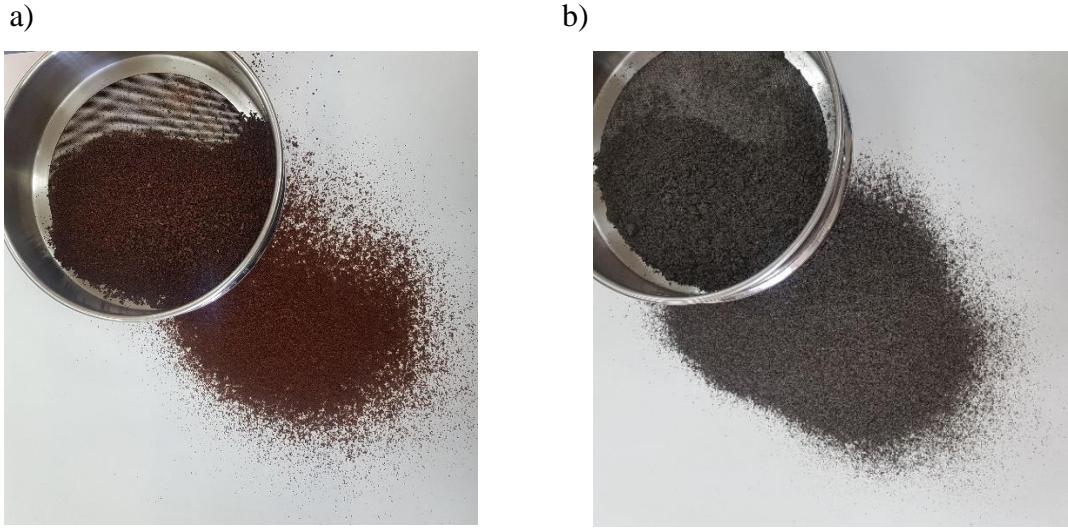
Çalışmamızda kullanılan pullulan Hayashibara Co. Ltd (Okayama, Japonya) tarafından peynir altı suyu protein konsantratu ise Malkara Birlik Süt ve Süt Mamulleri A.Ş. (Tekirdağ, Türkiye) tarafından bağışlanmıştır. Karanfil Denizli piyasasından, çörekotu atığı ise Bursa piyasasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan sosis örnekleri Denizli piyasasından ulusal bir marketten temin edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda etanol ($\geq\%99$) (Isolab, Türkiye), Folin-Ciocalteu reaktifi (2N) (Merck, Almanya), Na_2CO_3 (Sigma-Aldrich, Almanya), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich, Almanya), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Trolox) (Sigma-Aldrich, Almanya), metanol ($\geq\%99$) (Carlo Erba, Almanya), gallik asit (Carl Roth GmbH+Co.KG, Almanya), trikloroasetik asit (Merck, Almanya), tiyobarbütirik asit (Sigma-Aldrich, Almanya), kloroform (Merck, Almanya), asetik asit (Isolab, Türkiye), Nutrient Broth ve TSB Broth (Merck, Almanya), Luria Broth (HiMedia, ABD) ve Agar-agar (Sigma-Aldrich, Almanya) kullanılmıştır.

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Bitkisel Ekstraktların Hazırlanması

Karanfil ve çörekotu atığı örnekleri laboratuvar tipi öğütücü (Lavion HC-100, Türkiye) ile öğütülmüştür. Öğütülen örnekler 500 mesh'lik elek ile elendikten sonra vakum ambalajlanmıştır. Ambalajlanan örnekler kullanılabileceği kadar -18°C 'deki dondurucuda muhafaza edilmiştir. Bitkisel ekstraktlar Tayel ve Tras (2012) yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Bu yöntemle göre 500 g öğütülmüş örnek tozu 2000 mL %70'lik etanol çözeltisi içerisinde 6 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Elde edilen ekstrakt önce tülbentten sonra kaba filtre kağıdından daha sonra da Whatman No. 1 filtre kağıdından süzülmüştür. Arda kalan kek tekrar 1000 mL %70'lik etanol çözeltisi içerisinde 6 saat boyunca laboratuvar tipi çalkalayıcıda

(Wiseshake SHO-1D, Kore) çalkalanmıştır. Elde edilen ekstrakt önce tül bentten sonra kaba filtre kağıdından daha sonra da Whatman No. 1 filtre kağıdından süzlmüştür. Ekstrakt rotary evaporator (Büchi R-114, İsviçre) aracılığıyla 50°C sıcaklıkta konsantre hale getirilmiştir. Konsantre hale getirilen ekstrakt 24 saat boyunca -80°C’de dondurulup ardından -50°C’de liyofilize (Thermo Savant Modulyo, ABD) edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar kullanılana kadar -18°C’deki derin dondurucuda muhafaza edilmişlerdir.



Şekil 3.1: Öğütülmüş karanfil (a) ve öğütülmüş çörekotu atığına (b) ait görseller

3.2.2 Bitkisel Ekstrakt İçeren Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması

Elektro-eğirme aşamasında kullanılacak olan çözeltiler %20 (w/w) oranında polimer (pullulan-peynir altı suyu proteini) içerecek şekilde saf su içerisinde homojen hale gelene kadar 800 rpm hızda manyetik karıştırıcıda (Daihan MSH-20A, Güney Kore) karıştırılarak hazırlanmıştır. Farklı çözeltilerdeki polimer oranları ise, ağırlık esasına göre 100:0, 50:50 ve 25:75 pullulan: peynir altı suyu proteini olacak şekilde ayarlanmıştır. Polimerler homojen hale geldikten sonra çözeltiye karanfil ekstraktı veya çörekotu atığı ekstraktı (%5 ve 30 w/w) ilave edilmiştir. Çözelti homojen hale gelene kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılmaya devam edilmiştir. Homojen hale gelen çözelti 24 saat oda sıcaklığında bekletilerek oluşan hava kabarcıklarının giderilmesi sağlanmıştır. Kontrol örneklerinin elde edileceği çözeltiler ise ekstrakt ilave edilmeden aynı yöntemle hazırlanmıştır.

3.2.3 Polimer Çözeltilerinin Özellikleri

3.2.3.1 Reolojik Özellikler

Polimer çözeltilerin görünür viskoziteleri Brookfield RVDV-II model viskozimetre, SC4-21 prob, SC4-13R örnek kabı, SC4-64Y küçük örnek adaptörü ve SC4-45Y ısı ceketini kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümlerin sabit sıcaklıkta gerçekleştirilmesi için sirkülasyonlu su banyosu (Polyscience, ABD) kullanılmış ve ölçümler 20 °C’de gerçekleştirilmiştir. Örneklerin ölçümleri 0-200 rpm hız aralığında gerçekleştirilmiştir. Örneklerin akış davranışları üs yasasına (Denklem 1) uymaktadır:

$$\tau = K \gamma^n \quad (1)$$

Denklem 1’de τ kayma gerilimini (Pa), γ kayma hızını (s^{-1}), K kıvam katsayısını ve n ise akış davranış indeksini ifade etmektedir. Polimer çözeltilerin görünür viskozite değerleri Denklem 2 kullanılarak belirlenmiştir.

$$\mu = K \gamma^{n-1} \quad (2)$$

Burada μ görünür viskoziteyi ifade etmektedir (Pa s).

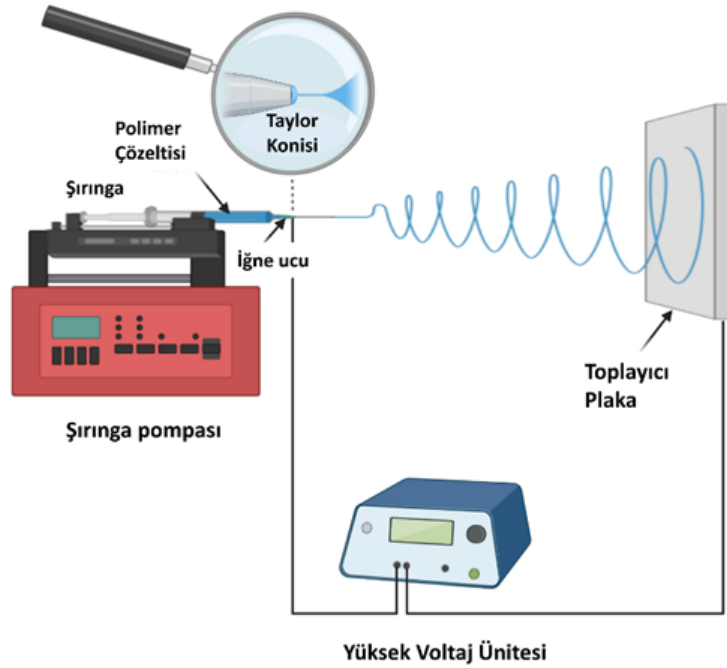
3.2.3.2 Elektriksel İletkenlik

Polimer çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerleri elektriksel iletkenlik cihazı (Jenco-3177, ABD) ile ölçülmüştür.

3.2.4 Elektro-eğirme İşlemiyle Nanoliflerin Üretilmesi

3.2.4.1 Nanoliflerin Karakterizasyonu

Nanolif üretiminde kullanılan laboratuvar ölçekli elektro-eğirme ünitesinin şematik gösterimi Şekil 3.1’de verilmiştir. Elektro-eğirme ünitesi bir iğne (0.8 mm çap), bir alüminyum toplayıcı, bir şırınga pompası ve bir güç kaynağından (Matsusada, 40 kV, Japonya) oluşmaktadır. Nanolifler yağlı kağıt üzerine toplanmıştır.



Şekil 3.2: Laboratuvar ölçekli elektro-eğirme ünitesi

Çalışmamızda nanolif üretimlerinden önce proses parametre optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla farklı koşullarda nanolif üretimleri gerçekleştirilmiştir (EK A). Optimizasyon çalışmaları sonrasında uygun olan koşullar belirlenmiştir. Bu kapsamda 9 adet farklı polimer çözeltilerden, her çözelti için 2 farklı

koşulda nanolif üretimi gerçekleştirilmiştir. Nanolif üretim koşulları Tablo 3.1’de verilmiştir. İşlem parametreleri, polimer çözeltisinin homojen lif oluşturma özelliği dikkate alınarak her bir polimer çözeltisi için optimize edilmiştir. Üretilen nanoliflerin lif morfolojisi, antioksidan aktivite ve antibakteriyel aktivite sonuçları değerlendirilmiştir. Çalışmanın ikinci aşaması için bu nanoliflerden en iyi lif morfolojisine, üretim sürekliliğine, en yüksek antioksidan ve antibakteriyel aktivite içeriğine sahip nanolifler seçilerek %30 oranında ekstrakt yüklenerek üretim gerçekleştirilmiştir.

3.2.5 Morfoloji Analizi

Nanoliflerin yüzey morfolojisi analizleri PAÜ İLTAM tarafından, EDS üniteli Zeiss marka Supra 40 VP model taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile belirlenmiştir. SEM görüntüleri alınmadan önce örnekler %80 altın ve %20 oranında paladyum içeren ince iletken bir tabaka ile kaplanmıştır. Kaplama işlemi görüntü netliğini sağlama amacıyla gerçekleştirilmiştir. Nanoliflerin görüntülenmesi, 10^{-6} torr vakum altında ve 10 kV hızlandırma gerilim kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İletkenliği arttırılan malzemenin görüntüleme işlemleri, 10^{-6} torr vakum altında ve 10 kV hızlandırma gerilimi ile gerçekleştirilmiştir. Nanoliflerin ortalama çap ölçümü “Image J” programı kullanılarak rastgele seçilmiş 100 nanolif üzerinden gerçekleştirilmiştir. Liflerin homojenlik katsayısı Denklem 3 ve Denklem 4 kullanılarak hesaplanmıştır. Nanoliflerin histogram diyagramları ise Origin Pro 9.0 kullanılarak çizilmiştir.

$$A_n = \frac{\sum n_i d_i}{\sum n_i} \quad (3)$$

$$A_w = \frac{\sum n_i d_i^2}{\sum n_i d_i} \quad (4)$$

Burada d_i nanolif çapını ifade ederken, n_i nanolif sayısını ifade etmektedir. $\frac{A_w}{A_n}$ oranı ise lif homojenlik katsayısını vermektedir (Özkal ve diğ. 2020).

Tablo 3.1: Pullulan-peynir altı suyu proteini izolatu çözeltilerinden nanolif eldesi için belirlenen proses koşulları

Çözelti Kodu	Nanolif Kodu	Ekstrakt Türü	Ekstrakt Oranı (% w/w)	Pullulan: Peynir Altı Suyu Proteini İzolatı Oranı (w/w)	Voltaj (kV)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (mL/h)
PN (100:0)	PN 15	-	-	100:0	15	20	0,2
	PN 20				20	15	0,2
%5 KE PN (100:0)	*KE PN 15	Karanfil	%5	100:0	15	20	0,3
	KE PN 20	Ekstraktı			20	15	0,2
%5 ÇAE PN (100:0)	*ÇAE PN 15	Çörekotu Atığı	%5	100:0	15	15	0,3
	ÇAE PN 20	Ekstraktı			20	20	0,3
P/WN (50:50)	P/WN 15	-	-	50:50	15	20	0,2
	P/WN 20				20	15	0,2
%5 KE P/WN (50:50)	KE P/WN 15	Karanfil	%5	50:50	15	20	0,2
	*KE P/WN 20	Ekstraktı			20	15	0,2
%5 ÇAE P/WN (50:50)	*ÇAE P/WN 15	Çörekotu Atığı	%5	50:50	15	15	0,2
	ÇAE P/WN 20	Ekstraktı			20	15	0,5
P/WN (25:75)	P/WN 25	-	-	25:75	15	15	0,6
	P/WN 20				20	15	0,5
%5 KE P/WN (25:75)	KE P/WN 25	Karanfil	%5	25:75	15	15	0,5
	KE P/WN 20	Ekstraktı			20	15	0,6
%5 ÇAE P/WN (25:75)	ÇAE P/WN 25	Çörekotu Atığı	%5	25:75	15	15	0,5
	ÇAE P/WN 20	Ekstraktı			20	15	0,6

* İle işaretli olan koşullar seçilerek polimerin %30 (w/w)'u oranında ekstrakt ilavesiyle tekrar üretilmişlerdir. KE PN 1530, ÇAE PN 1530, KE P/WN 2030, ÇAE P/WN 1530 olarak isimlendirilmişlerdir.

3.2.6 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

Bitkisel ekstraktlar ve polimer olarak kullanılan pullulan ve peynir altı suyu proteini izolatu arasında meydana gelen etkileşimin tespiti için nanoliflerin Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi PAÜ İLTAM tarafından FTIR spektrofotometresi (Thermo Fisher Scientific Nicolet İSFT-IR, ABD) ile ATR tekniği kullanılarak $4000-400\text{ cm}^{-1}$ dalga boyunda 4 cm^{-1} spektral çözünürlükte gerçekleştirilmiştir. Her spektrumda en az 16 tarama yapılmıştır

3.2.7 X- Işını Kırınım Analizi

X-ışını kırınım (XRD) analizleri PAÜ İLTAM tarafından oda sıcaklığında, X-ışını difraktometresi (GNR marka APD PRO 2000, İtalya) ile gerçekleştirilmiştir. Cihazda X-ışını kaynağı olarak Cu K α (1,5406Å) radyasyonu kullanılmıştır. Ölçümler için XRD cihazı 40 kV ve 30 mA'de çalıştırılmıştır. Nanolif örnekleri için tarama aralığı $2\theta= 10-70^\circ$ arasında, toz halindeki örnekler için $2\theta= 5-90^\circ$ arasında, step size 0,1 alınarak ve her açı değeri için 2 saniye entegrasyon süresi kullanılarak ölçüm gerçekleştirilmiştir.

3.2.8 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Analizi

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi nanoliflerin termal özelliklerini belirlemek için PAÜ İLTAM tarafından Synchronous Thermal Analyzer (STA 449 F5 Jupiter, Netzsch, Almanya) cihazı ile 2-3 mg arasında değişen örnek miktarlarıyla 20-600°C arasındaki sıcaklıklarda $5^\circ\text{C}/\text{dk}$ artış hızında nitrojen gazı atmosferinde gerçekleştirilmiştir. Nanolif örneklerinin erime noktası (T_m), bozunma sıcaklığı (T_d) DSC diyagramındaki endotermik ve egzotermik eğrilere göre belirlenmiştir.

3.2.9 Toplam Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan aktivite tayini öncesinde nanolif örnekleri 40°C'lik etüvde (Memmert UN 30 plus, Almanya) 2 saat boyunca kurutulmuşlardır. Kurutulan lif örnekleri 0,1 g, çözelti örnekleri ise 1 g tartılarak üzerine 10 mL saf su ilave edilmiştir. Lif ve çözelti örnekleri çözünene kadar 800 rpm hızındaki manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra 9000 rpm hızda 4°C'de 15 dakika santrifüj edilerek fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite tespitinde kullanılacak ekstraktlar hazırlanmıştır.

Toplam fenolik madde içeriği, Singleton ve diğ. (1999) tarafından belirlenen Folin-Ciocalteu yönteminde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Cam tüp içerisine alınan 300 µL ekstrakt üzerine 1500 µL 1 N Folin-Ciocalteu (1:10 v/v) reaktifi ve 1200 µL %7,5 (w/v) Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra tüpler parafilm ile kapatılarak karışım vortekslenmiştir. Vortekslenen çözeltiler 120 dakika karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletilmişlerdir. Çözeltilerin absorbans değerleri UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu, Japonya) 760 nm dalga boyunda okunmuştur. Örneklerin toplam fenolik madde içerikleri gallik asit eşdeğeri olacak şekilde mg GAE/g kuru madde olarak ifade edilmiştir.

Polimer çözeltileri ve nanoliflerin antioksidan aktivitesi ise; DPPH serbest radikalini indirgeme kapasitesi ilkesine dayanan Thaipong ve diğ. (2006) tarafından ifade edilen DPPH yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemde göre cam tüplere ekstraktlardan 150 µl alınarak üzerine 2850 µl DPPH radikali (1,1 Abs) ilave edilmiştir. Tüpler parafilm ile kapatılıp vortekslenmiştir. Vortekslenen karışımlar oda sıcaklığında, karanlık ortamda 60 dakika süreyle bekletilmiştir. Çözeltilerin absorbans değerleri UV-VIS spektrofotometrede 515 nm dalga boyunda okunmuştur. Örneklerin antioksidan aktivite sonuçları Troloks eşdeğeri olacak şekilde mmol TE/g kuru madde olarak verilmiştir.

3.2.10 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Polimer çözelti ve nanoliflerin antimikrobiyal aktivite analizi Wen ve diğ., 2016'de belirtilen disk difüzyon yönteminde modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite *M. luteus* NCIMB, *E. coli* EC4100, *S. aureus* ATCC29113, *C. albicans* ATCC1023 ve *A. flavus* MAM 200682 indikatör mikroorganizmalarına karşı gerçekleştirilmiştir. *M. luteus* ve *E. coli* LB broth besiyerinde 37°C'de 200 rpm hızdaki çalkalayıcıda (Biosan PSU-10İ) 18 saat boyunca, *S. aureus* TSB broth besiyerinde 37°C'de 18 saat boyunca geliştirilmiştir. *C. albicans* ise YPD broth besiyerinde 25°C'de 48 saat boyunca geliştirilmiştir. Bakteri ve maya süspansiyonlarının optik yoğunlukları (OD) 600 nm dalga boyunda 0,1'e ayarlanmıştır (10^8 kob/mL mikroorganizma içermektedir). Daha sonra tüm bakteri ve maya süspansiyonları 10^7 kob/mL mikroorganizma içerecek şekilde seyreltilmiştir. *A. flavus* için ise; PDA besiyerine inoküle edilen küf 7 gün boyunca 25°C'de geliştirilmiştir. Daha sonra *A. flavus* küf sporu süspansiyonu elde edilmiştir. Thoma lamında hücre sayımı tekniği kullanılarak süspansiyondaki küf sporu adedi belirlenmiştir. Koloniler sayıldıktan sonra istenilen oranda dilüsyonlar hazırlanarak süspansiyondaki küf sporu adedi $3,8 \times 10^7$ spor/mL olarak ayarlanmıştır.

M. luteus ve *E. coli* için LB Agar içeren besiyerine, *S. aureus* için Nutrient Agar içeren besiyerine bakteri süspansiyonlarından, *C. albicans* için ise YPD Agara maya süspansiyonundan, *A. flavus* için ise PDA besiyerine küf süspansiyonundan 100 µl yayma yapılmıştır. Yayma yöntemiyle ekim yapıldıktan sonra petrilere kuruması için yaklaşık 30 dk beklenmiştir. Nanolif örnekleri petrilere yerleştirilmeden önce her iki tarafı 30 dakika, toplamda bir nanolif örneği için 1 saat olacak şekilde UV altında sterilize edilmiştir ve 5 mm çapında 20 mg ağırlığında nanolifler petrilere yerleştirilmiştir. Negatif kontrol olarak ekstrakt içermeyen nanolif örnekleri, pozitif kontrol olarak ise bakteriler için eritromisin (10 µg/mL), maya ve küf örneği için ise siklohegzimit (6 µg/mL) kullanılmıştır. *M. luteus*, *E. coli* ve *S. aureus* suşlarını içeren petrilere 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. *C. albicans* içeren petrilere ise 25 °C'de 48 saat boyunca, *A. flavus* içeren petrilere ise 25°C'de 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmışlardır. Zon çapları Image J programı ile ölçülerek verilmiştir.

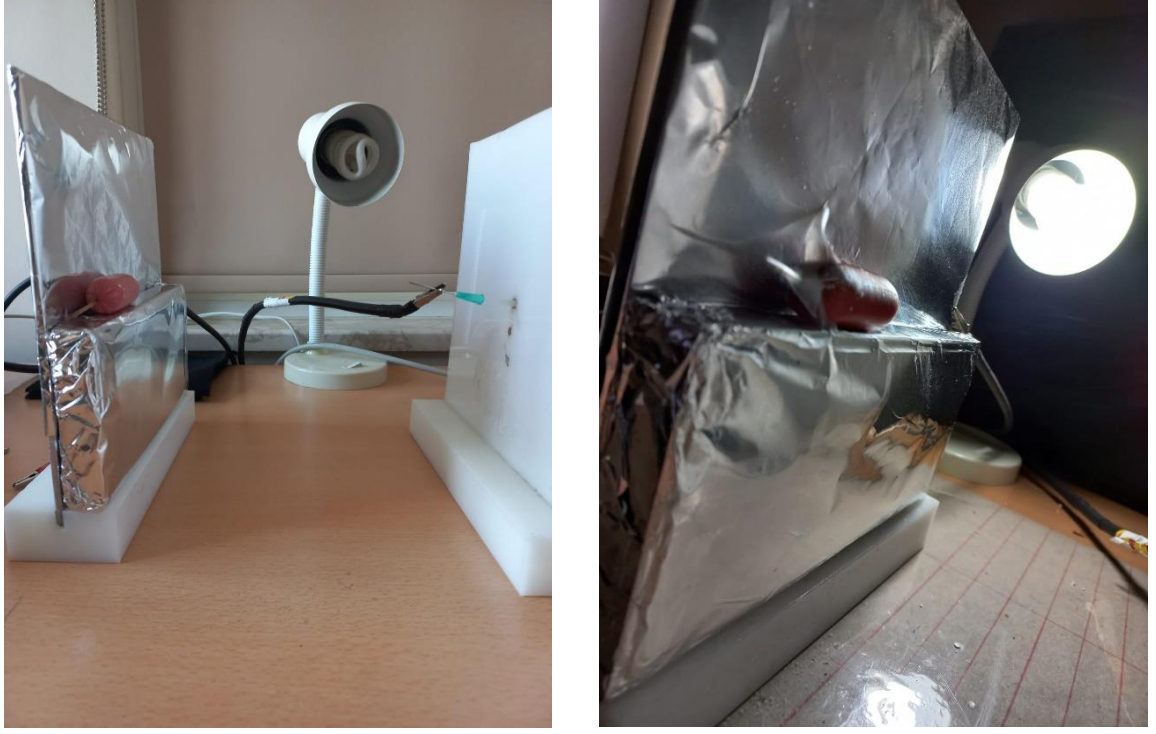
3.2.11 Sosis Örneklerinin Nanolifler ile Kaplanması

Çalışma sırasında elde edilen nanolifler arasından sosis kaplama için en uygun nanolifler seçilmiştir. Seçilen nanoliflere ait üretim koşulları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: Polimerin %30 (w/w)’u oranında ekstrakt içeren nanoliflere ait üretim koşulları

Nanolif Kodu	Kaplama yapılan örnek kodu	Ekstrakt türü	Ekstrakt oranı	Voltaj (kV)	İğne-toplayıcı mesafesi (cm)	Akış hızı (mL/h)
PN 15	PNK	-	-	15	20	0,2
KE PN 1530	%30 KNK	Karanfil	%30	15	20	0,3
ÇAE PN 1530	%30 ÇNK	Çörekotu atığı	%30	15	15	0,3

Sosis örnekleri 4 ayrı gruba ayrılarak nanolif örnekleri ile kaplanmıştır. Bu gruplar K: herhangi bir nanolif ile kaplanmayan grup (kontrol grubu), Pnk: ekstrakt içermeyen pullulan nanolifi ile kaplanmış grup, 30 KNK: polimerin %30’u oranında karanfil ekstraktı içeren pullulan nanolifi ile kaplanan grup, 30 ÇNK: polimerin %30’u oranında çörekotu atığı ekstraktı içeren pullulan nanolifi ile kaplanan grup olacak şekilde belirlenmiştir. Sosis örneklerinin nanolif ile kaplanması Şekil 2.3’te verilen sistemde gerçekleştirilmiştir. Sisteme yerleştirilen örneğin şırıngaya bakan tarafı 15 dakika boyunca nanolif ile kaplandıktan sonra örnek 180 derece döndürülmüş ve diğer tarafı da 15 dakika nanolif ile kaplanmıştır. Bu şekilde bir sosis örneği toplamda 30 dakika boyunca nanolifle kaplama işlemine maruz bırakılmıştır. Örnekler 10 gün boyunca 100 mL’lik steril polipropilen kaplarda (Aromel, Konya) +4°C’de depolanmış ve 0, 1, 4, 7 ve 10. günlerde kalite analizleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3: Sosis örneklerinin nanolifler ile kaplanmasını gösteren görseller

3.2.11.1 Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin pH Değeri

Nanolifler ile kaplanan sosis örneklerinin pH'sını ölçmek amacıyla 10 g örnek tartılarak üzerine 90 mL saf su eklenip homojen hale getirilmiştir. Daha sonra homojen hale gelen bu çözeltinin pH'sı uygun tampon çözeltileriyle (pH=4 ve pH=7) kalibre edilen dijital pH metre (Hanna, ABD) ile oda sıcaklığında ölçülmüştür.

3.2.11.2 Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin Renk Ölçümleri

Nanolifler ile kaplanan sosis örneklerinin renk değerleri ise PCE (Almanya) renk cihazı ile oda sıcaklığında ölçülmüştür. Renk değerleri CIE L* (parlaklık), a* (kırmızılık) ve b* (sarılık) şeklinde ifade edilmiştir.

3.2.11.3 Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin TBARS Değerinin Belirlenmesi

Nanolifler ile kaplanan sosis örneklerinin lipid oksidasyonu son ürünlerinin saptanması amacıyla Witte ve diğ. (1970)'e göre TBARS analizi gerçekleştirilmiştir. 5 g sosis örneği erlene tartıldıktan sonra üzerine 50 mL % 20'lik TCA çözeltisi eklenerek homojenizatörde 2 dakika süreyle parçalanmıştır. Daha sonra karışım üzerine 50 mL su eklenerek 1 dakika daha parçalanmış ve karışım filtre kâğıdı ve huni aracılığıyla 100 mL'lik balon jöjeye aktarılmıştır. Balon jöje 1:1 TCA/Su çözeltisi ilave edilerek 100 mL'ye tamamlanmıştır. Süzüntüden 5 mL alınarak deney tüpüne aktarıldıktan sonra üzerine 5 mL 0,02 M TBA çözeltisi ilave edilmiştir. Bir taraftan da 5 mL 1:1 TCA/Su ve 0,02 M TBA ile kör numune hazırlanarak tüm tüpler vortekslenerek 35 dakika 80°C'deki su banyosunda bekletilmiş ve ölçümler 532 nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Absorbans değerleri 1,1,3,3 tetraetoksipropan kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrisi üzerinden elde edilen 5,2 faktörü ile çarpılarak kg örnekte oluşan mg malonaldehit miktarı hesaplanmıştır.

3.2.11.4 Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin Mikrobiyolojik Kalitesinin Tespiti

Steril koşullarda 10^5 kob/mL düzeyinde *L. monocytogenes* veya *E. coli* içeren solüsyona daldırılan 1 adet sosis örneği 30 s boyunca solüsyon içerisinde bekletilmiştir. Solüsyondan çıkarılan sosis örnekleri laminar kabinde yüzeylerinin kuruması için 5 dakika süre ile bekletilmişlerdir. İnokülasyondan sonra sosis örneklerinin 10^2 kob/mL düzeyinde *L. monocytogenes* DSM2 15675 veya *E. coli* EC4100 içerdiği tespit edilmiştir. İnoküle edilen sosis örnekleri 4 ayrı gruba ayrılarak nanolif örnekleri ile kaplanmıştır. Bu gruplar K: herhangi bir nanolif ile kaplanmayan grup (kontrol grubu), PNK: ekstrakt içermeyen pullulan nanolifi ile kaplanmış grup, 30 KNK: polimerin %30'u oranında karanfil ekstraktı içeren pullulan nanolifi ile kaplanan grup 30 ÇNK: polimerin %30'u oranında çörekotu atığı ekstraktı içeren pullulan nanolifi ile kaplanan grup olacak şekilde belirlenmiştir. Daha sonra sosis örnekleri 10 gün boyunca steril polipropilen kaplarda +4°C'de depolanmış ve 0, 1, 4,

7 ve 10. günlerde mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Her iki bakteri sayımı için 5 g örnek tartılıp üzerine 45 mL serum fizyolojik su ilave edilerek homojen hale getirilmiştir. Her iki bakteri sayımı içinde yayma yöntemi kullanılarak *L. monocytogenes* için *L. monocytogenes selective* besiyerine ekim yapılış 37°C’de 48 saat, *E. coli* için ise Violet Red Bile agar besiyerine ekim yapılıp 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılıştır.

3.2.12 İstatistiksel Analiz

DeneySEL veriler IBM SPSS 26 kullanılarak analiz edilmiştir. Veriler arasındaki farkı ifade etmek için oklu Duncan testi ve iki grup arasında olan karşılaştırmalar için Eşleştirilmiş t-testi kullanılıştır ($p < 0.05$). Tüm analizler 3 tekrar 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SD) şeklinde verilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Polimerin Ağırlıkça %5'i Oranında Bitkisel Ekstrakt İçeren Polimer Çözeltilere ve Nanoliflere Ait Bulgular

Bu bölümde, polimerin ağırlıkça %5'i oranında ekstrakt içeren çözeltilerin viskozite ve elektriksel iletkenlik değerleri ile bu çözeltilerden elde edilen nanoliflerin FTIR, FE-SEM görüntüleme, DSC, XRD, antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktive, toplam fenolik madde içeriği analizlerine ait sonuçlar tartışılmıştır.

4.1.1 Polimer Çözeltilerinin Özellikleri

Polimer çözeltilerinin görünür viskozite ve elektriksel iletkenlik değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir. Polimer çözeltilerinin viskozite değerlerinin 0,05-3,50 Pa.s arasında değiştiği en yüksek viskozite değerine %5 ÇAE PN (100:0) çözeltisinin, en düşük viskozite değerine ise P/WN (25:75) çözeltisinin sahip olduğu tespit edilmiştir. Polimer çözeltilerine peynir altı suyu proteini ilave edilmesiyle çözeltilerin viskozitelerinin azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Drosou ve diğ. (2017) tarafından pullulan ve peynir altı suyu proteini kullanılarak nanolif eldesi gerçekleştirdikleri çalışmanın sonuçları bulgularımızı destekler niteliktedir. PN (100:0) çözeltisi ve PN (100:0) çözeltisine %5 (w/w) oranında karanfil ekstraktı ilave edilmesiyle elde edilen %5 KE PN (100:0) çözeltisinin viskozitesi kıyaslandığında istatistiksel açıdan fark meydana gelmemiştir ($p > 0,05$). PN (100:0) çözeltisine %5 (w/w) oranında çörekotu atığı ekstraktı ilave edilmesiyle elde edilen %5 ÇAE PN (100:0) çözeltisinin viskozitesinde ise PN (100:0) çözeltisine göre artış tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Elektro-eğirme sürecinde çok düşük viskozite değerleri nanolif oluşumunu ve sürekliliğini kısıtlarken, çok yüksek viskozite değerleri ise polimer çözeltisinin şırıngadan tahliyesini zorlaştırmaktadır (Aslaner ve diğ. 2021).

Çalışmamızda kullanılan polimer çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerleri 61-3230 $\mu\text{S cm}^{-1}$ arasında değişmektedir (Tablo 4.1). Elektriksel iletkenlik nanolif oluşumunu etkileyen bir diğer parametredir. Polimer çözeltinin elektriksel iletkenlik değeri, elektro-eğirme düzeneği tarafından uygulanan voltajın oluşturduğu elektrik

alan kuvvetini yenebilecek kadar yüksek olduğunda homojen ve sürekli nanolifler elde edilebilir. Bu nedenle elektriksel iletkenliği olmayan çözeltiler nanolif eldesinde kullanılamaz (Aslaner ve diğ. 2021). Çözeltilerin yapısına peynir altı suyu proteini ve ekstrakt ilavesinin elektriksel iletkenlik değerlerinde artışa neden olduğu belirtilmiştir. Bu da çözeltilerden elde edilen nanoliflerin çapında azalma meydana gelmesinin nedenlerinden biridir. Drosou ve diğ. (2017) çözeltilerin viskozitelerinde meydana gelen artışın genel olarak lif çapında artışa sebep olduğunu aynı zamanda elektriksel iletkenlik katsayılarında meydana gelen artışın lif çapında azalma meydana getirdiğini belirtmiştir.

Tablo 4.1: Polimer çözeltisi ve nanoliflerin özellikleri

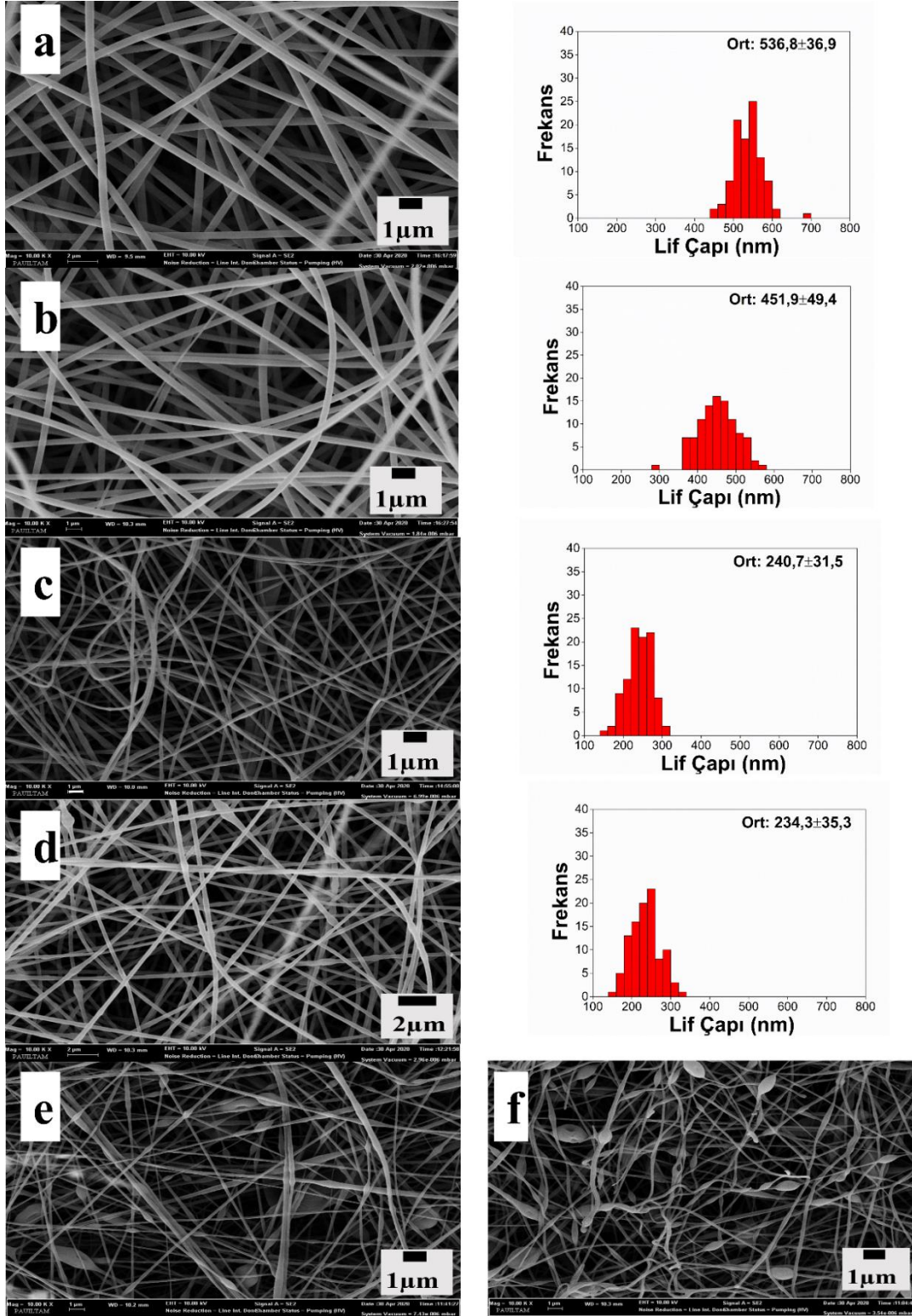
Çözelti Kodu	Polimer Çözelti Özellikleri		Nanolif Kodu	Nanolif Özellikleri		
	Görünür Viskozite (Pa.s)	Elektriksel İletkenlik ($\mu\text{S cm}^{-1}$)		Nanolif Çapı (nm)	Nanolif Homojenlik Katsayısı	Nanolif Morfolojisi
PN (100:0)	2,88±0,39 ^b	61±0,17 ^a	PN 15 PN 20	536,8±36,9 ^b 478,3±39,6 ^c	1,005 1,007	Pürüzsüz
%5 KE PN (100:0)	3,21±0,16 ^{ab}	385±0,81 ^b	KE PN 15 KE PN 20	451,9±49,4 ^d 391,8±40,8 ^f	1,011 1,010	Pürüzsüz
%5 ÇAE PN (100:0)	3,50±0,69 ^a	242±1,15 ^c	ÇAE PN 15 ÇAE PN 20	600,4 ±76,4 ^a 439,7±50,3 ^e	1,016 1,012	Pürüzsüz
P/WN (50:50)	0,30±0,007 ^c	2090±33,6 ^d	P/WN 15 P/WN 20	240,7±31,7 ^h 223,5±37,9 ^{ij}	1,017 1,028	Pürüzsüz
%5 KE P/WN (50:50)	0,33±0,009 ^c	2268±5,00 ^e	KE P/WN 15 KE P/WN 20	234,3±35,4 ^{hi} 215,7±34,5 ^j	1,025 1,022	Pürüzsüz
%5 ÇAE P/WN (50:50)	0,28±0,001 ^c	2037±15,0 ^f	ÇAE P/WN 15 ÇAE P/WN 20	257,7±42,4 ^g 167,7±26,8 ^k	1,025 1,026	Pürüzsüz
P/WN (25:75)	0,05±0,006 ^c	2835±23,8 ^g	P/WN 25 15 P/WN 25 20	-	-	Boncuklu
%5 KE P/WN (25:75)	0,06±0,003 ^c	3230±16,3 ^h	KE P/WN 25 15 KE P/WN 25 20	-	-	Boncuklu
%5 ÇAE P/WN (25:75)	0,06±0,001 ^c	3120±17,3 ⁱ	ÇAE P/WN 25 15 ÇAE P/WN 25 20	-	-	Boncuklu

Aynı sütunda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

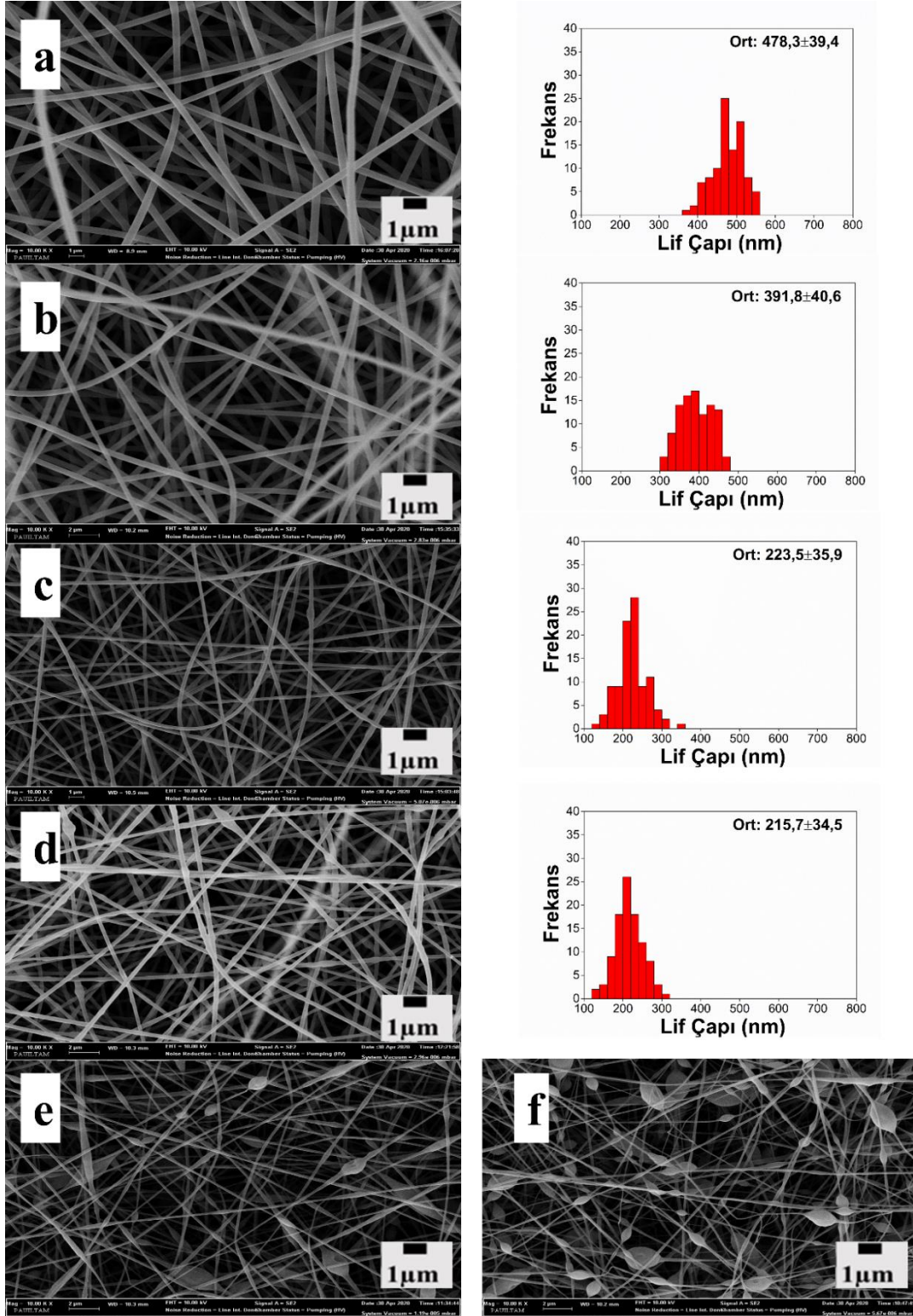
4.1.2 Nanoliflerin Morfolojisi

Çalışmamızda üretilen nanoliflerin özellikleri (nanolif çapı, homojenlik katsayısı, nanolif morfolojisi) Tablo 4.1’de, FESEM görüntüleri ve histogramları ise Şekil 4.1-4.4’te verilmiştir. Elde edilen nanoliflerin çapları 167,7-600,4 nm arasında, homojenlik katsayıları ise 1,005-1,028 arasında değişmektedir. PN (100:0) çözeltisinden iki ayrı koşulda çalışılarak PN 15 ve PN 20 olmak üzere iki farklı pürüzsüz nanolif elde edilmiştir. Elde edilen nanoliflerin çapları sırasıyla 536,8 ve 478,3 nm olarak tespit edilirken, nanolif homojenlik katsayıları ise sırasıyla 1,005 ve 1,007 olarak tespit edilmiştir. Nanolifler elde edilirken uygulan güç artırılıp aradaki mesafe azaltılmıştır. Üretim parametrelerindeki bu değişiklik nanolif çapının azalmasına neden olmuştur. Beacley ve Wen (2009) tarafından polikaprolakton, Pise ve diğ. (2013) tarafından poliviniliden florür ve Shao ve diğ. (2018) tarafından pullulan-karboksimetilselüloz sodyum ile yapılan çalışmalarda artan voltaj değerinin nanolif çapında azalma meydana getirdiği tespit edilmiştir. Wang ve diğ. (2019) ise pullulan-jelatin üzerine yaptıkları çalışmada toplayıcı-iğne ucu arasındaki mesafe azaldıkça nanolif çapının azaldığını tespit etmişlerdir. %5 oranında karanfil ekstraktı ilave edilen %5 KE PN (100:0) çözeltisinden de iki ayrı koşulda çalışılarak KE PN 15 ve KE PN 20 nanolifleri pürüzsüz olarak elde edilmiştir. Elde edilen nanoliflerin lif çapları sırasıyla 451,9 ve 391,8 nm iken, homojenlik katsayıları ise sırasıyla 1,011 ve 1,010 olarak belirlenmiştir. Elde edilen nanoliflerin nanolif çapında meydana gelen azalmanın, çözelti yapısına karanfil ekstraktı ilave edilmesiyle elektriksel iletkenlik değerinde meydana gelen dramatik artış ve voltaj artışının kombine etkisiyle gerçekleştiği düşünülmektedir. Polimer çözeltilerin elektriksel iletkenliği nanoliflerin morfolojisini ve lif çapını etkilemektedir (Coin-Orozco ve diğ. 2015). Ibrahim ve Klingner (2020) polimer çözeltilerinin elektriksel iletkenliğinde ve elektro-eğirme düzeneğinin voltajında meydana gelen artışın nanolif çapında azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. %5 oranında çörekotu atığı ekstraktı ilave edilerek üretilen %5 ÇAE PN (100:0) çözeltisinden de iki ayrı koşulda çalışılarak ÇAE PN 15 ve ÇAE PN 20 nanolifleri elde edilmiştir. Elde edilen nanoliflerin nanolif çapları sırasıyla 600,4 ve 439,7 nm homojenlik katsayıları ise sırasıyla 1,016 ve 1,012 olarak tespit edilmiştir. Nanoliflerin çapında meydana gelen azalmanın nedenleri olarak elektro-eğirme düzeneğinde uygulanan güç ve toplayıcı ile iğne ucu arasındaki mesafenin arttırılmasının kombine etkisi olduğu düşünülmektedir.



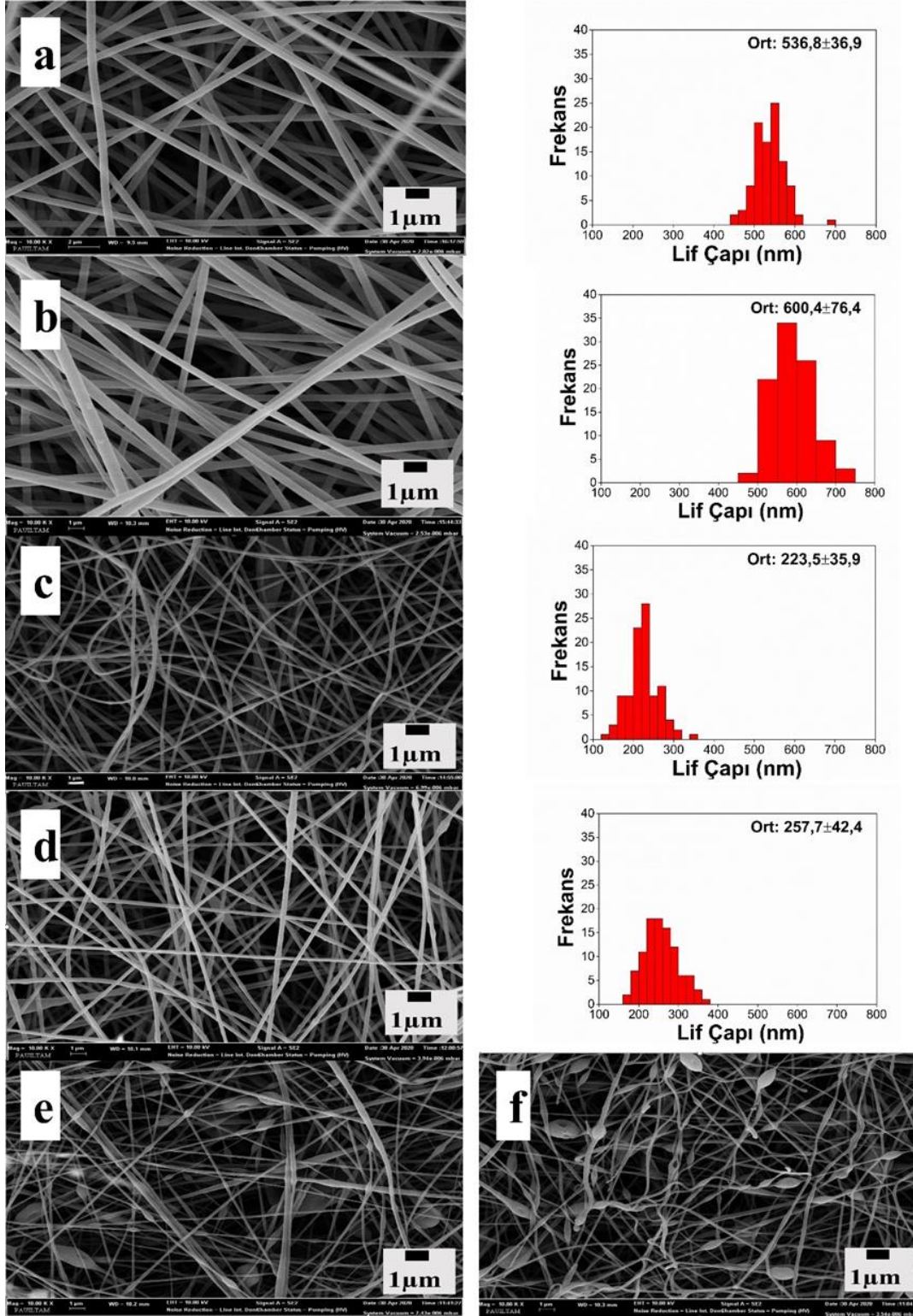
Şekil 4.1: Karanfil ekstraktı içeren bazı nanoliflerin ortalama lif çapı ile FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları a: PN 15 b: KE PN 15 c: P/WN 15 d: KE P/WN 15 e: P/WN 25 15 f: KE P/WN 25 15
(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

Çalışmamızda ayrıca 50:50 w/w ve 25:75 w/w oranlarında pullulan ve peyniraltı suyu proteini kullanılarak hazırlanan çözeltilerden farklı koşullarda nanolif üretimi gerçekleştirilmiştir. Peynir altı suyu proteininin çözeltilerin yapısına dahil edilmesiyle elde edilen nanoliflerin özellikleri (nanolif çapı, homojenlik katsayısı, nanolif morfolojisi) değişmiştir (Tablo 4.1, Şekil 4.1-Şekil 4.4). P/WN (50:50) çözeltisinden iki farklı koşulda çalışılarak elde edilen P/WN 15 ve P/WN 20 nanoliflerin çapları sırasıyla 240,7 ve 223,5 nm olarak tespit edilirken, nanolif homojenlik katsayıları ise sırasıyla 1,017 ve 1,028 olarak tespit edilmiştir. Çözeltilerin yapısına peynir altı suyu proteini ilave edilmesiyle çözeltilerin sadece pullulan içeren polimer çözeltilere göre vizkozite değerlerinde azalma, elektriksel iletkenlik değerlerinde ise artış görülmüştür. Bu nedenle pullulan: peyniraltı suyu (50:50 w/w) kullanılarak üretilen nanolifler yapısında peynir altı suyu proteini barındırmayan nanoliflere göre daha düşük lif çapına sahiptirler ($p < 0,05$). Zeng ve diğ. (2013) tarafından polilaktik asit üzerine yaptıkları bir çalışmada polimer çözelti viskozitesindeki azalma ve elektriksel iletkenliğindeki artışın daha ince nanolif oluşumuna neden olduğu belirtilmektedir. Ayrıca Xu ve diğ. (2022) polivinil alkol ve pektin karışımı üzerine yaptıkları bir başka çalışmada polimer çözeltinin elektriksel iletkenliğindeki artışın lif çapında azalmaya neden olduğunu ifade etmişlerdir. %5 oranında karanfil ekstraktı ilave edilen %5 KE P/WN (50:50) çözeltisinden iki ayrı koşulda çalışılarak KE P/WN 15 ve KE P/WN 20 nanolifleri elde edilmiştir. Elde edilen nanoliflerin lif çapları sırasıyla 234,3 ve 215,7 nm olarak tespit edilmiştir. Ayrıca KE P/WN 15 nanolifinin homojenlik katsayısı 1,025 iken KE P/WN 20 nanolifinin homojenlik katsayısı ise 1,022 olarak belirlenmiştir. Aynı çözeltiden elde edilen bu nanoliflerin lif çapları arasında meydana gelen farkın KE P/WN 20 nanolifini üretirken kullanılan voltajın KE P/WN 15 nanolifini elde ederken kullanılan voltajdan yüksek, şırınga-toplayıcı arasındaki mesafenin ise daha düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapısına %5 oranında çörekotu atığı ekstraktı ilave edilen %5 ÇAE P/WN (50:50) çözeltisinden elde edilen ÇAE P/WN 15, ÇAE P/WN 20 nanoliflerinin lif çapları sırasıyla 257,7 ve 167,7 nm olarak belirlenirken, homojenlik katsayıları ise 1,025 ve 1,026 olarak belirlenmiştir.

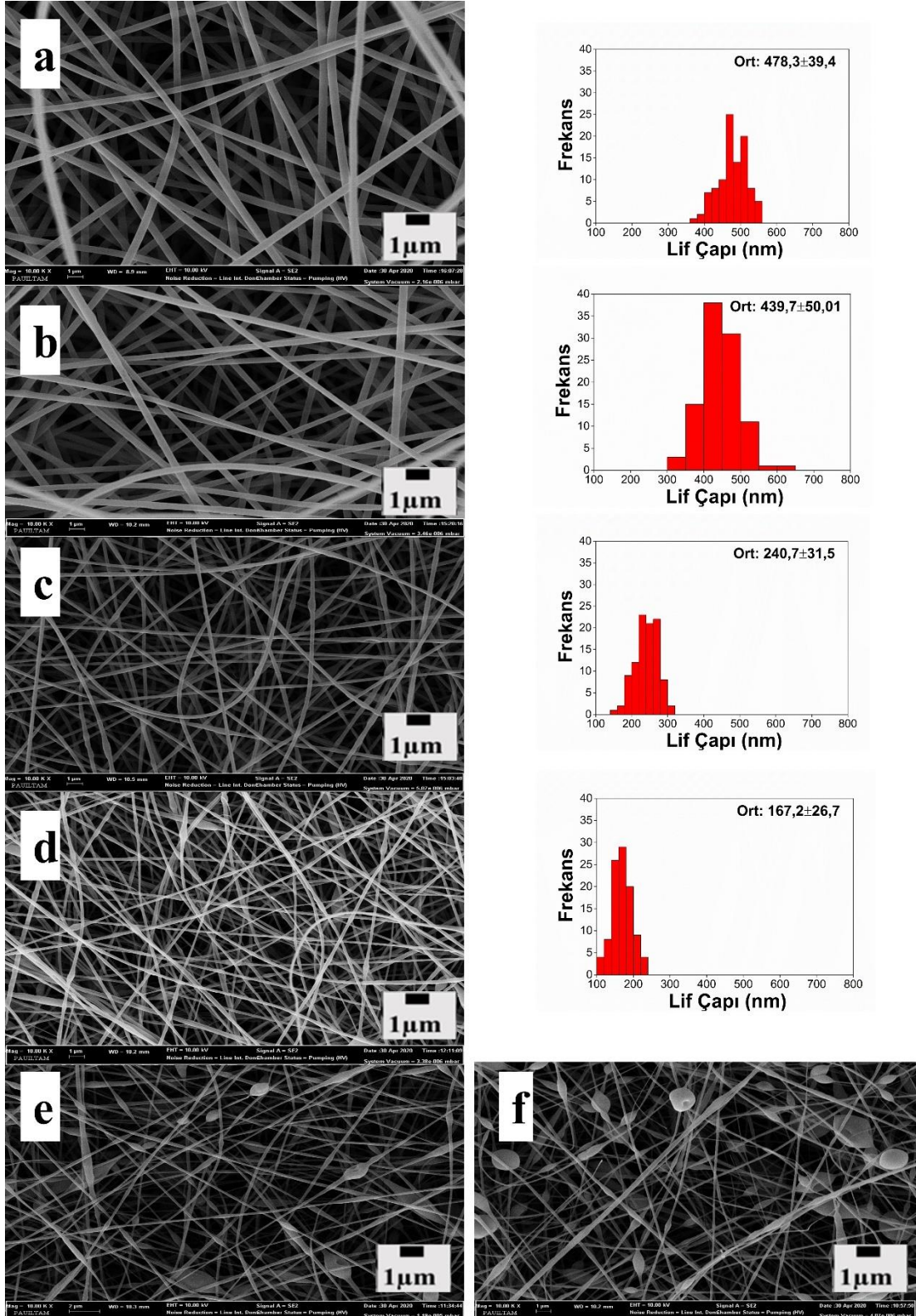


Şekil 4.2: Karanfil ekstraktı içeren bazı nanoliflerin ortalama lif çapı ile FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları a: PN 20 b: KE PN 20 c: P/WN 20 d: KE P/WN 20 e: P/WN 25 20 f: KE P/WN 25 20
(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

Homojenlik katsayı değeri 1'e yaklaştıkça nanoliflerin homojenliği artmaktadır (Özkal ve diğ. 2019, Çallıoğlu ve diğ. 2020). Bu durumda en homojen nanolifin PN 15 nanolifi olduğu homojenlik durumu en kötü olan nanolifin ise P/WN 15 nanolifi olduğu ifade edilebilir. 25:75 w/w oranlarında pullulan ve peyniraltı suyu proteini kullanılarak hazırlanan çözeltilerden ise boncuklu yapıya sahip nanolif eldesi gerçekleştirilmiştir. Liflerin yapısına peynir altı suyu proteini ilave edilmesiyle birlikte homojenlik katsayısı artarken, çözelti içeriğindeki peynir altı suyu proteini belli bir oranı aştığında ise lif morfolojisinde bozulmalar meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.1-4.4). Bunun nedeni peynir altı suyu proteininin de diğer tüm proteinler gibi küresel bir yapıya sahip olması ve peynir altı suyu proteininde yeterli iç içe geçme ve zincirler arası bağların olmamasıdır. Bu nedenle, elektro-eğirme sürecinde tek başına peynir altı suyu proteininin sulu çözeltilerini kullanmak mümkün değildir. Optimum bir elektro-eğirme işlemi ve pürüzsüz nanoliflerin elde edilebilmesi için polimer çözeltilisine uygun bir karbonhidrat polimeri eklenmelidir (Drosou ve diğ. 2018).



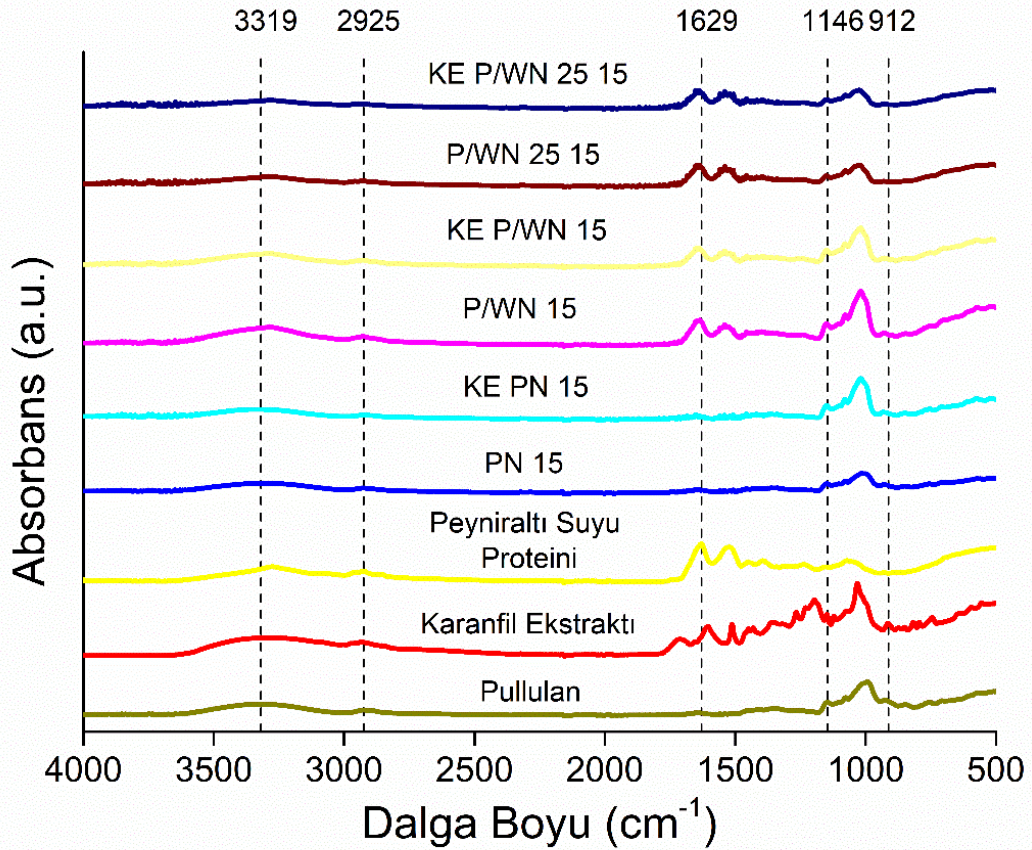
Şekil 4.3: Çörekotu atığı ekstraktı içeren bazı nanoliflerin ortalama lif çapı ile FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları a: PN 15 b: ÇAE PN 15 c: P/WN 15 d: ÇAE P/WN 15 e: P/WN 25 15 f: ÇAE P/WN 25 15 (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)



Şekil 4.4: Çörekotu atığı ekstraktı içeren bazı nanoliflerin ortalama lif çapı ile FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları a: PN 20 b: ÇAE PN 20 c: P/WN 20 d: ÇAE P/WN 20 e: P/WN 25 20 f: ÇAE P/WN 25 20 (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

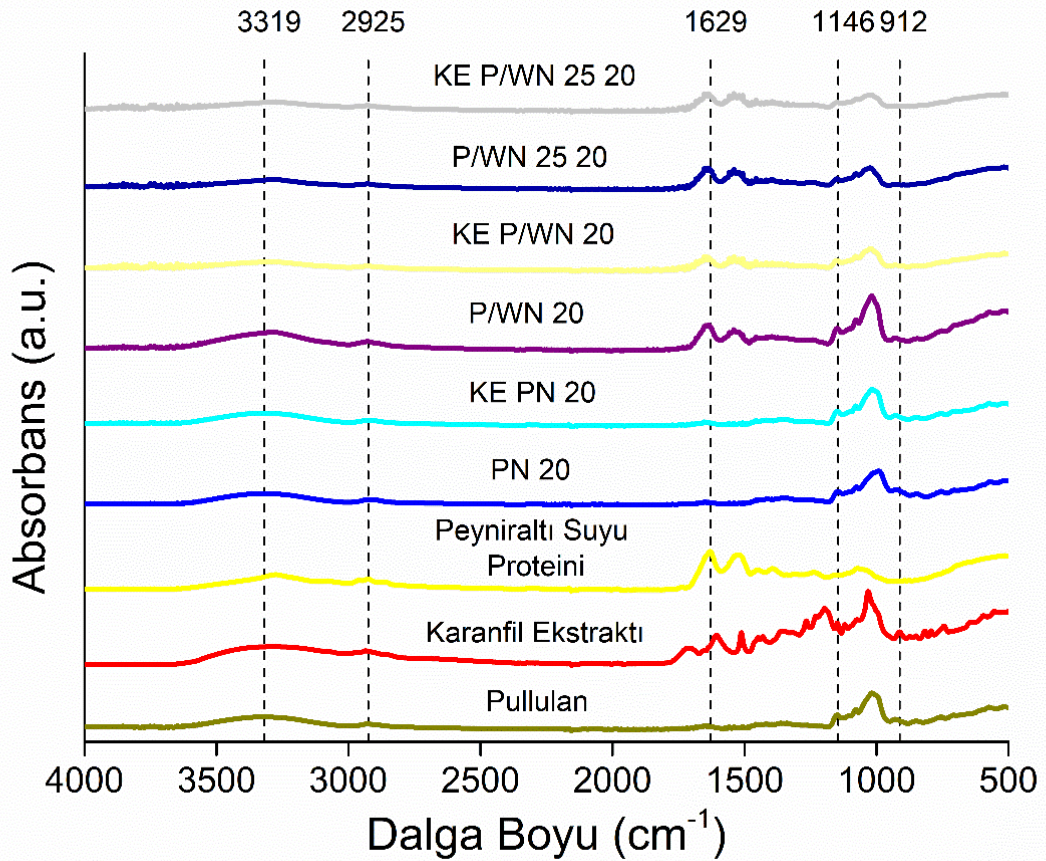
4.1.3 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

Pullulan polimerine ait FTIR spektrumları incelendiğinde; 3319, 2925, 1653, 1418, 1339, 1146, 1076, 927, 848, 753, 567, 510 cm^{-1} pullulan karakteristik bantları görülmektedir (Şekil 4.5-4.8). Spektrumlar diğer çalışmalarla uyum içerisindedir (Drosou ve diğ. 2018). Pullulan polimeri için 3319 cm^{-1} 'deki pik noktası O-H titreşimini 2925 cm^{-1} civarındaki titreşim ise C-H bağ yapısını temsil etmektedir. 1200-1030 cm^{-1} arasındaki titreşimler ise C-O bağlarını temsil etmektedir. 1146 cm^{-1} 'deki adsorpsiyon bandı 1-4 glikozidik bağ ile ilişkilendirilmektedir. 848 ve 927 cm^{-1} 'deki titreşimler ise sırasıyla α -glukopiranozil birimlerini ve α -1-6 glikozidik bağları ifade etmektedir (Islam ve Yeum, 2013, Qin ve diğ. 2019, Poudel ve diğ. 2020).

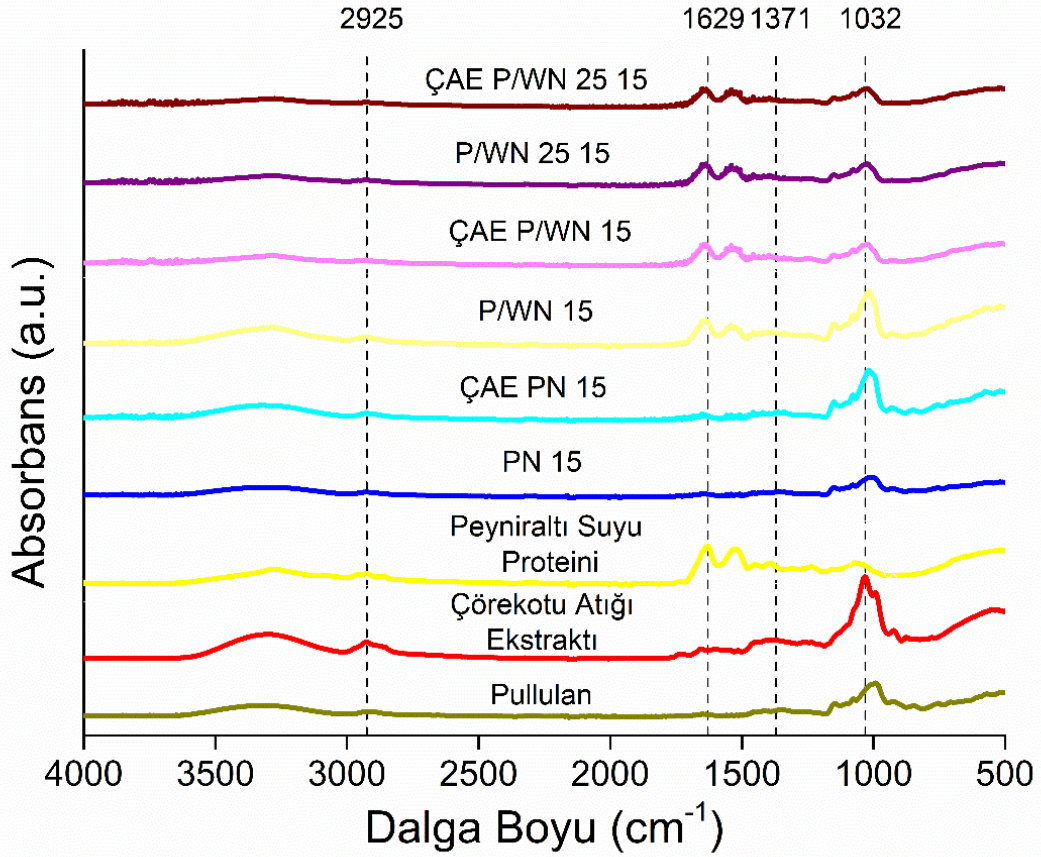


Şekil 4.5: Pullulan, peynir altı suyu, karanfil ekstraktı ve PN 15, KE PN 15, P/WN 15, KE P/WN 15, P/WN 25 15, KE P/WN 25 15 nanoliflerine ait FTIR spektrumları (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

Peynir altı suyu proteininin FTIR spektrumları incelendiğinde ise; 3273, 2925, 1629, 1521, 1447, 1394, 1311, 1238, 1153, 1072, 514 cm^{-1} peynir altı suyu proteinine ait karakteristik bantlar görülmektedir (Şekil 4.5-4.8). Spektrumlar diğer çalışmalarla uyum içerisinde (Drosou ve diğ. 2018). Peynir altı suyu proteini spektrumunda ise 3273 cm^{-1} 'deki maksimum titreşim N-H gerilme bandına aittir. 1629 ve 1238 cm^{-1} 'deki pikler ise sırasıyla peynir altı suyu proteini için karakteristik olan Amid I ve Amid II titreşimlerini göstermektedir. Amid I titreşimi esas olarak C=O gerilme titreşiminden kaynaklanır ve kızılötesi spektroskopi ile proteinlerin ikincil yapısını belirlemek için kullanılır. Amid II titreşimi, Amid I'den çok daha az protein konformasyonel duyarlılığı gösteren NH bükülme ve CN gerilme titreşiminin kombinasyonudur (Moktari ve diğ. 2021, Shen ve diğ. 2021).



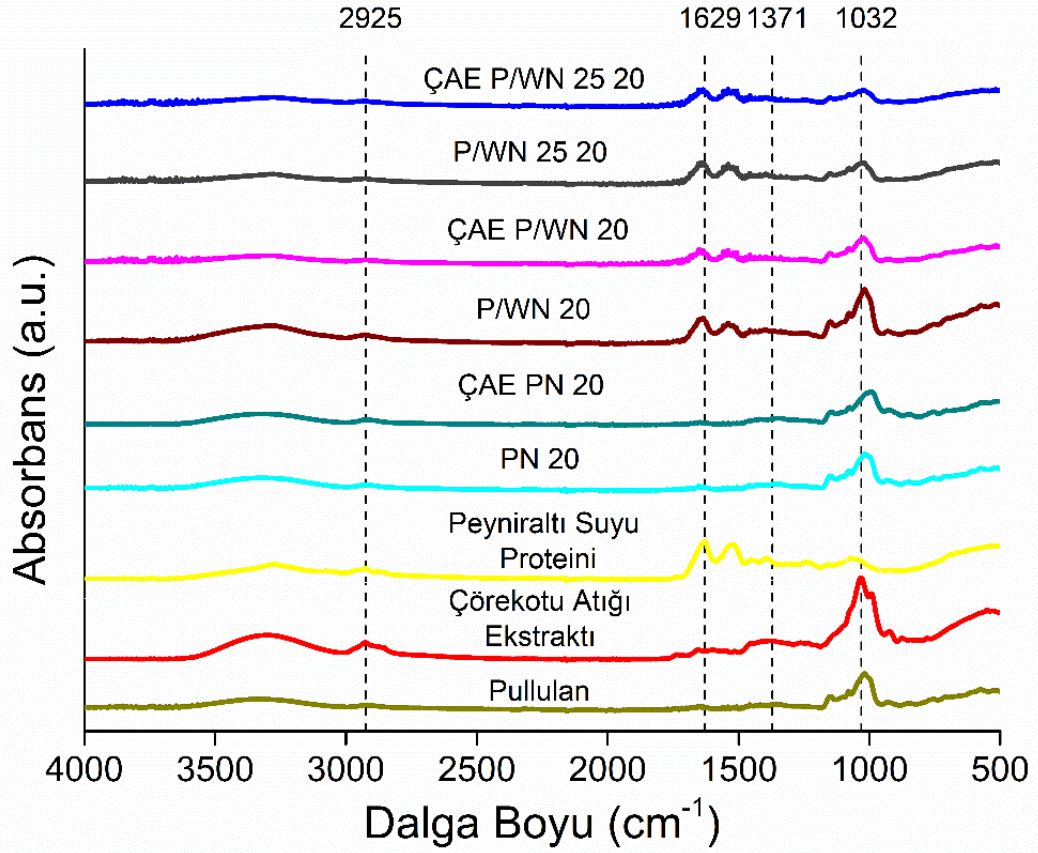
Şekil 4.6: Pullulan, peynir altı suyu, karanfil ekstraktı ve PN 20, KE PN 20, P/WN 20, KE P/WN 20, P/WN 25 20, KE P/WN 25 20 nanoliflerine ait FTIR spektrumları (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)



Şekil 4.7: Pullulan, peynir altı suyu, çörekotu atığı ekstraktı ve PN 15, ÇAE PN 15, P/WN 15, ÇAE P/WN 15, P/WN 25 15, ÇAE P/WN 25 15 nanoliflerine ait FTIR spektrumları

(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

Karanfil ekstraktının FTIR spektrumları incelendiğinde; 3289, 2934, 1716, 1605, 1512, 1431, 1351, 1266, 1148, 1120, 912, 873, 849, 816, 793, 745, 595, 555 cm⁻¹ karanfil ekstraktına ait karakteristik bantlar görülmektedir (Şekil 4.5 ve 4.6). FTIR spektrumları Parlinska Wojtan ve diğ. (2017) tarafından yapılan karanfil ekstraktı kullanılarak gümüş nanopartiküller üretildiği çalışma ile benzerlik göstermektedir. Karanfil ekstraktı spektrumundaki 3289 cm⁻¹'deki titreşim O-H gerilmesine aittir. Bu titreşim karanfilin yapısındaki öjenol ile ilişkilendirilmektedir. 555-745 cm⁻¹ arasında görülen bantlar R-CH grubunun varlığını göstermektedir. 912 cm⁻¹'deki titreşim ise karboksilik asit türevlerini ifade eden C-O bağı temsil etmektedir (Parlinska-Wojtan ve diğ. 2017; Nisar ve diğ. 2018).



Şekil 4.8: Pullulan, peynir altı suyu, çörekotu atığı ekstraktı ve PN 20, ÇAE PN 20, P/WN 20, ÇAE P/WN 20, P/WN 25 20, ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerine ait FTIR spektrumları

(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

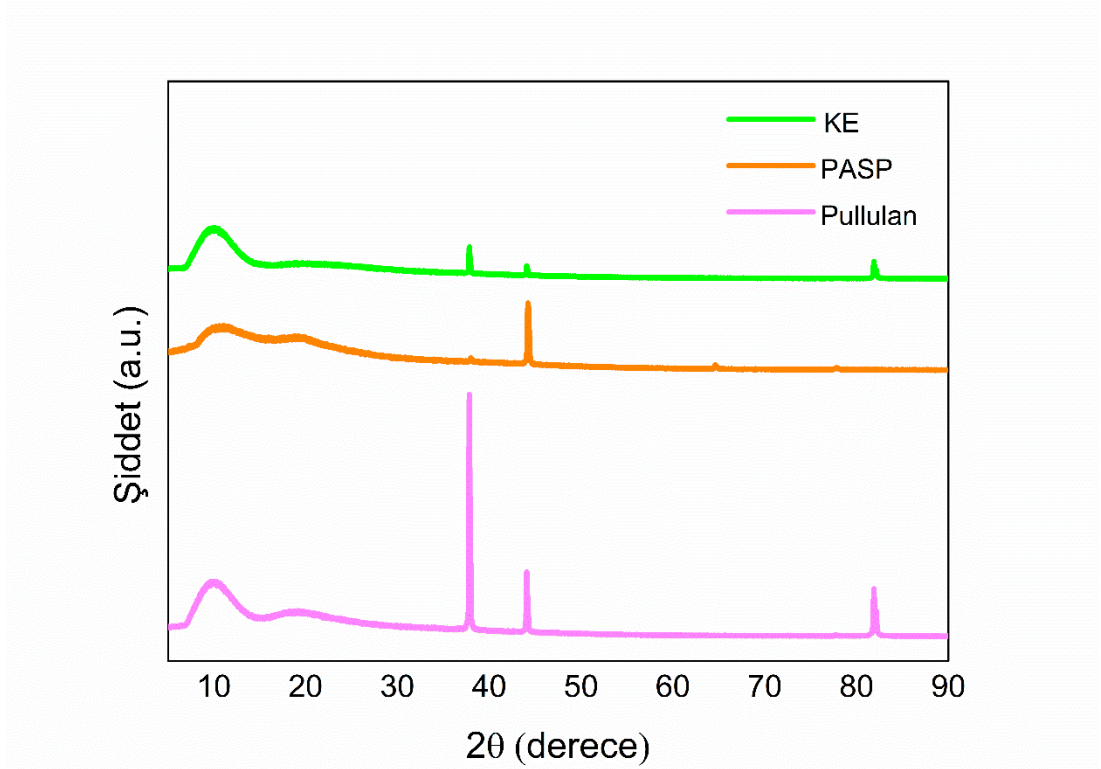
Çörekotu atığı ekstraktına ait FTIR spektrumları incelendiğinde ise; 3298, 2925, 1653, 1601, 1515, 1374, 1263, 992, 923, 876, 548 cm^{-1} çörekotu ekstraktına ait karakteristik bantlar görülmektedir (Şekil 4.7 ve 4.8). Çörekotuna ait spektrumlar çörekotu yağının kullanıldığı Suri ve diğ. (2019) ve Trigui ve diğ. (2018) tarafından yapılan çalışmalarla uyum içerisindedir. 3298 cm^{-1} 'deki tepe noktası cis-olefinik çift bağların simetrik C-H esneme titreşimini temsil eder. 2925 cm^{-1} 'de keskin tepe alifatik CH_2 trigliserit gruplarının C-H bağlarının asimetrik gerilme titreşimi ile ilişkilidir. 1651 cm^{-1} 'de pik cis-olefinlerin C=C germe titreşimiyle ilgilidir.

1371 cm⁻¹'de pik ise trigliseridlerin CH₂ gruplarının C-H bağlarının simetrik bükülme titreşimini temsil eder (Suri ve diğ. 2019).

Çalışmamızda elde ettiğimiz nanoliflerin FTIR spektrumlarında pullulan, karanfil, çörekotu atığı ve peynir altı suyu proteine ait karakteristik pikler görülmektedir. Bu da üretilen nanoliflerde karanfil ekstraktı ve kullanılan biopolimerlerin iyi bir etkileşim içerisinde olduğunu göstermektedir.

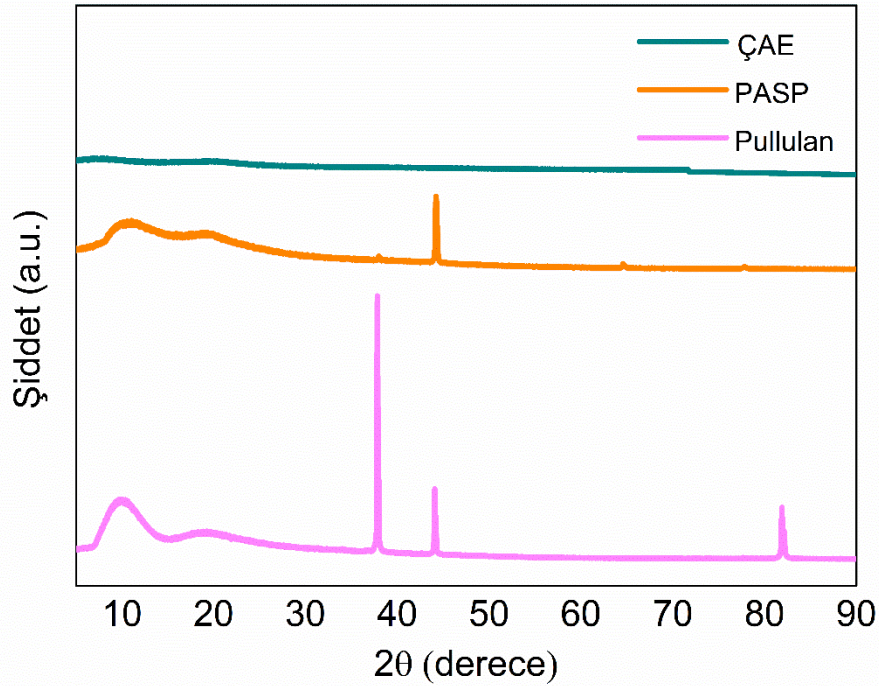
4.1.4 X-Işını Kırınım Analizi Sonuçları

Pullulan polimeri XRD grafiğinde 37, 8 °'de kuvvetli ve sivri, 44 °'de ise zayıf fakat sivri bir pik vermektedir (Şekil 4.9 ve 4.10). Pullulan polimerine ait piklerin sivri olması pullulan polimerinin kristal yapıda olduğunu göstergesidir (Jung ve diğ. 2003).



Şekil 4.9: Pullulan, peynir altı suyu proteini (PASP) ve karanfil ekstraktına (KE) ait X-ışını kırınım grafiği
(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

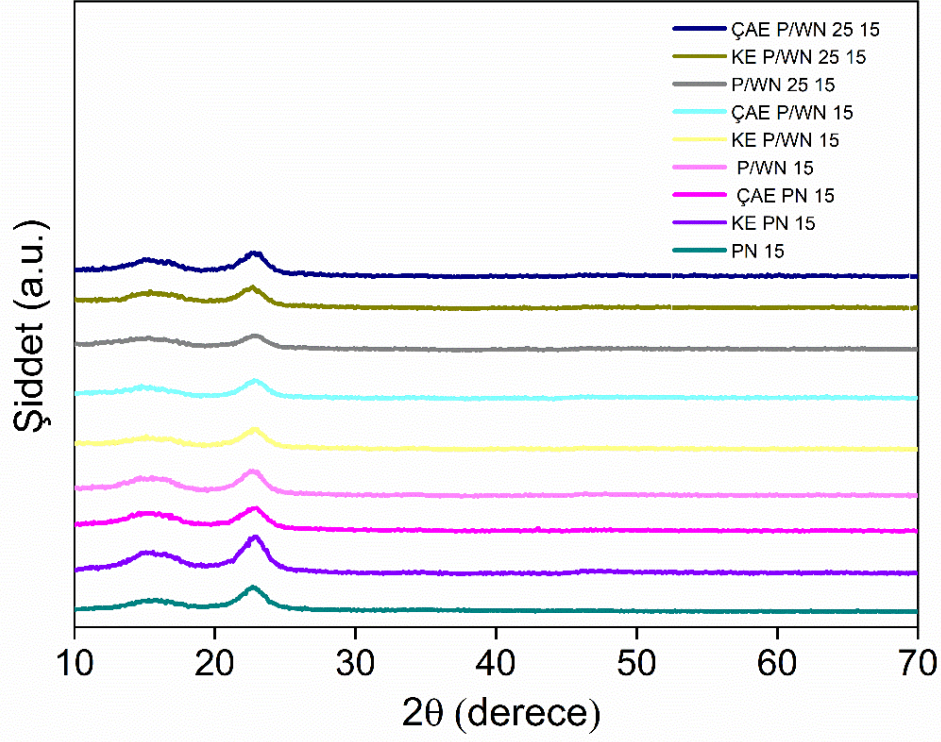
Peynir altı suyu proteini XRD grafiğinde 11 °de zayıf ve geniş 44 °de ise sivri ve kuvvetli bir pik vermektedir (Şekil 4.9 ve 4.10). XRD grafiğinde keskin ve kuvvetli pikler vermesi peynir altı suyu proteinin kristal yapıda olduğunu göstermektedir (Li ve diğ. 2012). Karanfil ekstraktı, 10,5 °de geniş ve şiddetli 37,8 °de ise sivri fakat daha az şiddetli pikler vermektedir (Şekil 4.9). Karanfil ekstraktının XRD grafiğinde şiddetli pikler göstermesi kristal yapıda olduğunu ifade etmektedir (Li ve diğ. 2012).



Şekil 4.10: Pullulan, peynir altı suyu proteini (PASP) ve çörekotu atığı ekstraktına (ÇAE) ait X-ışını kırınım grafiği
(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

Çörekotu atığı ekstraktı ise XRD grafiğinde 8 °de şiddetli ve geniş 20 °de şiddetli ve geniş pikler göstermektedir (Şekil 4.10). Bu da çörekotu atığının amorf yapıda olduğunu göstermektedir (Yılmaz, 2019; Aslan, 2021).

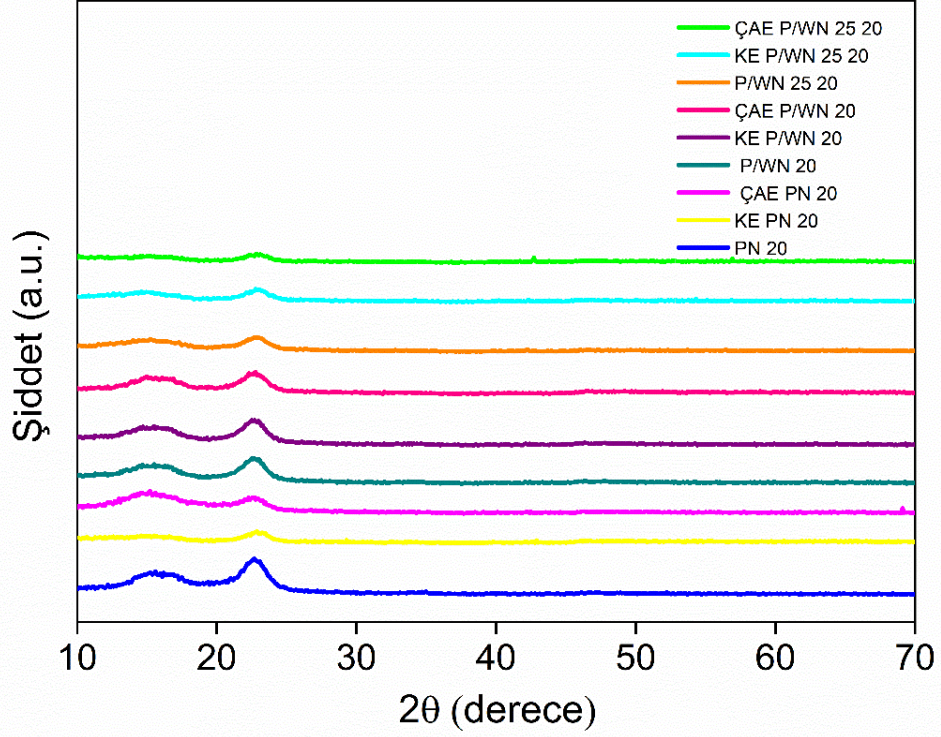
Elde edilen nanolifler ise yaklaşık 16 °de geniş fakat zayıf 23 °de ise geniş fakat kuvvetli pikler göstermektedirler (Şekil 4.11 ve 4.12). Pullulan ve peynir altı suyu proteini ile elde edilen ekstraktlı ya da ekstraksız nanoliflerin amorf yapıda olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.11: PN 15, KE PN 15, ÇAE PN 15, P/WN 15, KE P/WN 15, ÇAE P/WN 15, P/WN 25 15, KE P/WN 25 15, ÇAE P/WN 25 15 nanoliflerine ait X-ışını kırınım grafiği

(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

Wang ve Ziegler (2019), Yang ve diğ. (2020) ve Qin ve diğ. (2019) tarafından yapılan çalışmalarda da pullulandan elde edilen nanoliflerin, Seethu ve diğ. (2020) tarafından yapılan çalışmada ise pullulan ve peynir altı suyu proteininin karışımından elde edilen nanoliflerin de amorf yapıda oldukları tespit edilmiştir.



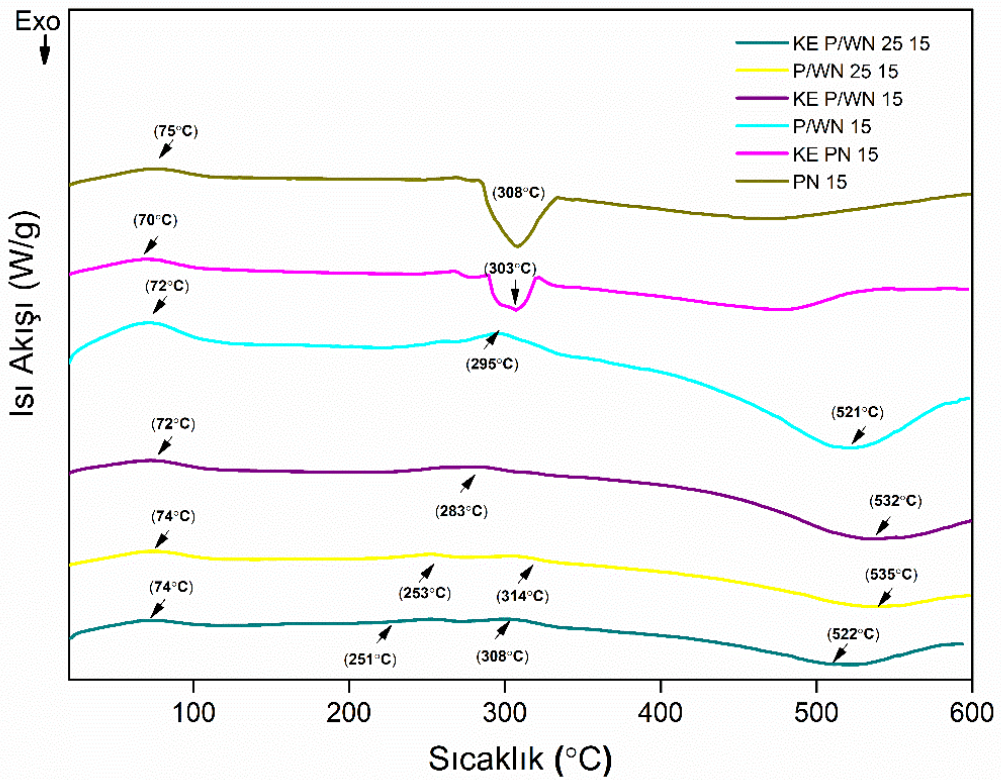
Şekil 4.12: PN 20, KE PN 20, ÇAE PN 20, P/WN 20, KE P/WN 20, ÇAE P/WN 20, P/WN 25 20, KE P/WN 25 20, ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerine ait X-ışını kırınım grafiği

(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

4.1.5 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Analizi Sonuçları

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizleri nanolif örneklerinin termal özelliklerini belirlemek, polimer maddeler ile bitkisel ekstraktların etkileşimi ve elde edilen nanoliflerin stabilitesini daha iyi anlamak için gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.13'te görülen DSC diyagramına göre pullulan, peynir altı suyu proteini ve karanfil ekstraktından elde edilen bütün nanoliflerin endotermik ve ekzotermik ısı davranışı gösterdiği tespit edilmiştir. PN 15 nanolifinin 75°C'de erimeye başladığı 308,1°C'de ise bozunduğu tespit edilmiştir. %5 (w/w) oranında karanfil ekstraktı içeren KE PN 15 nanolifi 70,7°C'de erimeye başladığı 303,8°C'de ise bozunduğu tespit edilmiştir. Yang ve diğ. (2020) tarafından yapılan çalışmada pullulan nanolifine ait bozunma sıcaklığı 305,2°C olarak belirlenmiştir. Hill ve diğ. (2013) tarafından yapılan bir

çalışmada ise beta-silodekstrin ile kaplanmış karanfil ekstraktının 300°C civarında ekzotermik pik gösterdiği belirtilmiştir. Bu piklerin öjenolün hidrolizi veya oksidasyonu sonucunda oluştuğu belirtilmiştir. Çörekotu atığı ekstraktı içeren ÇAE PN 15 nanolifinin endotermik bir ısı davranışı gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.14). Sonuçlar literatürle benzerlik göstermektedir (Kadam ve diğ. 2018, Ghamari ve diğ. 2021). Grafiğe göre ÇAE PN 15 nanolifi 73,5°C’de erimeye başlarken 302,6°C’de ise bozunma gerçekleşmiştir.

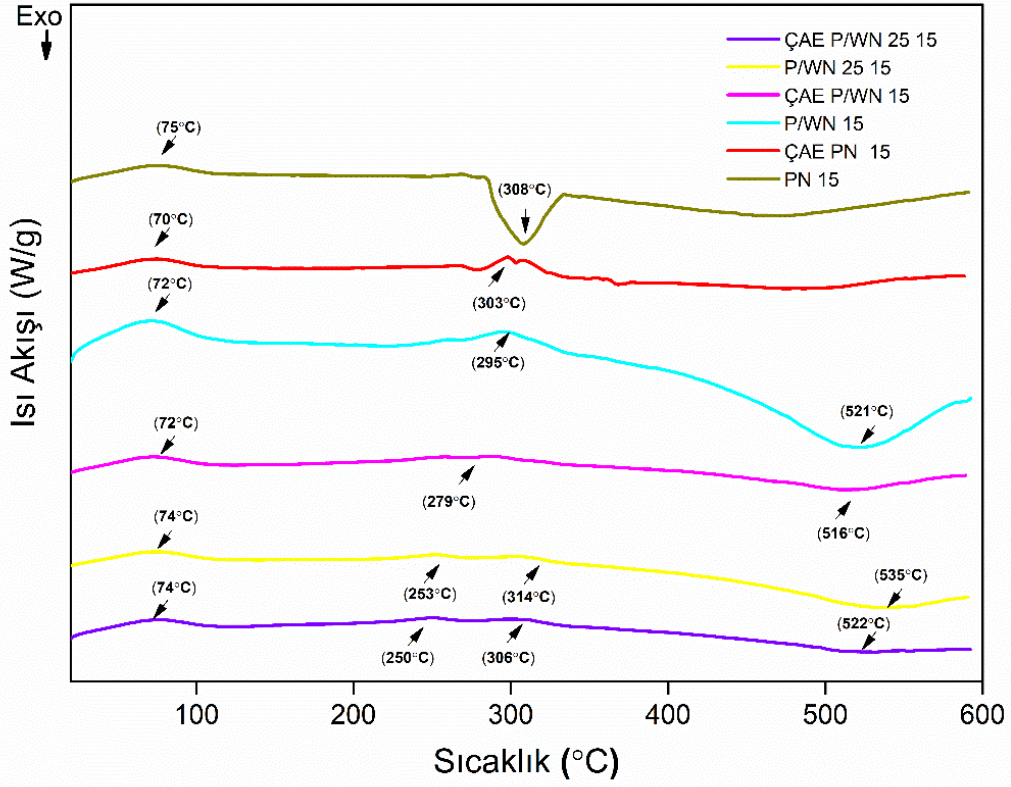


Şekil 4.13: Pullulan, peyniraltı suyu proteini ve karanfil ekstraktı içeren nanoliflerin DSC grafiği
(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

P/WN 15 nanolifi 72°C’de erimeye başlamış, 295°C’de ikinci endotermik pikini göstermiştir. P/WN 15 nanolifinin nihai bozunma sıcaklığı ise 521,7°C’dir. %5 (w/w) oranında karanfil ekstraktı içeren KE P/WN 15 nanolifi 72°C’de erimeye başlamış 283°C’de ikinci bir endotermik pik göstermektedir. KE P/WN 15 nanolifinin 532,6°C’de bozunduğu tespit edilmiştir. P/WN 25 15 nanolifi 74°C’de erimeye

başlamış 253°C’de ve 314°C’de ikinci ve üçüncü endotermik piklerini sergiledikten sonra 535°C’de ekzotermik bir bozunma piki sergilemiştir. % 5 (w/w) oranında karanfil ekstraktı içeren KE P/WN 25 15 nanolifi ise 74°C’de erimeye başlamış 251°C’de ve 308°C’de ikinci ve üçüncü endotermik piklerini sergiledikten sonra 522°C’de ekzotermik bir bozunma piki sergilemiştir. ÇAE P/WN 15 nanolifinin ise endotermik ve ekzotermik bir ısı davranışı gösterdiği belirlenmiştir. Şekil 4.14’e göre ÇAE P/WN 15 nanolifi 72,5°C’de erimeye başlamıştır. ÇAE P/WN 15 nanolifi 279,2 °C’de ikinci endotermik pikini göstermektedir. Çörekotu ekstraktı ilave edilen nanoliflerin erime ve bozunma noktalarının düştüğü tespit edilmiştir. ÇAE P/WN 15 nanolifi 3. Piki ekzotermik bir ısı davranışı göstermektedir ve 516,1°C’de gerçekleşmiştir. Bu sıcaklık nanolifin bozunmasının gerçekleştiği nihai sıcaklıktır. Aslaner ve diğ. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada peynir altı suyu proteini ve çavdar unundan elde edilen nanoliflerin DSC grafikleri incelendiğinde peynir altı suyu proteinin yaklaşık olarak 270°C civarında bozunmaya başladığını ifade edilmiştir. Peynir altı suyu proteini ve pullulanın belli oranlarda karıştırılarak elde edilen nanoliflerin genel olarak 250°C civarında gösterdikleri pikin peynir altı suyu proteinin bozunmasına ait olduğu düşünülmektedir.

Karanfil ekstraktı ve çörekotu atığı ekstraktı ilave edilen nanoliflerin erime ve bozunma sıcaklıklarının düştüğü tespit edilmiştir. Bu durumda her iki ekstraktında lifler üzerinde plastikleştirici etkiye sahip oldukları söylenebilir (Zagedan ve diğ. 2019, Falfasi ve diğ. 2022).



Şekil 4.14: Pullulan, peyniraltı suyu proteini ve çörekotu atığı ekstraktı içeren nanoliflerin DSC grafiği

(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

4.1.6 Nanoliflerin Toplam Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Aktivitesi

Karanfil ve çörekotu atığı ekstraktı içeren polimer ve nanoliflere ait toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/g km) ve antioksidan aktivite ($\mu\text{mol TE/g km}$) analizlerine ait sonuçlar Tablo 4.2’de verilmiştir.

Karanfil ekstraktı ilave edilen pullulan ve peynir altı suyu proteininden elde edilen nanoliflerin toplam fenolik madde içeriği elde edildikleri polimer çözeltilere göre daha yüksek olarak tespit edilirken, yapısına peynir altı suyu proteini ilave edilmeden üretilen karanfil ekstraktı içeren KE PN 15 pullulan nanolifi elde edildiği polimer çözeltilerden %8,5 oranında daha düşük toplam fenolik madde içeriğine sahip

iken ($p < 0,05$), KE PN 20 nanolifinin toplam fenolik madde içeriği elde edildiği polimer çözeltinin toplam fenolik madde içeriğinden farklı değildir ($p > 0,05$). Yapısında peynir altı suyu proteini bulunan karanfil ekstraktı ilave edilerek üretilen KE P/WN 15 ve KE P/WN 20 nanoliflerinin toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 37,27 ve 40,16 mg GAE/g km olarak tespit edilmiştir. Yapısında peyniraltı suyu proteini bulunan karanfil ekstraktı ilave edilen nanoliflerin nanolif çapları ekstrakt ilave edilmeyen nanoliflere göre daha düşüktür. Lif çapının azalması ile yüzey alanı artacağından nanoliflerin bazı özelliklerinde gelişmeler meydana gelmektedir (Huang ve diğ. 2003, Yoo ve diğ. 2009, Sriyanti ve diğ. 2017). Bu nedenle yapısına peyniraltı suyu proteini ilave edilen karanfil ekstraktı yüklü nanoliflerin elde edildikleri polimer çözeltilere göre daha yüksek oranda toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu düşünülmektedir.

Yapısında çörekotu atığı ekstraktı içeren ÇAE PN 15 ve ÇAE PN 20 nanoliflerin toplam fenolik madde içeriği elde edildikleri polimer çözeltinin toplam fenolik madde içeriğine göre istatistiksel olarak herhangi bir artış ya da azalma göstermemiştir ($p > 0,05$). Çörekotu atığı ilave edilen pullulan ve peynir altı suyu proteini içeren ÇAE P/WN 15 ve ÇAE P/WN 20 nanoiflerinin toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 23,46 ve 17,53 mg GAE/g km olarak belirlenmiştir. ÇAE P/WN 15 nanolifi polimer çözeltisi ile kıyaslandığında toplam fenolik madde içeriği daha yüksek iken, ÇAE P/WN 20 nanolifinin toplam fenolik madde içeriği elde edildikleri polimer çözeltilere göre daha düşüktür. Nanolif üretimi sırasında koşulların değiştirilmesi nanolif morfolojisinde değişikliklere neden olmaktadır (Henriques ve diğ. 2009, Jacobs ve diğ. 2010, Yanılmaz ve diğ. 2012, Li ve Wang. 2013). Nanolif örneklerinin morfolojinin değişmesi nanolif özelliklerinde değişiklikler meydana getirmektedir (Baji ve diğ. 2010, Khoo ve Koh. 2016, Sriyanti ve diğ. 2017). Bu nedenle örneklerimizin toplam fenolik madde miktarının nanolif üretim koşullarının değiştirilmesi ile değiştiği düşünülmektedir.

Yapısında 25:75 (w/w) oranında pullulan: peynir altı suyu proteini bulunduran KE P/WN 25 15, KE P/WN 25 20, ÇAE P/WN 25 15, ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerinin toplam fenolik madde içeriği ise sırasıyla 48,05, 45,04, 25,95 ve 24,51 mg GAE/g km olarak tespit edilmiştir. Nanoliflerin elde edildiği polimer çözelti ile kıyaslandığında karanfil ekstraktı ilave edilerek elde edilen nanoliflerin toplam fenolik madde

içeriğinde artış söz konusudur. Çörekotu atığı ekstraktı ilave edilerek üretilen ÇAE P/WN 25 15 nanolifinin toplam fenolik madde içeriği elde edildiği polimer çözelti ile kıyaslandığında fark görülmediği ($p>0,05$), ÇAE P/WN 25 20 nanolifinin toplam fenolik madde içeriği elde edildiği polimer çözelti ile kıyaslandığında ise toplam fenolik madde içeriğinde azalma meydana geldiği görülmektedir. Bu azalmanın elde edilen nanolifin morfolojisinin düzgün olmamasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Tablo 4.2: Polimer çözelti ve nanoliflerin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi

Çözelti Kodu	İşlem Aşaması	Toplam Fenolik Madde İçeriği (mg GAE/g km)	Toplam Antioksidan Aktivite ($\mu\text{mol TE/g km}$)
PN(100:0)	Çözelti	0,62±0,02 ⁱ	-
	PN 15	4,92±0,08 ^s	-
	PN20	5,17±0,08 ^{rs}	-
%5 KE PN (100:0)	Çözelti	23,68±1,10 ^{hi}	3035,84±2,48 ^f
	KE PN 15	21,70±0,17 ^{kl}	3406,63±45,91 ^e
	KE PN 20	22,26±0,18 ^{jk}	3543,61±2,63 ^d
%5 ÇAE PN (100:0)	Çözelti	5,60±0,02 ^{prs}	363,52±4,90 ^{kl}
	ÇAE PN 15	6,71±0,34 ^p	395,55±19,06 ^{kl}
	ÇAE PN 20	6,41±0,39 ^{pr}	394,24±3,87 ^{kl}
P/WN(50:50)	Çözelti	11,21±0,06 ^o	-
	P/WN 15	18,70±0,05 ^{mn}	-
	P/WN 20	19,02±0,02 ^m	-
%5 KE P/WN (50:50)	Çözelti	32,64±0,97 ^f	3749,53±61,31 ^c
	KE P/WN 15	37,27±0,61 ^e	3936,94±20,43 ^b
	KE P/WN 20	40,16±0,22 ^d	4174,22±45,22 ^a
%5 ÇAE P/WN (50:50)	Çözelti	20,58±0,00 ^l	465,67±7,89 ^{jk}
	ÇAE P/WN 15	23,46±0,12 ^{ji}	437,90±0,74 ^{jk}
	ÇAE P/WN 20	17,53±0,05 ^m	367,12±1,74 ^{kl}
P/WN (25:75)	Çözelti	20,79±0,03 ^l	-
	P/WN 25 15	25,00±0,14 ^{gh}	-
	P/WN 25 20	24,36±1,29 ^{hi}	-
%5 KE P/WN (25:75)	Çözelti	43,05±0,63 ^c	1535,94±35,13 ⁱ
	KE P/WN 25 15	48,05±0,24 ^a	1796,50±109,39 ^h
	KE P/WN 25 20	45,04±0,20 ^b	1953,29±109,37 ^g
%5 ÇAE P/WN (25:75)	Çözelti	25,95±0,03 ^g	549,18±13,42 ^j
	ÇAE P/WN 25 15	25,95±0,03 ^g	273,59±8,37 ^m
	ÇAE P/WN 25 20	24,51±1,00 ^{hi}	364,24±1,40 ^{kl}

Aynı sütunda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

Ayrıca yapısında herhangi bir ekstrakt bulundurmayan pullulan ve peynir altı suyu proteini içeren P/WN 15, P/WN 20, P/WN 25 15, P/WN 25 20 nanoliflerinin toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 18,70, 19,02, 25,00 ve 24,36 mg GAE/g km

olarak tespit edilmiştir. Fakat nanoliflerin ve çözeltilerinin toplam fenolik madde içeriğinin içerdikleri izolösin, lösin, lisin, metiyonin, fenilalanin, treonin, triptofan ve valin gibi amino asit kalıntılarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu kalıntı aminoasitlerin, toplam fenolik madde içeriği tespitinde kullanılan Folin-Ciocalteu reaktifini indirgediği bilinmektedir (Lowry ve diğ. 1951).

Örneklerin antioksidan aktivite değeri DPPH yöntemine göre belirlenmiştir. DPPH radikali süpürme aktivitesi antioksidan maddelerin (H^+ donörü) mor renkli DPPH radikalini indirgeme yeteneklerine dayanmaktadır (Sánchez-Moreno, 2002).

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi herhangi bir ekstrakt içermeyen nanoliflerin ve polimer çözeltilerin antioksidan aktivitesinin olmadığı tespit edilmiştir. Bitkisel ekstrakt ilavesi ile elde edilen tüm nanoliflerin antioksidan özellik gösterdikleri belirlenmiştir.

Karanfil ekstraktının serbest radikal aktivitesinin öjenol and β -karyofilen gibi fenolik ve terpenik bileşiklerden kaynaklandığı bilinmektedir (Hadidi et al., 2020). Karanfil ekstraktı ilave edilerek üretilen KE PN 15 ve KE PN 20 pullulan nanoliflerinin antioksidan aktivite değerlerinin sırasıyla 3406,63 ve 3543,61 $\mu\text{mol TE/g km}$ olduğu görülmektedir. Yapısında pullulan ve peynir altı suyu proteini içeren karanfil ekstraktı ilave KE P/WN 15, KE P/WN 20, KE P/WN 25 15, KE P/WN 25 20 nanoliflerin antioksidan aktivitesi ise sırasıyla 3749,53, 3936,94, 1796,50, 1953,29 $\mu\text{mol TE/g km}$ olduğu tespit edilmiştir. Karanfil ekstraktı içeren tüm nanoliflerin antioksidan aktivitesinin nanolif eldesinde kullanılan polimer çözeltilere göre daha yüksek olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Bu da elektro-eğirme işlemi sonucunda elde edilen nanoliflerin antioksidan özelliklerinin çözeltilerle kıyaslandığında arttığı göstermektedir. Karanfil ekstraktında yer alan fenolik bileşikler suda çözünür niteliklere sahip değildir (Holley ve Patel. 2005, Vanin ve diğ. 2014, Jiang ve diğ. 2022). Hidrofobik yapıdaki bu fenolik bileşikler suda çözünen polimerler ile nanoenkapsüle edildiklerinde suda çözünür özellik kazanmaktadırlar (Yıldız ve diğ., 2018, Rezaei ve diğ. 2019). Çalışmamızda karanfil ekstraktının suda çözünür bir polimer olan pullulan ile enkapsüle edilmesi suda çözünürlüğünü artırdığı için antioksidan aktivitesi artmaktadır. Bu nedenle de nanoliflerin antioksidan aktivitesi polimer çözelti örneklerine göre daha yüksek çıkmıştır. Bu sonucun bir diğer nedeni

ise, nanoliflerin daha geniş yüzey alanı/hacim oranları, küçük gözenek boyutları ve yüksek gözenekliliklerinden dolayı üstün malzemeler olmalarıdır (Çallıoğlu ve diğ. 2013). Bu nedenle bir malzemenin herhangi bir özelliği, yapısı nano ölçeğe geldiğinde çok daha etkili hale gelebilir. Hadidi ve diğ. (2020) karanfil uçucu yağını kitosan polimeri ile enkapsüle etmişler ve nanoenkapsüle edilmiş karanfil uçucu yağının enkapsüle edilmemiş uçucu yağa göre antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu tespit etmişlerdir. Babaoğlu ve diğ. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada ise karanfil uçucu yağı beta-siklodekstrin ile enkapsüle edilerek antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği belirlenmiştir. Beta- siklodekstrin ile enkapsüle edilmiş karanfil uçucu yağının antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği enkapsüle edilmemiş uçucu yağa göre daha yüksek olarak belirlenmiştir. Amma ve diğ. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada ise elektro-eğirme yöntemi ile üretilen kapsaisin içeren nanoliflerin antioksidan aktivitesinin (%78) kapsaisin'e (%70) göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çörekotu timokinon, hidroksibenzoik, siringik ve *p*-kumarik asitler gibi antioksidan aktivite açısından önemli biyoaktif bileşenlerin kaynağıdır. Bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda çörekotu atığı ekstraktı besin değeri ve yüksek değerli biyoaktif bileşikler nedeniyle biyopolimer karışımlarında düşük fiyatlı bir antioksidan katkı haline gelmektedir (Tymczewska ve diğ. 2022). Çörekotu atığı ilave edilerek üretilen nanoliflerin antioksidan aktivite sonuçları Tablo 4.2'de verilmiştir. Çörekotu atığı ekstraktı ilave edilerek elde edilen ÇAE PN 15 ve ÇAE PN 20 pullulan nanoliflerinin antioksidan aktivitesi sırasıyla 395,55 ve 394,24 $\mu\text{mol TE/g km}$ olarak tespit edilmiştir. Elde edilen nanoliflerin antioksidan aktivitesinin nanolif eldesinde kullanılan polimer çözeltinin antioksidan aktivitesine göre herhangi bir farklılık göstermemektedir ($p>0,05$). Çörekotu atığı ilave edilen pullulan ve peynir altı suyu proteini içeren ÇAE P/WN 15 ve ÇAE P/WN 20 nanoliflerinin antioksidan aktivitesi sırasıyla 437,90 ve 367,12 $\mu\text{mol TE/g km}$ olarak tespit edilirken, yapısında 25:75 (w/w) oranında pullulan:peynir altı suyu proteini bulunduran ÇAE P/WN 25 15, ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerinin antioksidan aktivitesi ise 273,59 ve 364,24 $\mu\text{mol TE/g km}$ olarak tespit edilmiştir. Nanoliflerin antioksidan aktivitesinde meydana gelen bu değişikliğin işlem parametrelerinin değişimine bağlı olarak nanoliflerin morfolojisinin değişmesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Tymczewska ve diğ. (2022) çörekotu atığı ekstraktı ve çinko parçacıkları ile yüklü polivinil alkol/jelatin nanolifleri

üretikleri bir çalışmada çörekotu atığı ekstraktı ilave edilerek üretilen polivinil alkol/jelatin nanoliflerinin antioksidan aktivitesinin ekstrakt içermeyen polivinil alkol/jelatin nanoliflerine göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

4.1.7 Nanoliflerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Nanolif örneklerinin *S. aureus*, *M. luteus*, *C. albicans*'a karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alan çapları (mm) Tablo 4.3'de, antimikrobiyal aktiviteye ait görseller ise Şekil 4.15- 4.26 arasında verilmiştir. KE PN 15, KE PN 20, ÇAE PN 15, ÇAE PN 20, KE P/WN 15, KE P/WN 20, KE P/WN 25 15, KE P/WN 25 20'nin *S. aureus*'a karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alanı çapları sırasıyla; 19,43, 16,38, 11,23, 9,05, 19,26, 19,49, 17,33, 18,59 mm olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde tüm nanoliflerin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesinin pozitif kontrol grubu olan eritromisin (10 mg/mL)'e göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Ayrıca aynı polimer çözelti kullanılarak üretilen farklı nanoliflerin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesinde herhangi bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$). Ekstrakt yüklenmeden üretilen nanolif örnekleri (negatif kontrol) ise *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteye sahip değildir.

Sharifi ve diğ. (2020) polilaktik asit ve polikaprolakton polimerleri ile polimerin %25'i oranında çörekotu ekstraktı kullanarak ürettikleri nanoliflerin *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğunu belirtmişlerdir. Çörekotunun antimikrobiyal özelliği yapısında bulunan timokinon isimli aktif bir bileşenden kaynaklanmaktadır (Gomaa ve diğ. 2017). Çalışmamızda kullanılan çörekotu atığı ekstraktının timokinon oranının az olması nedeniyle elde edilen nanoliflerin düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu düşünülmektedir. Ghamari ve diğ. (2021) tarafından çörekotu esansiyel yağı kullanılarak elde edilen yenilebilir süt proteini filmlerinin de *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu bildirilmiştir. Tymczewska ve diğ. (2022) çörekotu atığı ekstraktı kullanarak hazırlanan polivinil alkol ve jelatin filmlerinin *E. coli*, *K. pnömoni*, *S. enterica*, *M. luteus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi olmadığı belirtilmiştir. Başka bir çalışmada ise çörekotu ekstraktı yüklü polivinil alkol nanoliflerinin *S. aureus*

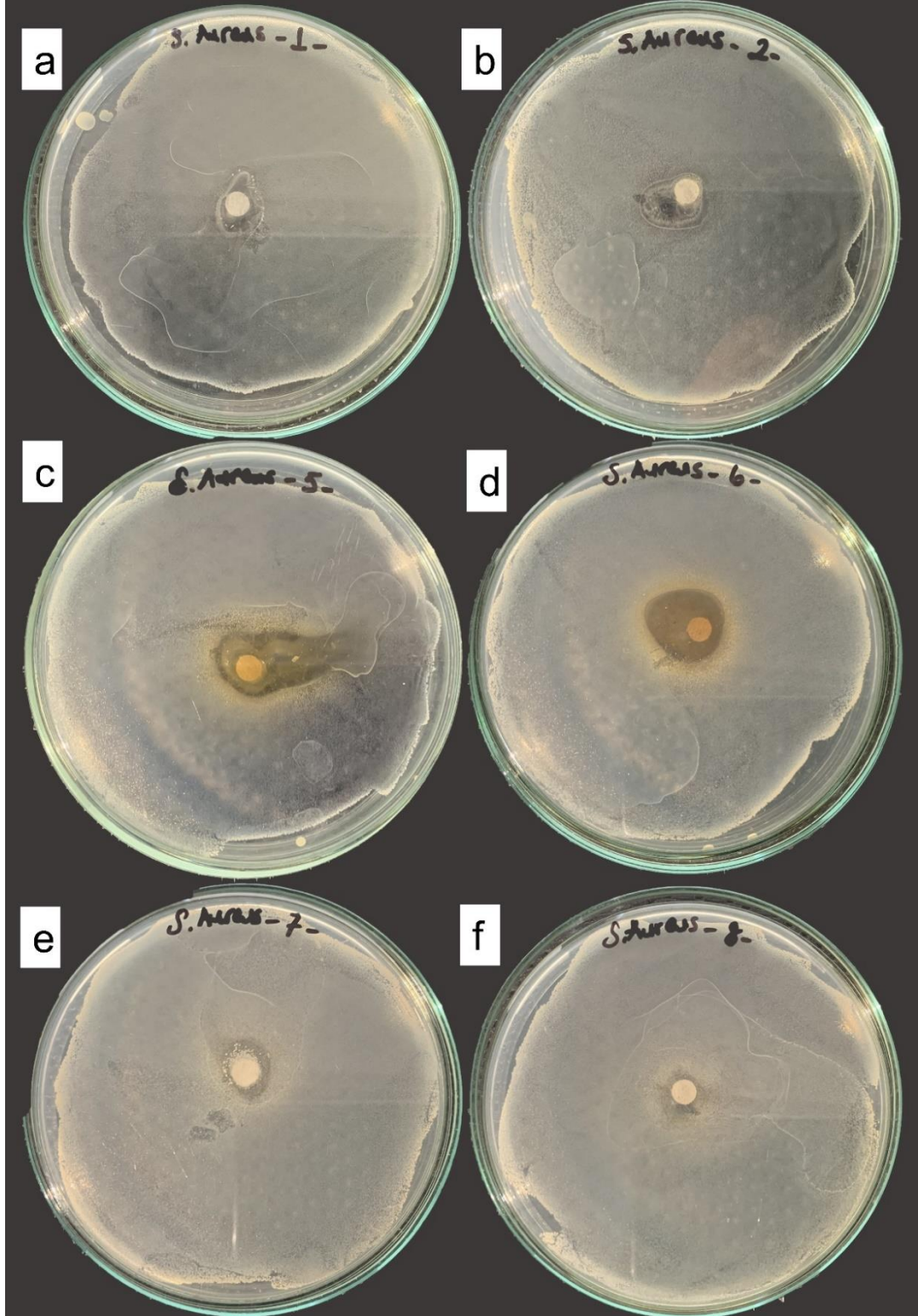
ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve bu aktivitenin içerdiği timokinon ve timohidrokinon gibi aktif bileşenlerden kaynaklandığı ifade edilmiştir (Ali ve diğ. 2021).

Tablo 4.3: Nanoliflerin *S. aureus*, *M. luteus*, *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alan çapları (mm)

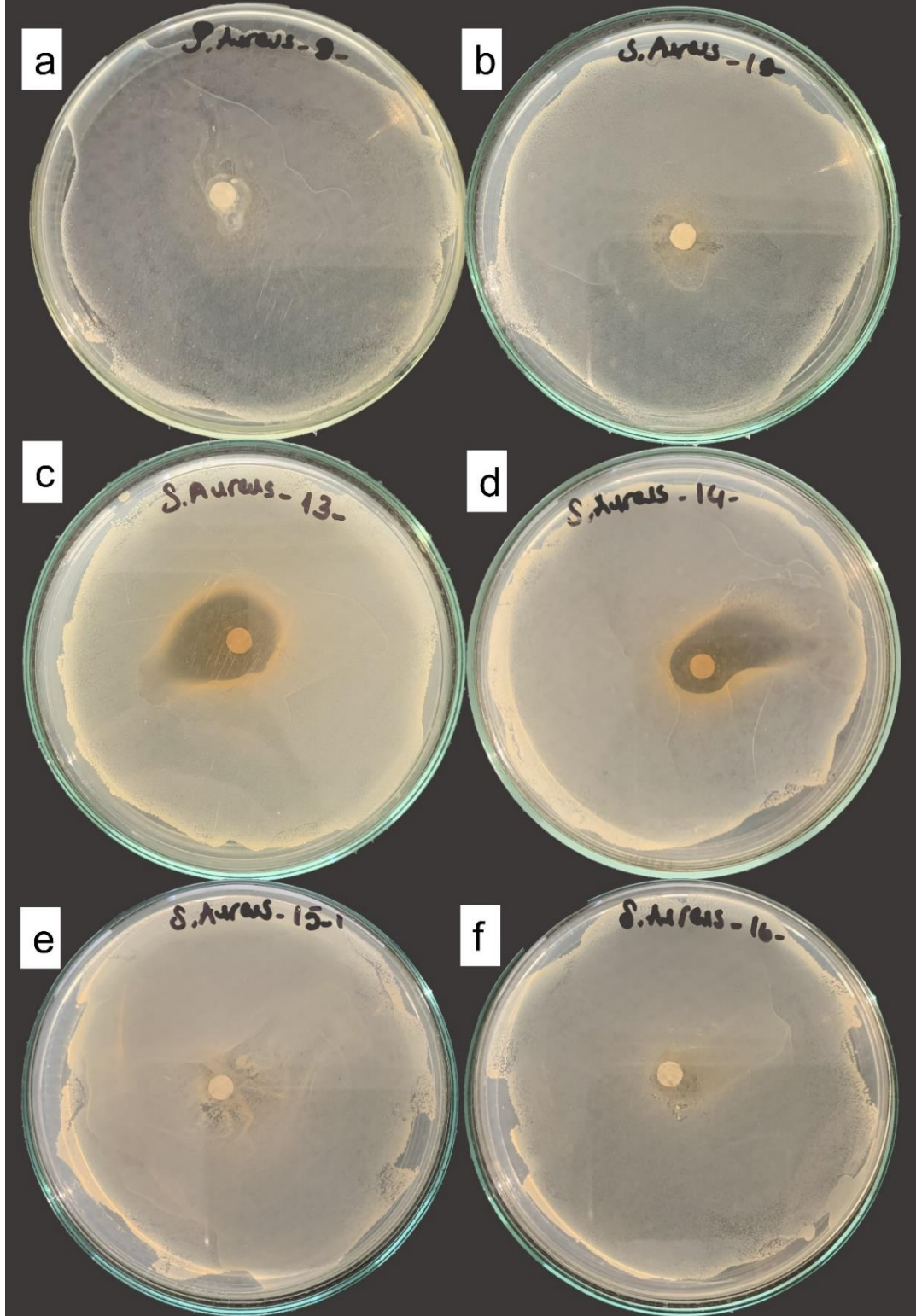
Nanolif Kodu	İnhibisyon Zon Çapı (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>C. albicans</i>
PN 15	-	-	-
PN 20	-	-	-
KE PN 15	19,43±4,83 ^b	17,83±4,97 ^a	5,32±0,03 ^b
KE PN 20	16,38±6,21 ^{bcd}	12,76±2,81 ^a	-
ÇAE PN 15	11,23±1,03 ^{cd}	-	-
ÇAE PN 20	9,05±0,40 ^d	-	-
P/WN 15	-	-	-
P/WN 20	-	-	-
KE P/WN 15	19,26±5,95 ^b	11,20±0,59 ^a	-
KE P/WN 20	19,49±2,64 ^b	17,97±5,10 ^a	-
ÇAE P/WN 15	-	-	-
ÇAE P/WN 20	-	-	-
P/WN 25 15	-	-	-
P/WN 25 20	-	-	-
KE P/WN 25 15	17,33±5,03 ^{bc}	14,96±0,31 ^a	-
KE P/WN 25 20	18,59±6,12 ^{bc}	16,29±5,04 ^a	-
ÇAE P/WN 25 15	-	-	-
ÇAE P/WN 25 20	-	-	-
Pozitif Kontrol	28,93±1,04 ^a	10,97±0,02 ^a	6,68±0,07 ^a

Aynı sütunda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (p<0,05).

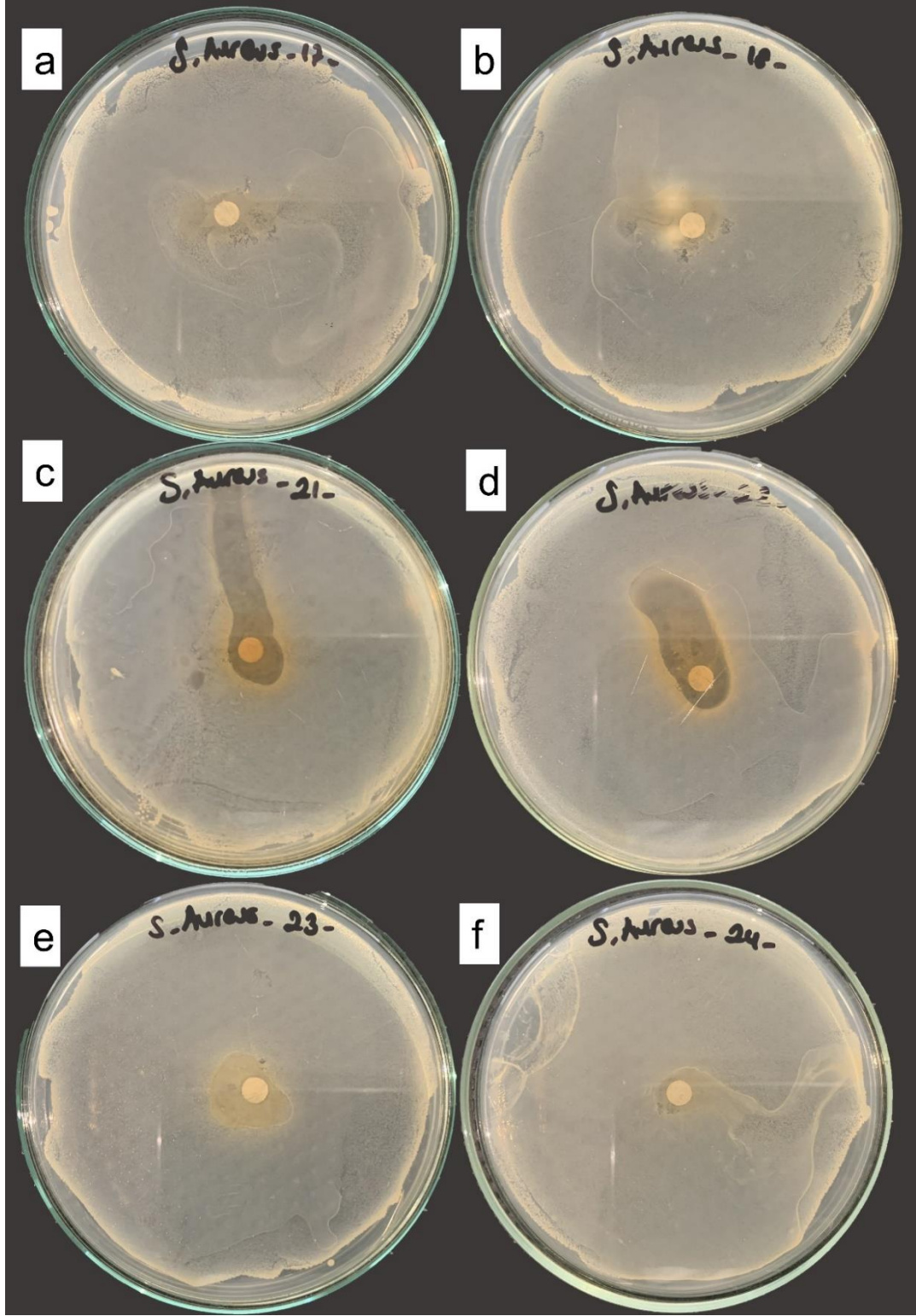
Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.



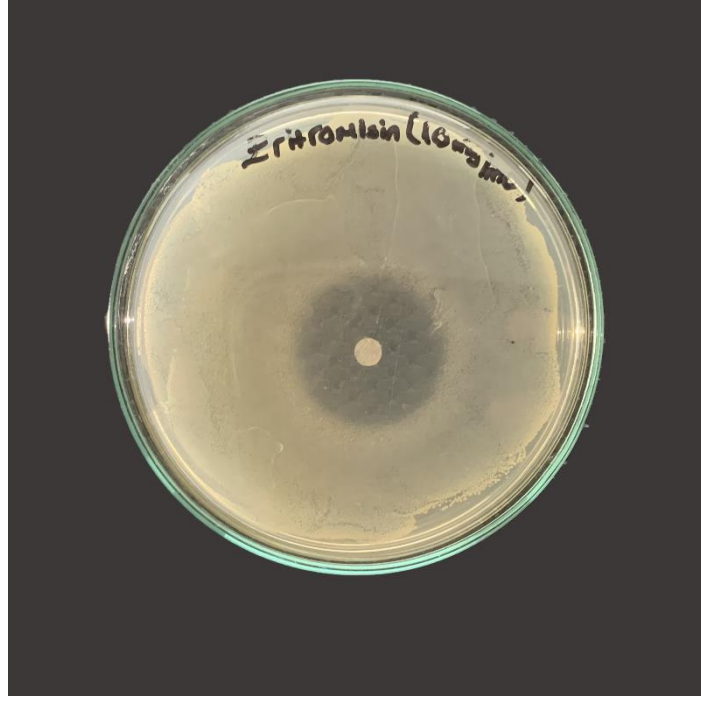
Şekil 4.15: a: PN 15, b: PN 20, c: KE PN 15, d: KE PN 20, e: ÇAE PN 15, f: ÇAE PN 20 nanoliflerinin *S. aureus* 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)



Şekil 4.16: a: P/WN 15, b: P/WN 20, c: KE P/WN 15, d: KE P/WN 20, e: ÇAE P/WN 15, f: ÇAE P/WN 20 nanoliflerinin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

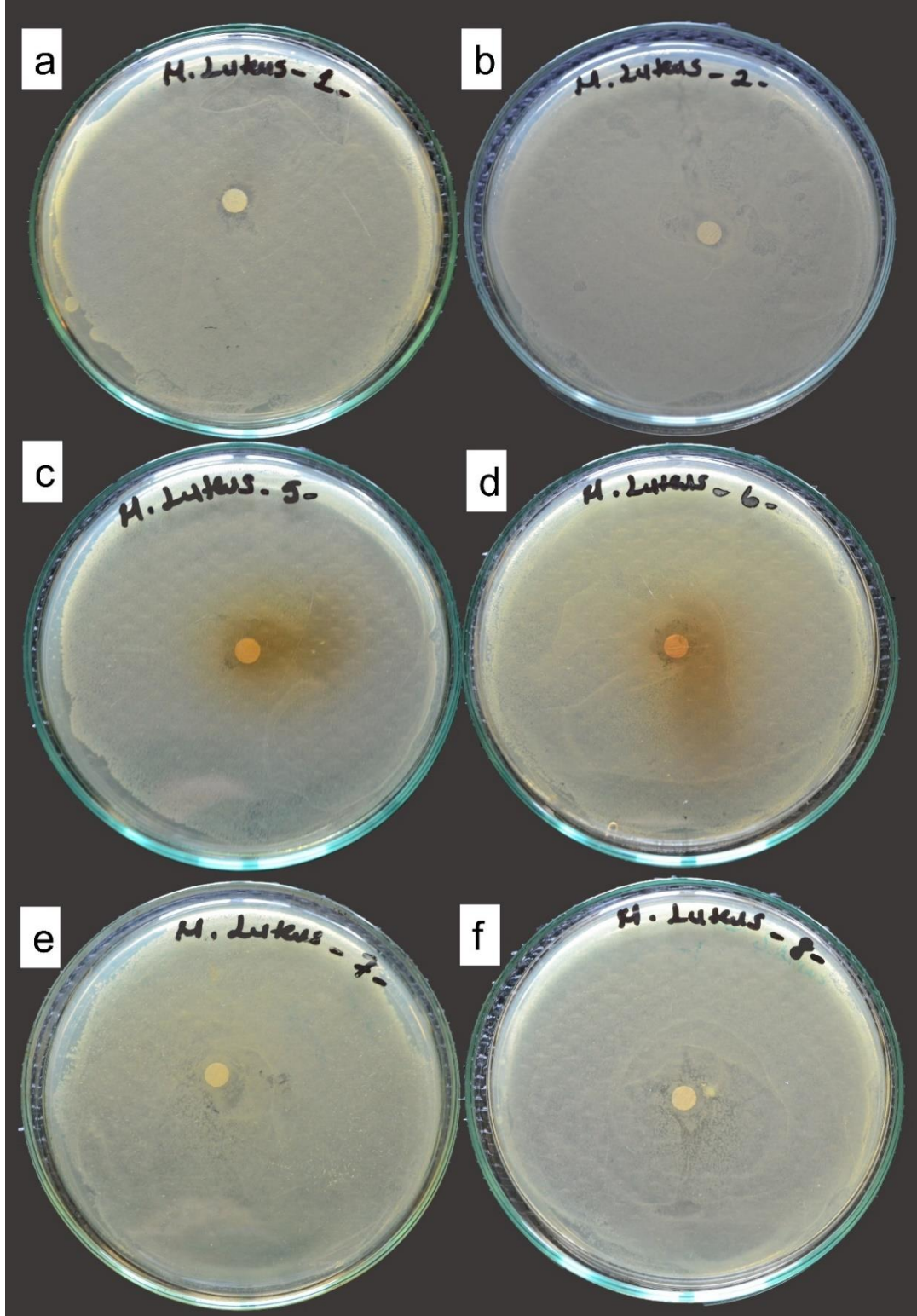


Şekil 4.17: a: P/WN 25 15, b: P/WN 25 20, c: KE P/WN 25 15, d: KE P/WN 25 20, e: ÇAE P/WN 25 15, f: ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerinin *S. aureus* 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi
(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

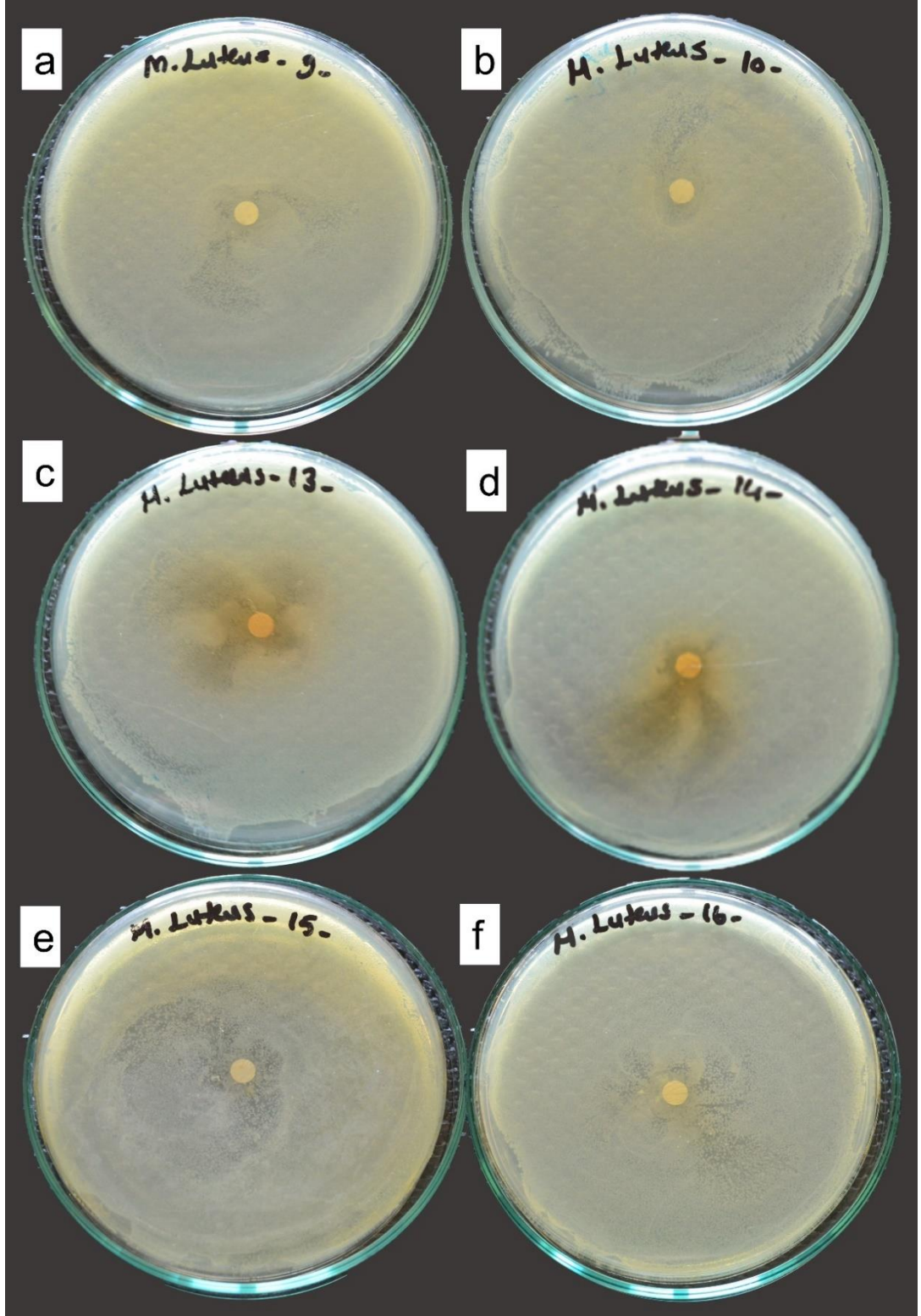


Şekil 4.18: Pozitif kontrol (eritromisin (10mg/mL)) örneğinin *S. aureus* 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi

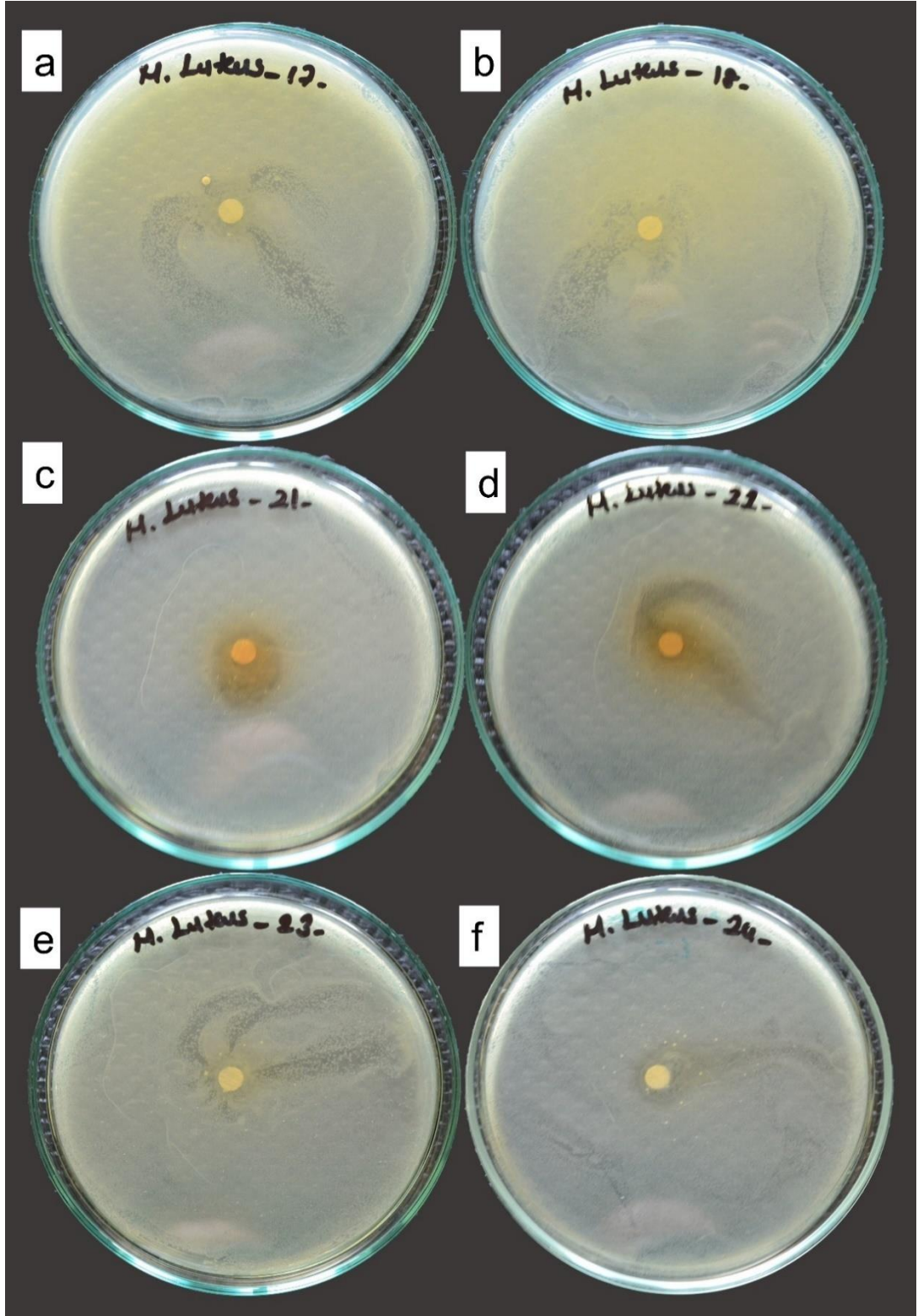
KE PN 15, KE PN 20, KE P/WN 15, KE P/WN 20, KE P/WN 25 15, KE P/WN 25 20'nin *M. luteus*'a karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alanı çapları sırasıyla; 17,83, 12,76, 11,20, 17,97, 14,96, 16,29 mm olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde polimerin ağırlığının %5 (w/w)'i oranında karanfil ekstraktı ilave edilerek üretilen tüm nanoliflerin *M. luteus*'a karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve tüm nanoliflerin antimikrobiyal aktivitesi ile pozitif kontrol grubu olan eritromisin (10 mg/mL)'in antimikrobiyal aktivitesi ile arasında fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Ekstrakt yüklenmeden üretilen nanolif örnekleri (negatif kontrol) ve çörekotu atığı ilave edilerek üretilen nanolif örnekleri ise *M. luteus*'a karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip değildir.



Şekil 4.19: a: PN 15, b: PN 20, c: KE PN 15, d: KE PN 20, e: ÇAE PN 15, f: ÇAE PN 20 nanoliflerinin *M. luteus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

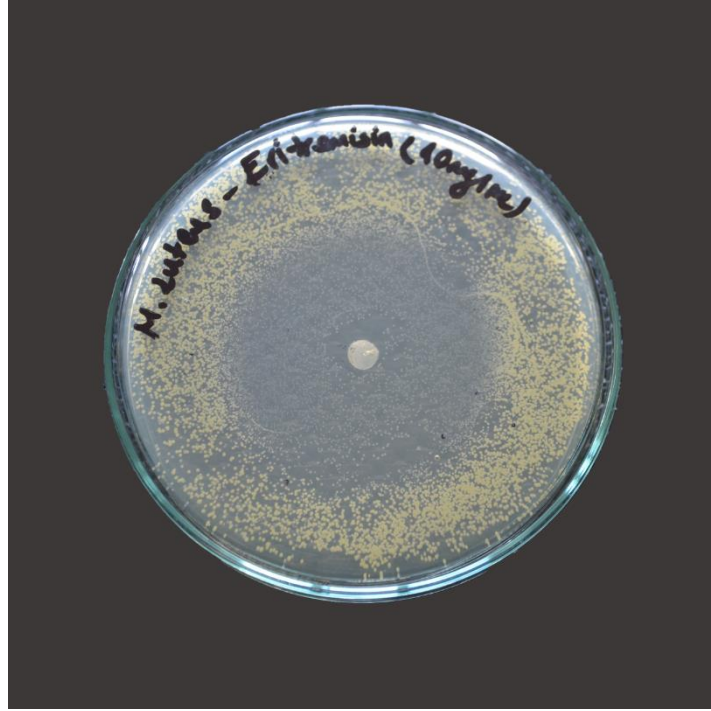


Şekil 4.20: a: P/WN 15, b: P/WN 20, c: KE P/WN 15, d: KE P/WN 20, e: ÇAE P/WN 15, f: ÇAE P/WN 20 nanoliflerinin *M. luteus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)



Şekil 4.21: a: P/WN 25 15, b: P/WN 25 20, c: KE P/WN 25 15, d: KE P/WN 25 20, e:ÇAE P/WN 25 15, f:ÇAE P/WN 25 20 nanolifflerinin *M. luteus* 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi

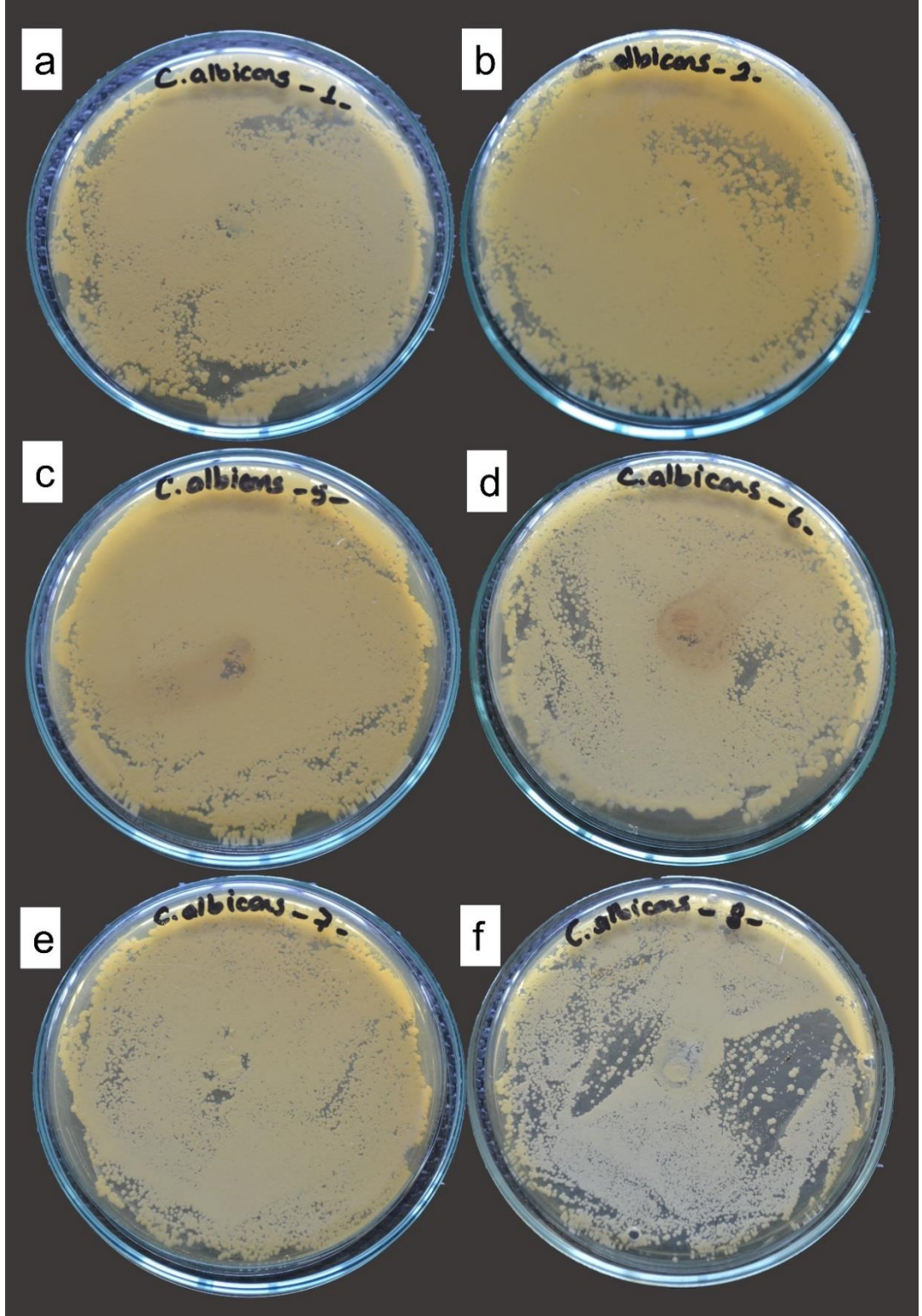
(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)



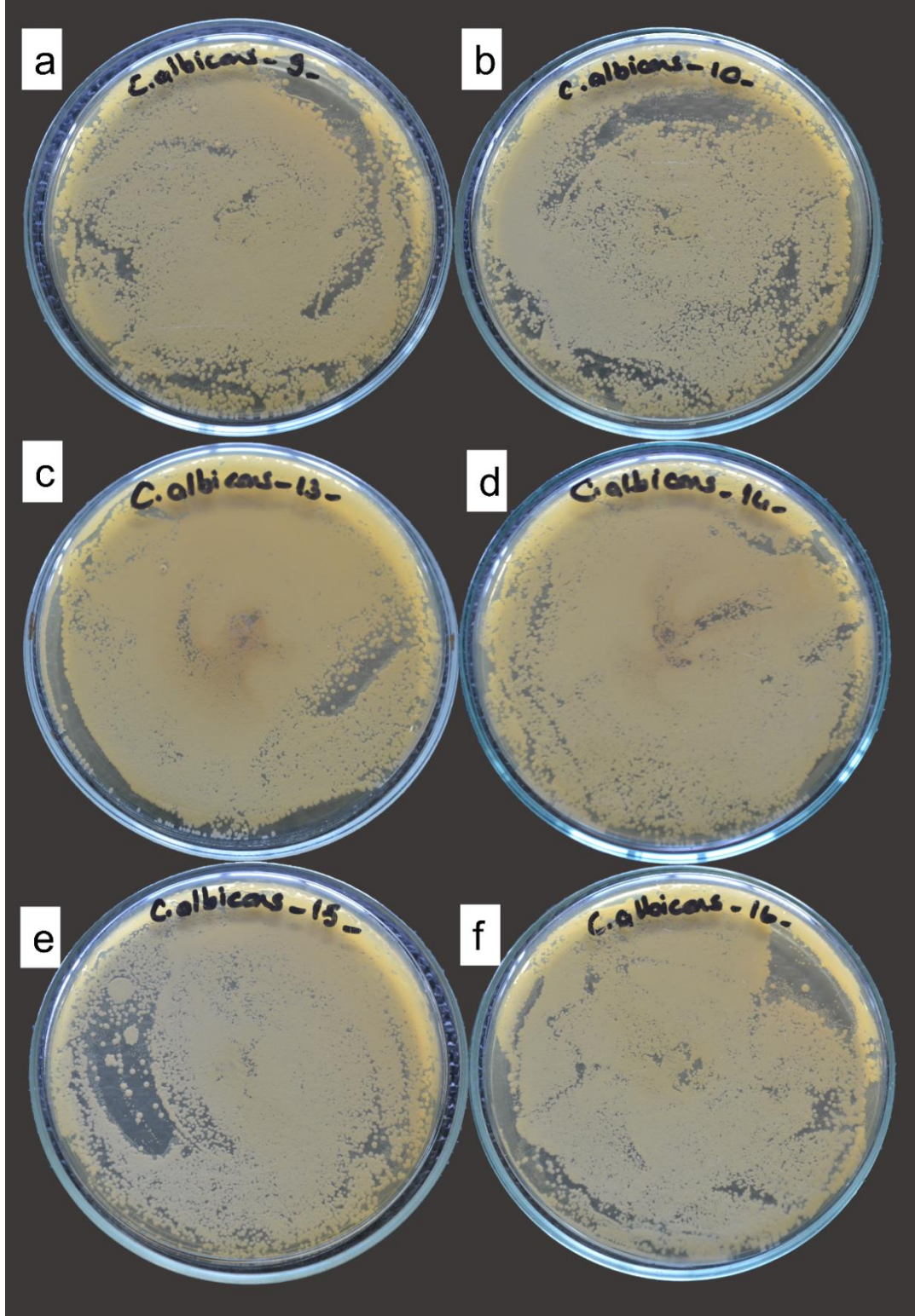
Şekil 4.22: Pozitif kontrol (eritromisin (10mg/mL)) örneğinin *M. luteus* 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi

Karanfil ekstraktı içeren nanoliflerin tamamı *S. aureus* ve *M. luteus* 'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedirler (Tablo 4.3, Şekil 4.15-Şekil 4.17, Şekil 4.19-Şekil 4.21). Hameed ve diğ. (2021) karanfil uçucu yağı yüklenmiş polietilen ve kitosan nanoliflerinin *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Nisar ve diğ. (2018) ise karanfil uçucu yağı yüklenmiş pektin nanoliflerinin *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

Esansiyel yağlar bakteri hücre zarı veya diğer hücre içi bileşenlerle etkileşime girme potansiyeline sahiptir. Bu etkileşim hücre konfigürasyonunun bozulmasına, iyon değişimine, sızıntıya, geçirgenliğin değişmesine ve solunumun inhibisyonuna neden olur daha sonra ölüm meydana gelebilir (Walsh ve diğ. 2003). Ayrıca karanfil ekstraktı hücrenin büyümesi için hayati öneme sahip olan hücre proteinlerinin DNA replikasyon ve sentezini durdurarak bu etkiyi göstermiş olabilir (Arfat ve diğ. 2018).

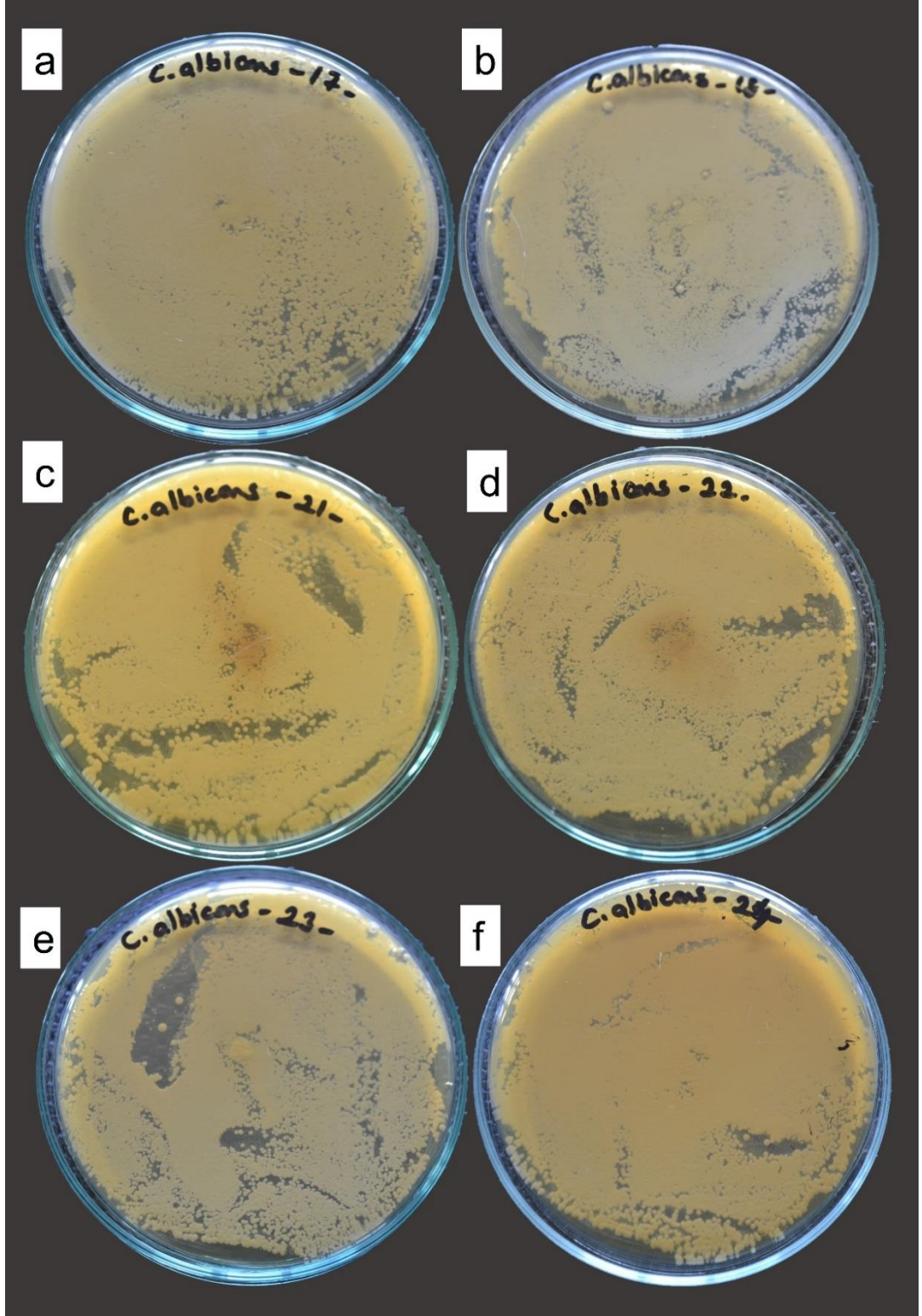


Şekil 4.23: a: PN 15, b: PN 20, c: KE PN 15, d: KE PN 20, e: ÇAE PN 15, f: ÇAE PN 20 nanoliflerinin *C. albicans* 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

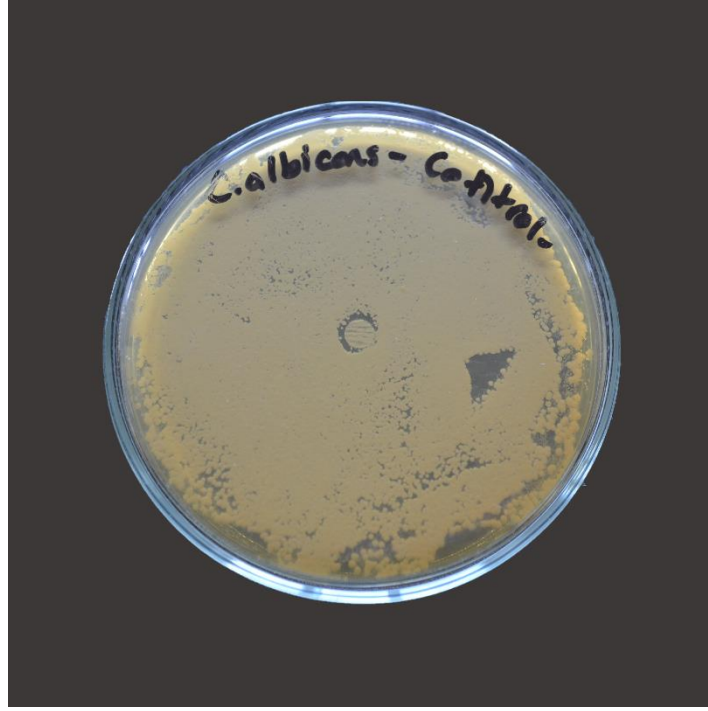


Şekil 4.24: a: P/WN 15, b: P/WN 20, c: KE P/WN 15, d: KE P/WN 20, e: ÇAE P/WN 15, f: ÇAE P/WN 20 nanolifflerinin *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi

(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)



Şekil 4.25: a: P/WN 25 15, b: P/WN 25 20, c: KE P/WN 25 15, d: KE P/WN 25 20, e:ÇAE P/WN 25 15, f:ÇAE P/WN 25 20 nanoliflerinin *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi
(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)



Şekil 4.26: Pozitif kontrol (siklohegzimit (6mg/mL)) örneğinin *C. albicans* 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi

Ekstrakt yüklenerek elde edilen nanoliflerden sadece KE PN 15 nanolifinin *C. albicans* 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi mevcuttur. KE PN 15 nanolifi *C. albicans* 'a karşı 5,32 mm inhibisyon alan çapına sahiptir (Tablo 4.3). KE PN 15 nanolifinin *C. albicans* 'a karşı pozitif kontrol örneğine göre daha düşük antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ($p < 0,05$). Çörek otu atığı içeren nanoliflerden ise herhangi birisinin *C. albicans* 'a karşı aktivitesi tespit edilememiştir.

Literatürde peynir altı suyu proteininin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilse de, peynir altı suyu proteininden üretilen P/WN nanoliflerinin çalışmamızda yalnız başına antimikrobiyal aktivitesi olmadığı tespit edilmiştir. (Tablo 4.3). Polimer çözeltisine ilave edilen peynir altı suyu proteinin antimikrobiyal aktivite gösterecek oranda olmadığı düşünülmektedir. Çalışmamızla benzer oranlarda peynir altı suyu proteini kullanan Ahmed ve diğ. (2016) ve Wang ve diğ. (2019) çalışmalarında da benzer sonuçlar bulunmuştur.

4.2 Polimerin Ağırlıkça %30'u Oranında Bitkisel Ekstrakt İçeren Polimer Çözeltilere ve Nanoliflere Ait Bulgular

. Bu bölümde, polimerin ağırlıkça %30'u oranında ekstrakt içeren çözeltilerin viskozite ve elektriksel iletkenlik değerleri ile bu çözeltilerden elde edilen nanoliflerin FTIR, FE-SEM görüntüleme, DSC, XRD, antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktive, toplam fenolik madde içeriği analizlerine ait sonuçlar tartışılmıştır.

4.2.1 Polimer Çözeltilerinin Özellikleri

Polimerin ağırlıkça %30'u (w/w) oranında ekstrakt içeren polimer çözeltilerin özellikleri (görünür viskozite, elektriksel iletkenlik) Tablo 4.4'te verilmiştir. Polimer çözeltilerin viskozitesi 0,37-6,17 Pa.s arasında değişmektedir. Çalışmamızda en yüksek viskozite değerine %30 ÇAE PN (100:0) çözeltisi sahip iken, onu 4,14 Pa.s viskozite değerine sahip olan %30 KE PN (100:0) çözeltisi takip etmektedir. Yapısına peynir altı suyu proteini ilave edilen çözeltiler (%30 KE P/WN (50:50), %30 ÇAE P/WN (50:50)) ise yapısına peynir altı suyu proteini ilave edilmeyen çözeltilere göre daha düşük viskozite değerlerine sahiptirler ($p < 0,05$). Viskozitesi yüksek olan polimer çözeltilerden daha yüksek lif çapına sahip pürüzsüz nanolifler elde edilmiştir (Tablo 4.4). Nanoliflerin lif çapını etkileyen en önemli faktörlerden birisi viskozitedir. Genellikle çok yüksek viskozite değerlerinde polimer çözelti iğne ucundan tahliye olamazken, çok düşük viskoziteye sahip çözeltilerin ise lif üretmediği tespit edilmiştir (Okutan ve diğ. 2017) Pek çok çalışma genellikle daha yüksek viskozite değerlerinin daha kalın nanolifler oluşturduğunu ifade etmektedir (Haghi ve Akbari 2007, Zeng ve diğ., 2013, Okutan ve diğ. 2014, Drosou ve diğ. 2017). Aynı zamanda daha viskoz çözeltilerden elde edilen nanoliflerin morfolojisinin daha pürüzsüz olduğu bilinmektedir (Haghi ve Akbari 2007). Demir ve diğ. (2002) tarafından poliüretan nanolifi üretimi üzerine yapılan bir çalışmada artan viskozite değerleriyle beraber daha kalın lif çapına sahip lifler üretildiği ifade edilmektedir. Majumder ve diğ. (2019) selüloz asetat polimerinden elektro-eğirme yöntemiyle nanolif eldesi üzerine çalıştıkları bir çalışmada farklı oranlarda selüloz asetat içeren çözeltilerden elektro-eğirme yöntemiyle nanolif eldesi gerçekleştirmişlerdir. Artan selüloz asetat oranıyla

çözeltinin viskozitesinin arttığını ve bununda elde edilen liflerin çapında artışa neden olduğunu ifade etmişlerdir.

Tablo 4.4: Polimer Çözeltisi ve Nanoliflerin Özellikleri

Çözelti Kodu	Polimer Çözelti Özellikleri		Nanolif Kodu	Nanolif Özellikleri		
	Görünür Viskozite (Pa.s)	Elektriksel İletkenlik ($\mu\text{S cm}^{-1}$)		Nanolif Çapı (nm)	Nanolif homojenlik katsayısı	Nanolif morfolojisi
% 30 KE PN (100:0)	4,14±1,06 ^a	1708±2,00 ^a	KE PN 15 30	436,22±42,85 ^a	1,00	Pürüzsüz
% 30 ÇAE PN (100:0)	6,17±0,90 ^b	1022±1,00 ^b	ÇAE PN 15 30	502,90±54,60 ^b	1,01	Pürüzsüz
% 30 KE P/WN (50:50)	0,37±0,02 ^c	3479±1,00 ^c	KE P/WN 20 30	204,09±34,09 ^c	1,02	Pürüzsüz
% 30 ÇAE P/WN (50:50)	0,46±0,03 ^c	2539±1,00 ^d	ÇAE P/WN 15 30	391,39±48,25 ^d	1,01	Pürüzsüz

Aynı sütunda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

Nanolif eldesinde kullanılan polimer çözeltilere ait elektriksel iletkenlik değerleri ($\mu\text{S cm}^{-1}$) nanoliflerin özelliklerini etkileyen önemli faktörlerden birisidir. Çalışmamızda kullanılan polimer çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerleri 1022-3479 $\mu\text{S cm}^{-1}$ arasında değişmektedir. %30 KE P/WN (50:50) polimer çözeltisi en yüksek elektriksel iletkenlik değerine sahipken %30 ÇAE PN (100:0) çözeltisi ise en düşük elektriksel iletkenlik değerine sahiptir ($p<0,05$). Polimer çözeltilerin elektriksel iletkenlik değeri arttıkça nanolif çapında azalma meydana gelmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.4). Jacobs ve diğ. (2010) polietilen oksit nanoliflerinin morfolojisi üzerine etki eden faktörleri araştırdıkları bir çalışmada polimer çözeltilere poliakrilik asit ilavesiyle çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerinin artırılmasının nanolif çapında azalma meydana getirdiğini belirtmişlerdir. Vafania ve diğ. (2019) ise elektro-eğirme yöntemiyle kekik yağının jelatin ve kitosan polimerleriyle enkapsülasyonunu gerçekleştirdikleri bir çalışmada farklı oranlarda kekik yağı, kitosan ve jelatin kullandıkları polimer çözeltilerin elektriksel iletkenlik değeri arttığında lif çapında azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir.

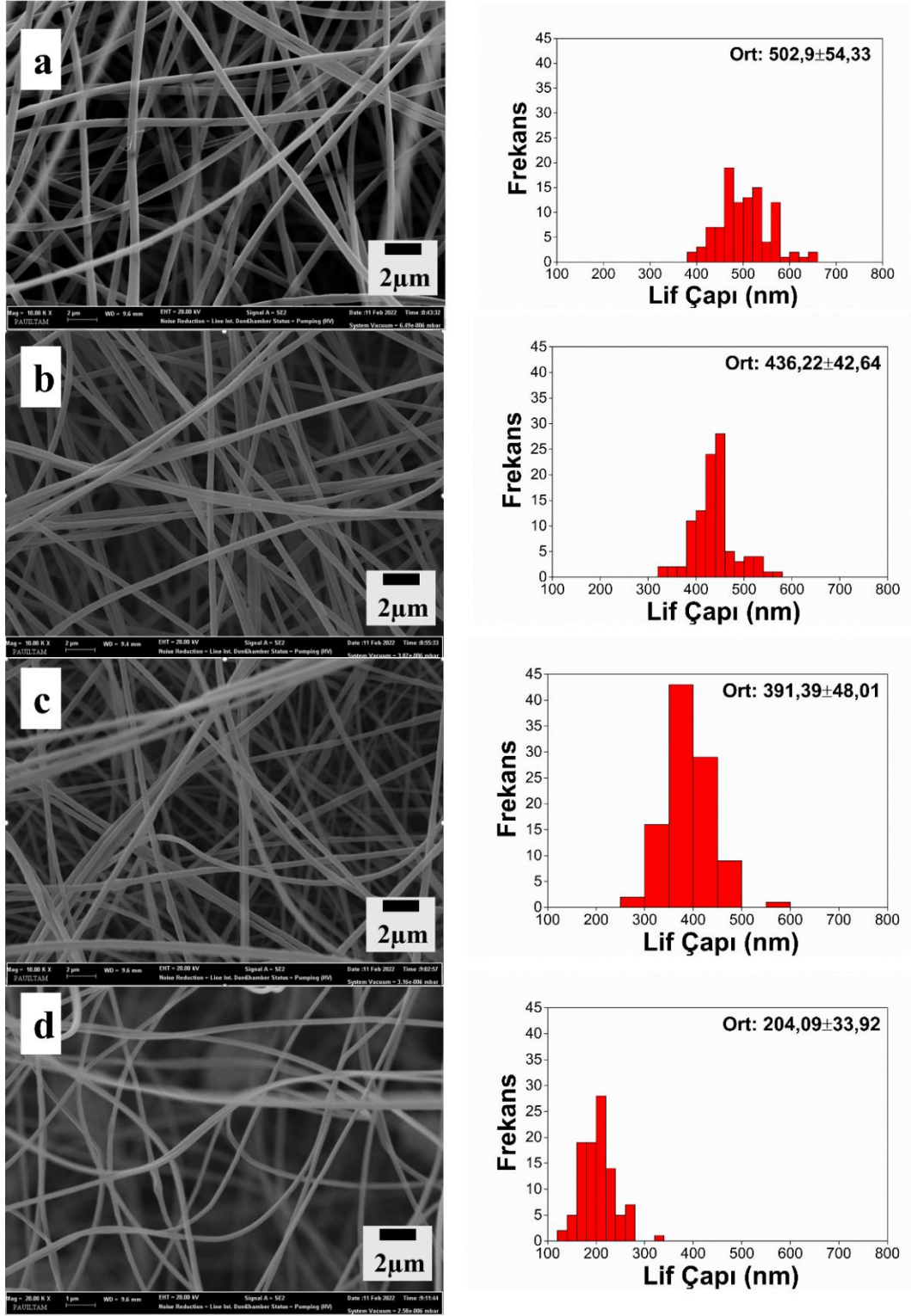
4.2.2 Nanoliflerin Morfolojisi

Polimerin ağırlıkça %30'u (w/w) oranında ekstrakt içeren KE PN 153 0, ÇAE PN 15 30, KE P/WN 20 30, ÇAE P/WN 15 30 nanoliflerine ait FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları Şekil 4.27'de verilmiştir. KE PN 15 30, ÇAE PN 15 30, KE P/WN 20 30, ÇAE P/WN 1530 lif çapları sırasıyla 436,22, 502,90, 204,09, 391,39 nm olarak belirlenirken, nanoliflerin homojenlik katsayısı sırasıyla 1,01, 1,00, 1,01, 1,02 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.4). Homojenlik katsayısının 1'e yakın olması elde edilen nanoliflerin homojen olduğunu göstermektedir (Özkal ve diğ. 2019, Çallıoğlu ve diğ. 2020). Nanoliflerin hepsi pürüzsüz ve homojen olarak elde edilmiştir. Yapısında çörekotu atığı ekstraktı içeren nanoliflerin lif çapları, yapısında karanfil ekstraktı içeren nanoliflerin lif çaplarından daha kalındır. Çörekotu atığı ekstraktı içeren polimer çözeltilerin viskozitesinin karanfil ekstraktı içeren polimer çözeltilerden daha yüksek olması, elektriksel iletkenlik değerinin ise daha düşük olması çörekotu atığı ekstraktı içeren nanoliflerin lif çaplarının daha kalın olmasına neden olmuştur ($p < 0,05$). Yapısında pullulan ve peynir altı suyu proteini içeren nanoliflerin lif çaplarının, yapısında polimer olarak sadece pullulan içeren nanoliflere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Bunun nedenin ise yapısında pullulan ve peynir altı suyu proteini bulunduran polimer çözeltilerin viskozitelerinin yapısında polimer olarak sadece pullulan içeren çözeltilere göre daha düşük olması, elektriksel iletkenliğinin ise daha yüksek olması olduğu düşünülmektedir. Daha önce de açıklandığı gibi polimer çözelti viskozitesinin artması, elektriksel iletkenliğinin ise azalması nanolif çapında artışa neden olmuştur.

Oğuz (2018) bezelye unu ve hidrosimetilselüloz kullanarak elektro-eğirme yöntemiyle nanolif eldesi gerçekleştirmiştir. Artan bezelye unu oranı ile polimer çözeltilerin viskozitesinin arttığını ve artan viskozite değerlerinin ise nanolif çapında artışa neden olduğunu belirtmiştir. Tam (2018) ise mercimek unu, polietilen oksit ve hidrosimetilselüloz kullanarak elektro-eğirme yöntemiyle nanolif eldesi gerçekleştirdiği çalışmasında artan mercimek unu oranıyla polimer çözelti viskozitesinin arttığını ve bunun da lif çapında artışa neden olduğunu belirtmiştir.

Can (2021) limon esansiyel yağı ilave ederek jelatin ve polikaprolaktondan elektro-eğirme yöntemi kullanarak nanolif elde ettiği çalışmasında, polimer

özeltelerin elektriksel iletkenlik değerindeki artışın daha ince nanolif eldesiyle sonuçlandığını belirtmiştir.



Şekil 4.27: Polimerin %30 (w/w)'u oranında bitkisel ekstrakt içeren bazı nanoliflerin ortalama lif çapı ile FE-SEM görüntüleri ve lif çap dağılımları; a: ÇAE PN 15 30 b: KE PN 15 30 c: ÇAE P/WN 15 30 d: KE P/WN 20 30 (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

4.2.3 Nanoliflerin Toplam Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Aktivitesi

Vücutta büyüme ve enerji metabolizmasında yer almayan ikincil metabolitler olan fenolik bileşikler bir aromatik halkaya bağlı hidroksil grupları olarak tanımlanabilir (Özdam ve diğ. 2013). Basit fenoller ve fenolik asitleri içeren fenolik bileşikler, hidroksisinnamik asit türevleri ve flavonoidler, taze ve işlenmiş gıdalarda yaygın olarak bulunan biyoaktif maddelerdir. Fenolik bileşikler, taze ve işlenmiş bitkisel gıdaların duyuşal ve besleyici kalitesi ile yakından ilişkilidir. Bitkilerdeki birçok fenolik bileşik, oldukça iyi doğal antioksidan kaynaklarındandır (Ho 1992).

Yapısında ağırlıkça polimerin %30 (w/w)'u oranında karanfil ve çörekotu atığı ekstraktı içeren polimer çözelti ve nanoliflere ait toplam fenolik madde içeriği Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5: Polimer çözelti ve nanoliflerin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi

Çözelti Kodu	İşlem Aşaması	Toplam Fenolik Madde İçeriği (mg GAE/g km)	Toplam Antioksidan Aktivite ($\mu\text{mol TE/g km}$)
%30 KE PN (100:0)	Çözelti	137,58 \pm 1,19 ^a	15415 \pm 6,70 ^b
	KE PN 15 30	159,36 \pm 0,08 ^b	17165 \pm 2,23 ^a
%30 ÇAE PN (100:0)	Çözelti	23,97 \pm 0,17 ^e	2015 \pm 6,70 ^{fg}
	ÇAE PN 15 30	26,17 \pm 0,08 ^f	2180 \pm 22,36 ^e
%30 KE P/WN (50:50)	Çözelti	153,72 \pm 0,08 ^c	16675 \pm 82,7 ^c
	KE P/WN 20 30	167,02 \pm 1,24 ^d	13320 \pm 76,02 ^d
%30 ÇAE P/WN (50:50)	Çözelti	29,60 \pm 0,09 ^g	2080 \pm 4,47 ^{ef}
	ÇAE P/WN 15 30	33,41 \pm 0,03 ^h	1905 \pm 2,23 ^h

Aynı sütunda farklı üşsel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir.

KE PN 15 30, ÇAE PN 15 30, KE P/WN 20 30, ÇAE P/WN 15 30 çözeltilerinin toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 159,36, 23,97, 153,72, 33,41 mg GAE/g km olarak belirlenmiştir. En yüksek toplam fenolik madde içeriğine KE P/WN 20 30 nanolifi sahipken en düşük toplam fenolik madde içeriğine ÇAE PN 15 30 nanolifi sahiptir ($p<0,05$). Nanolif örnekleri çözeltileri ile kıyaslandığında her nanolif, eldesinde kullanılan çözeltiliye göre daha yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahiptir ($p<0,05$). Daha önceki bölümlerde de tartışıldığı gibi elde edilen nanoliflerin yüzey alanı ve gözeneklilik gibi özelliklerinin artmasıyla toplam fenolik madde içeriğinde artış meydana geldiği düşünülmektedir. Aynı zamanda bitkisel ekstraktların

yapısında mevcut olan suda çözünmeyen fenolik bileşenlerin pullulan gibi suda çözünür bir polimer ile enkapsüle edilmesi sonucunda suda çözünmeyen bileşenlerin suda çözünür hale gelmesiyle de toplam fenolik madde içeriğinde artış meydana gelmiş olabilir. Gıdaların fenolik bileşimi işleme süresince çoğunlukla bilinmeyen türevlerine dönüşmesi nedeniyle ham maddeden farklılık gösterebilmektedir (Cheynier 2012). Çalışmamızdaki toplam fenolik madde içeriğindeki bu artışın bir başka nedenin de elektro-eğirme uygulaması nedeniyle ekstraktların yapısında bulunan mevcut fenolik bileşenlerin parçalanarak yeni fenolik bileşikler oluşturması olduğu düşünülmektedir.

Ayrıca yapısında peyniraltı suyu proteini bulunduran KE P/WN 20 30, ÇAE P/WN 15 30 nanoliflerinin ve elde edildikleri çözeltilerin, yapısında peynir altı suyu proteini bulundurmayan çözelti ve nanoliflere göre daha yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu Tablo 4.5'te görülmektedir ($p<0,05$). Bunun nedeninin ise Folin-Ciocalteu reaktifinin aminoasitlerle de etkileşime girmesi olduğu daha önceki bölümlerde de tartışılmıştır.

KE PN 15 30, ÇAE PN 15 30, KE P/WN 20 30, ÇAE P/WN 15 30 çözeltilerinin antioksidan aktivitesi sırasıyla 17165, 2180, 13320, 2080 $\mu\text{mol TE/g km}$ olarak belirlenmiştir. En yüksek antioksidan aktiviteye KE PN 1530 nanolifi sahipken en düşük fenolik madde içeriğine ÇAE PN 15 30 nanolifi sahiptir ($p<0,05$). Yapısında sadece pullulan polimeri ve bitkisel ekstrakt içeren nanoliflerin elde edildikleri çözeltilere göre antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. DPPH serbest radikallerinin bitkisel ekstraktlı nanolifler tarafından inhibisyonu, serbest radikal içeren çözelti ile daha fazla temas sağlayan nanoliflerin yüksek yüzey alanı ile açıklanabilir (Najafi ve diğ. 2022).

Yapısında peynir altı suyu bulunduran nanoliflerin ise elde edildikleri çözeltilere göre daha düşük antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir ($p<0,05$). Polifenollerin, her iki bileşiğin yapısal, fonksiyonel ve beslenme özelliklerinde değişikliklere yol açan proteinlerle kompleksler oluşturduğu bilinmektedir. Protein-fenolik bileşen etkileşimleri temel olarak sıcaklık, pH, protein tipi ve konsantrasyonu ile fenolik bileşiklerin tipi ve yapısından etkilenmektedir. Proteinlerin polifenolleri nasıl etkilediğine dair kesin mekanizma henüz bilinmemekle birlikte, yapı ve fonksiyonel özelliklerdeki değişiklikler üzerine

yapılan çalışmalar mevcuttur (Özdal ve diğ. 2013). Polifenollerin proteinlere bağlanması, polifenollerin tespitini engelleyerek daha düşük antioksidan aktivite sonuçlarının elde edilmesine neden olur (Işık ve diğ. 2018).

Fakı ve diğ. (2019) üzüm çekirdeği ekstraktını elektro-eğirme yöntemiyle jelatin, PVA ve PVA/ β -CD polimerleri ile kapladıkları çalışmada jelatin polimeri ve üzüm çekirdeği ekstraktından elde edilen nanoliflerin polimer çözeltilerine göre toplam fenolik madde içeriğinde %7, toplam antioksidan aktivitede ise %65 oranında azalma tespit ederken, PVA ve PVA/ β -CD ve üzüm çekirdeği ekstraktından elde edilen nanoliflerin ise elde edildikleri polimer çözeltilere göre toplam fenolik madde içeriğinin ve antioksidan aktivitelerin değişmediğini belirtmişlerdir.

Necefî ve diğ. (2022) elektro-eğirme yöntemiyle safran ekstraktı ilavesi gerçekleştirerek zein nanolifleri elde etmişlerdir. Yapılan çalışmada öncelikle safran ve zein nanoliflerinin ayrı ayrı antioksidan aktivitesi belirlenmiş ve sırasıyla %17,5 ve %31,6 bulunmuştur. Daha sonra %10 oranında safran ekstraktı ilave ederek ürettikleri zein nanoliflerinin antioksidan aktivitesinin %56,3'e yükseldiğini tespit etmişlerdir.

4.2.4 Nanoliflerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Yapısında ağırlıkça polimerin %30 (w/w)'u oranında karanfil ve çörekotu atığı ekstraktı içeren polimer çözelti ve nanoliflerin *S. aureus*, *M. luteus*, *E. coli*, *C. albicans* ve *A. flavus* mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alan çapları (mm) Tablo 4.6'da, antimikrobiyal aktiviteye ait görseller ise Şekil 4.28-Şekil 4.32 arasında verilmiştir.

KE PN 15 30, ÇAE PN 15 30, KE P/WN 15 30, ÇAE P/WN 15 30 nanoliflerinin, karanfil ve çörekotu atığı ekstraktlarının *S. aureus*'a karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alan çapları sırasıyla; 38,17, 10,32, 25,01, 22,04 ve 11,37 mm olarak bulunmuştur (Tablo 4.6, Şekil 4.28). Karanfil ekstraktının antibakteriyel aktivitesinin pozitif kontrol örneği olan eritromisin (10mg/mL)'den daha düşük olduğu fakat çörekotu atığı ekstraktından daha yüksek bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Nanoliflerin antimikrobiyal aktivitesi birbirleriyle kıyaslandığında ise en yüksek aktiviteye sahip olan nanolifin yapısında

polimerin %30 (w/w)'u oranında karanfil ekstraktı içeren KE PN 15 30 pullulan nanolifi olduğu görülürken en düşük aktiviteye sahip olan nanolifin ise yapısında polimerin %30 (w/w)'u oranında çörekotu atığı ekstraktı içeren ÇAE PN 15 30 pullulan nanolifi olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Tablo 4.6: Bitkisel ekstrakt ve nanoliflerin *S. aureus*, *E. coli*, *M. luteus*, *C. albicans* ve *A. flavus* mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alan çapları (mm)

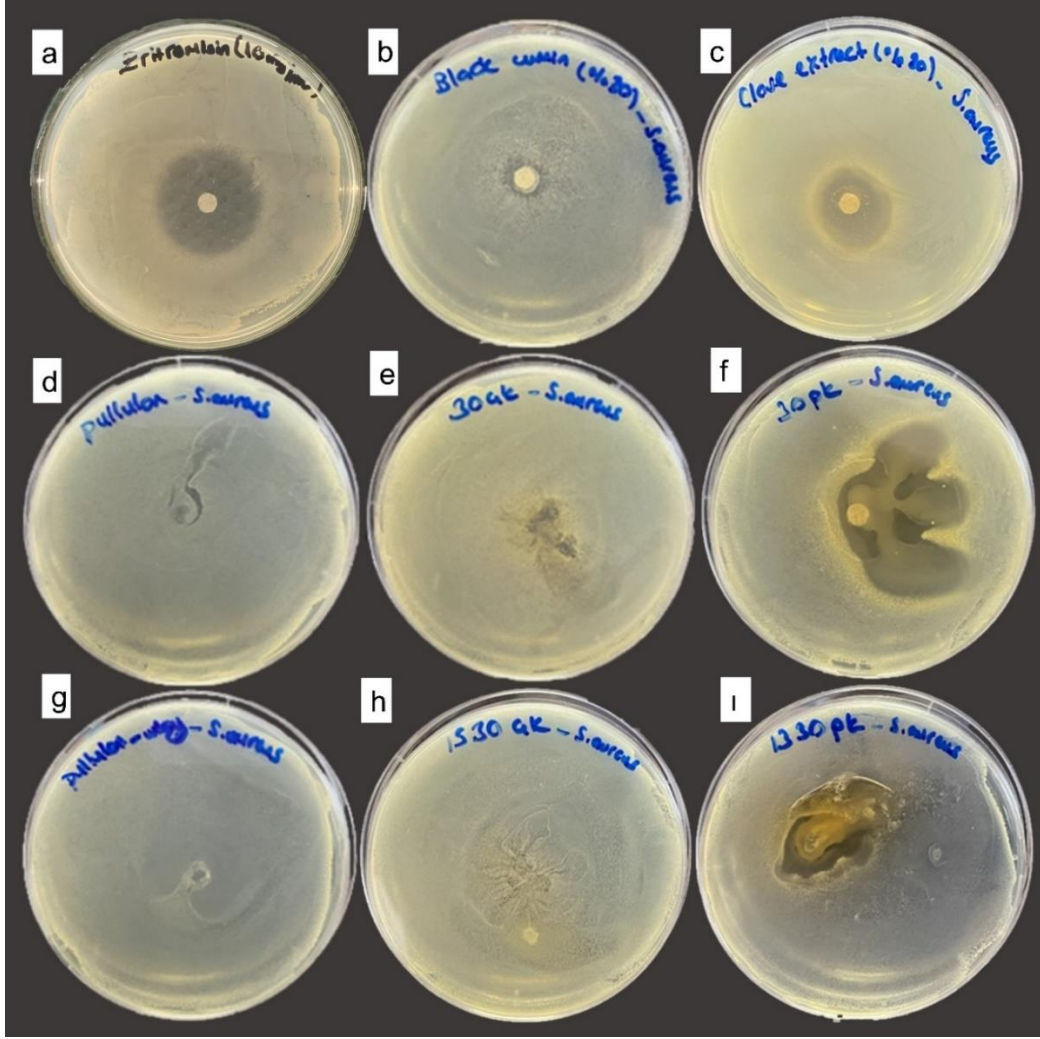
İnhibisyon Zon Çapı (mm)					
Nanolif Kodu	<i>S.aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. flavus</i>
PN 15	-	-	-	-	-
KE PN 15 30	38,17±2,01 ^{ABa}	50,77±16,03 ^{Aa}	13,99±2,19 ^{CDb}	24,59±7,55 ^{BCa}	9,09±1,14 ^{Db}
ÇAE PN 15 30	10,32±1,61 ^{Ac}	-	4,66±0,45 ^{Be}	-	-
P/WN 15	-	-	-	-	-
KE P/WN 15 30	25,01±7,04 ^{Ab}	22,31±2,61 ^{Ab}	11,62±1,83 ^{Bbc}	13,94±1,29 ^{Bbc}	-
ÇAE P/WN 15 30	-	-	-	-	-
Pozitif Kontrol	28,00±0,10 ^{Bb}	44,06±0,80 ^{Aa}	17,57±1,29 ^{Ca}	10,10±0,81 ^{Dc}	15,27±1,69 ^{Ea}
Karanfil Ekstraktı	22,04±2,02 ^{Ab}	23,37±0,28 ^{Ab}	11,38±1,03 ^{Bc}	18,78±1,45 ^{Cab}	6,53±0,61 ^{Dc}
Çörekotu atığı ekstraktı	11,37±2,02 ^{Ac}	-	8,61±0,34 ^{Ad}	-	-

a,b,c,d aynı sütunda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

A,B,C,D aynı satırda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

Aynı oranda karanfil ekstraktı içeren çözeltinin antibakteriyel aktivitesine bakıldığında karanfil ekstraktı ilavesiyle nanolif eldesi sonrasında yapısında sadece pullulan polimerini içeren nanolifin antibakteriyel aktivitesinin çözeltiliye kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Bunun nedeni; nanolif eldesiyle artan yüzey alanı, artan porozite ve suda çözünen bir polisakkarit olan pullulan ile kaplanan karanfil ekstraktındaki hidrofobik polifenollerin suda çözünür özelliğinin artması olabilir. Fakat yapısında peynir altı suyu proteini ve pullulan içeren nanolifin çözeltinin var olan antibakteriyel aktivitesine herhangi bir katkısı olmamıştır ($p>0,05$).

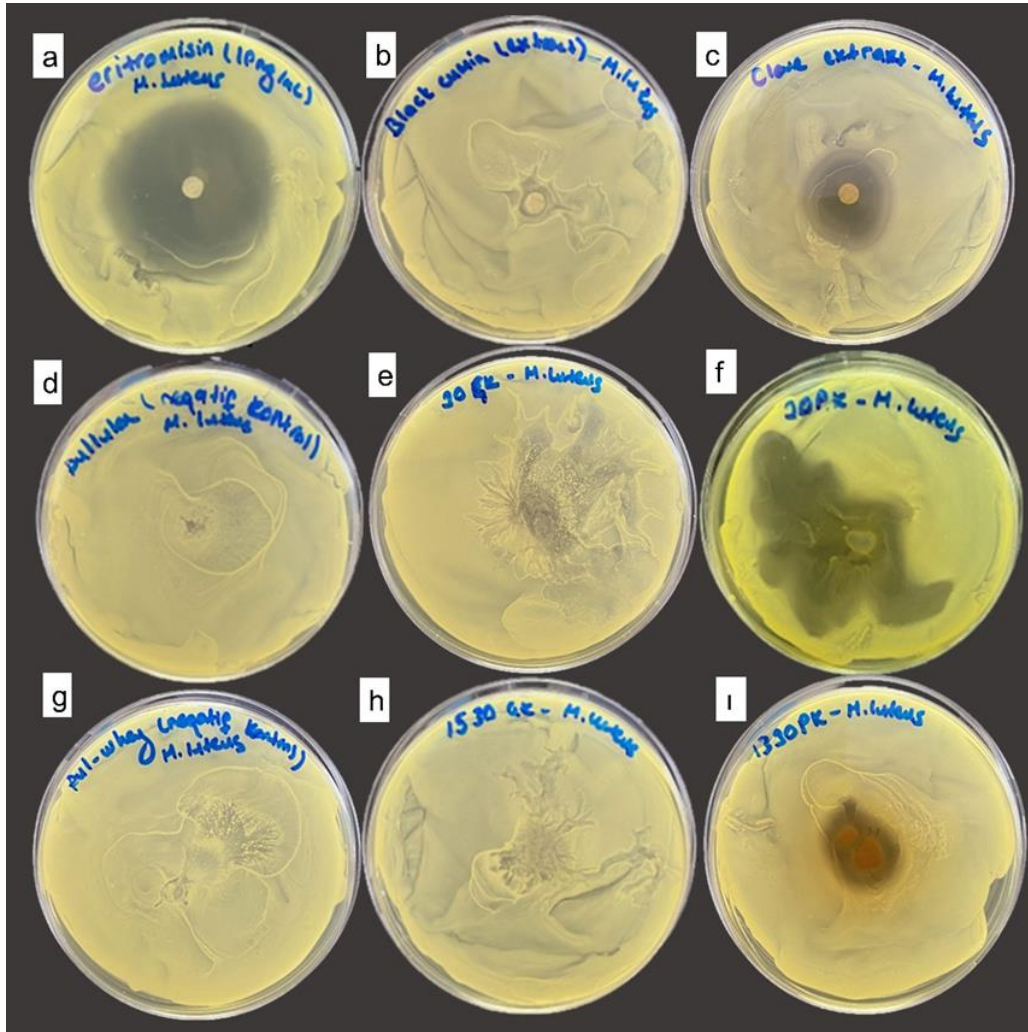


Şekil 4.28: a: Pozitif kontrol (eritromisin (10 mg/mL)), b: Çörekotu atığı ekstraktı c: Karanfil ekstraktı, d: PN 15 e: ÇAE PN 15 30, f: KE PN 15 30 g: P/WN 15 h: ÇAE P/WN 15 30, ı: KE P/WN 15 30 nanolifflerinin *S. aureus* 'a karşı antimikrobiyal aktivitesi

(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkznz. Tablo 3.1)

KE PN 15 30, KE P/WN 15 30 nanolifflerinin ve karanfil ekstraktının *M. luteus* 'a karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alan çapları sırasıyla; 50,77, 22,31, 23,37 mm şeklindedir (Tablo 4.6, Şekil 4.29). KE PN 15 30 nanolifflerinin *M. luteus* 'a karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin pozitif kontrol örneği olan eritromisin (10 mg/mL) 'nin gösterdiği aktiviteden istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($p>0,05$). Aynı nanoliffler karanfil ekstraktına göre *M. luteus* 'a karşı daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Yapısında pullulan peynir altı suyu proteinleri içeren KE P/WN 15 30 nanolifflerinin

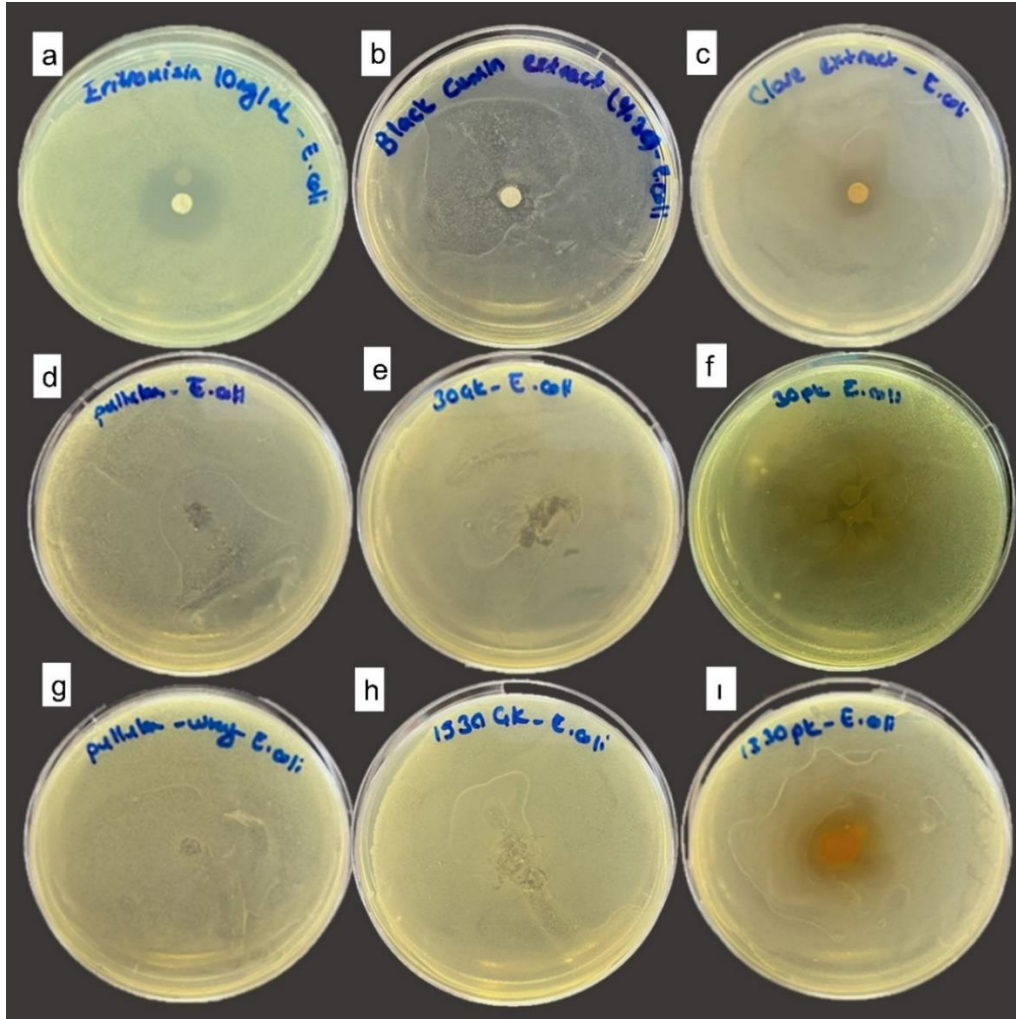
antimikrobiyal aktivitesi karanfil ekstraktının aktivitesine göre fark göstermezken ($p>0,05$) pozitif kontrol örneğine göre daha düşük olarak tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bunun nedeninin pullulan ve peynir altı suyu proteini içeren karanfil ekstraktlı nanoliflerde var olan ekstraktaki etken maddelerin peynir altı suyu proteini ile etkileşime geçerek antibakteriyel aktiviteyi düşürmesi olabilir. Polifenollerin peynir altı suyu proteini ile etkileşime girdikleri ve antioksidan özelliklerini kaybettiklerine daha önceki bölümlerde değinilmiştir.



Şekil 4.29: a: Pozitif kontrol (eritromisin (10 mg/mL)), b: Çörekotu atığı ekstraktı c: Karanfil ekstraktı, d: PN 15 e: ÇAE PN 15 30, f: KE PN 15 30 g: P/WN 15 h: ÇAE P/WN 15 30, ı: KE P/WN 15 30 nanoliflerinin *M. luteus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi

(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

KE PN 15 30, ÇAE PN 15 30, KE P/WN 15 30, ÇAE P/WN 15 30 nanoliflerinin, karanfil ve çörekotu atığı ekstraktlarının *E. coli*'ye karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon alan çapları ise sırasıyla; 13,99, 4,66, 11,62, 11,38, 8,61 mm olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.6, Şekil 4.30). Tüm nanolif örnekleri ve ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi pozitif kontrol örneğine göre daha düşük çıkmıştır ($p<0,05$). Fakat karanfil ekstraktı ilave edilen nanolif örnekleri çörekotu atığı ekstraktı içeren ÇAE PN 15 30 pullulan nanolifine göre *E. coli*'ye karşı daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermektedirler ($p<0,05$).



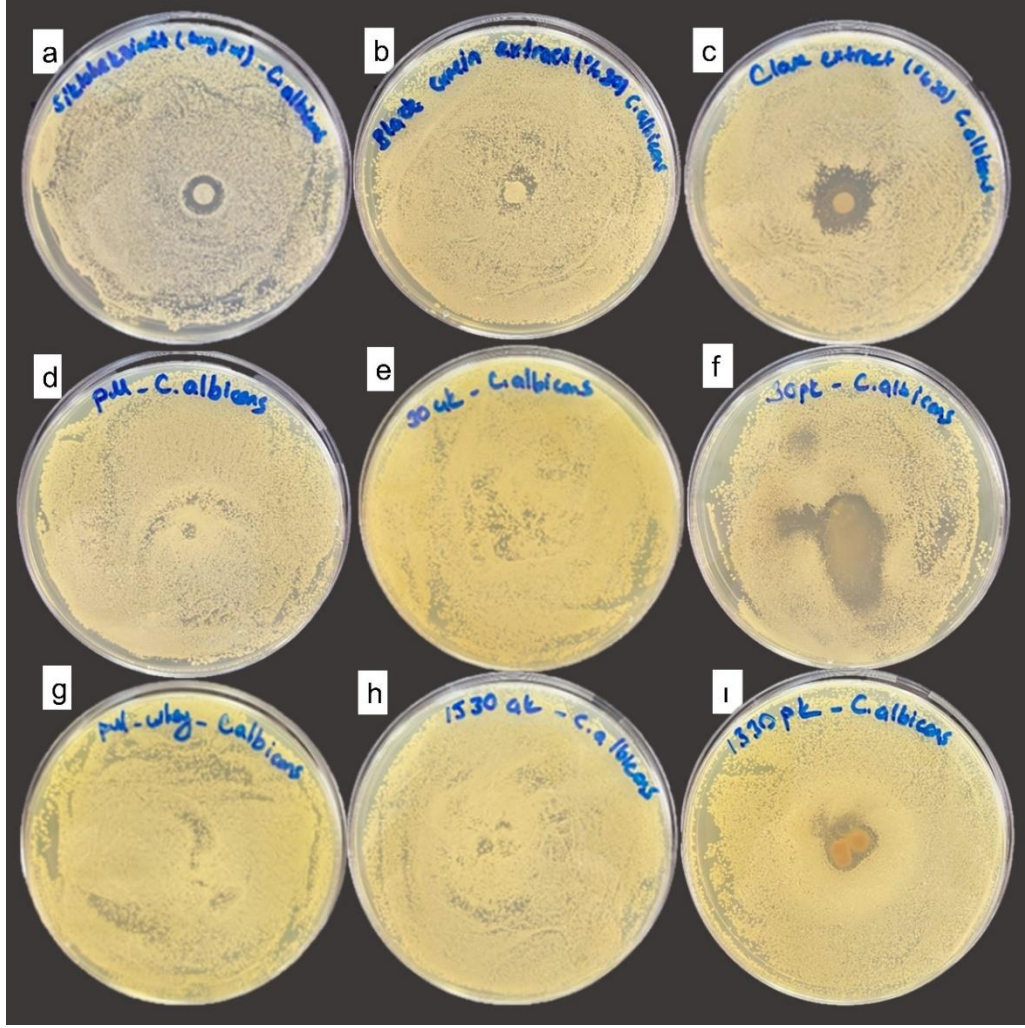
Şekil 4.30: a: Pozitif kontrol (eritromisin (10 mg/mL)), b: Çörekotu atığı ekstraktı c: Karanfil ekstraktı d: PN 15 e: ÇAE PN 15 30, f: KE PN 15 30 g: P/WN 15 h: ÇAE P/WN 15 30, i: KE P/WN 15 30 nanoliflerinin *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivitesi

(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

Yapısında polimerin ağırlıkça %30 (w/w)'u oranında ekstrakt içeren nanoliflerin ve bitkisel ekstraktların *C. albicans*'a karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye ait inhibisyon zon çapları Tablo 4.6'da, antimikrobiyal aktiviteye ait görseller ise Şekil 4.31'de verilmiştir. İlgili tablo ve şekiller incelendiğinde çörekotu atığı ekstraktı ve çörekotu atığı ekstraktı içeren nanoliflerin *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermedikleri görülmüştür. Karanfil ekstraktı içeren KE PN 15 30, KE P/WN 15 30 nanolifleri ile karanfil ekstraktının antimikrobiyal aktivitesine ait inhibisyon zon çaplarının ise; sırasıyla 24,59, 13,94, 18,78 mm oldukları belirlenmiştir. KE PN 1530 nanolifinin ve karanfil ekstraktının *C. albicans*'a karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite, pozitif kontrol örneği olan siklohegzimit (6 mg/mL)'in gösterdiği antimikrobiyal aktiviteden daha yüksek ($p<0,05$) iken, KE P/WN 15 30 nanolifinin gösterdiği aktivitenin ise istatistiksel olarak pozitif kontrol örneğinden farklı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Yapısında polimerin ağırlıkça %30 (w/w)'u oranında ekstrakt içeren nanoliflerin ve bitkisel ekstraktların *A. flavus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi de araştırılmış ve nanolifler arasından sadece KE PN 15 30 nanolifinin, ekstraktlar arasından ise sadece karanfil ekstraktının *A. flavus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu tespit edilmiştir. KE PN 15 30 nanolifinin antimikrobiyal aktivitesine ait inhibisyon zon çapının 9,09 mm, karanfil ekstraktına ait inhibisyon bölgesi çapının ise 6,53 mm olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.6, Şekil 4.32). Elde edilen sonuçlara göre KE PN 15 30 nanolifi karanfil ekstraktına göre daha yüksek bir aktiviteye sahiptir ($p<0,05$). Fakat hem karanfil ekstraktı hem de karanfil ekstraktı ilave edilmiş KE PN 1530 nanolifinin *A. flavus*'a karşı gösterdiği aktivitenin pozitif kontrol (siklohegzimit (6 mg/mL)) örneğinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Çallıoğlu ve diğ. (2020) farklı oranlarda (%1, 3, 5, 7) karanfil esansiyel yağı ilaveli polivinilpirolidon/jelatin nanolifi eldesi gerçekleştirdikleri çalışmada; farklı oranlarda karanfil uçucu yağı içeren nanolifler elde edilmiş ve bu nanoliflerin *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı aktivite gösterdiği, elde edilen nanolifler arasında ise %5 oranında uçucu yağ içeren nanolifin en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

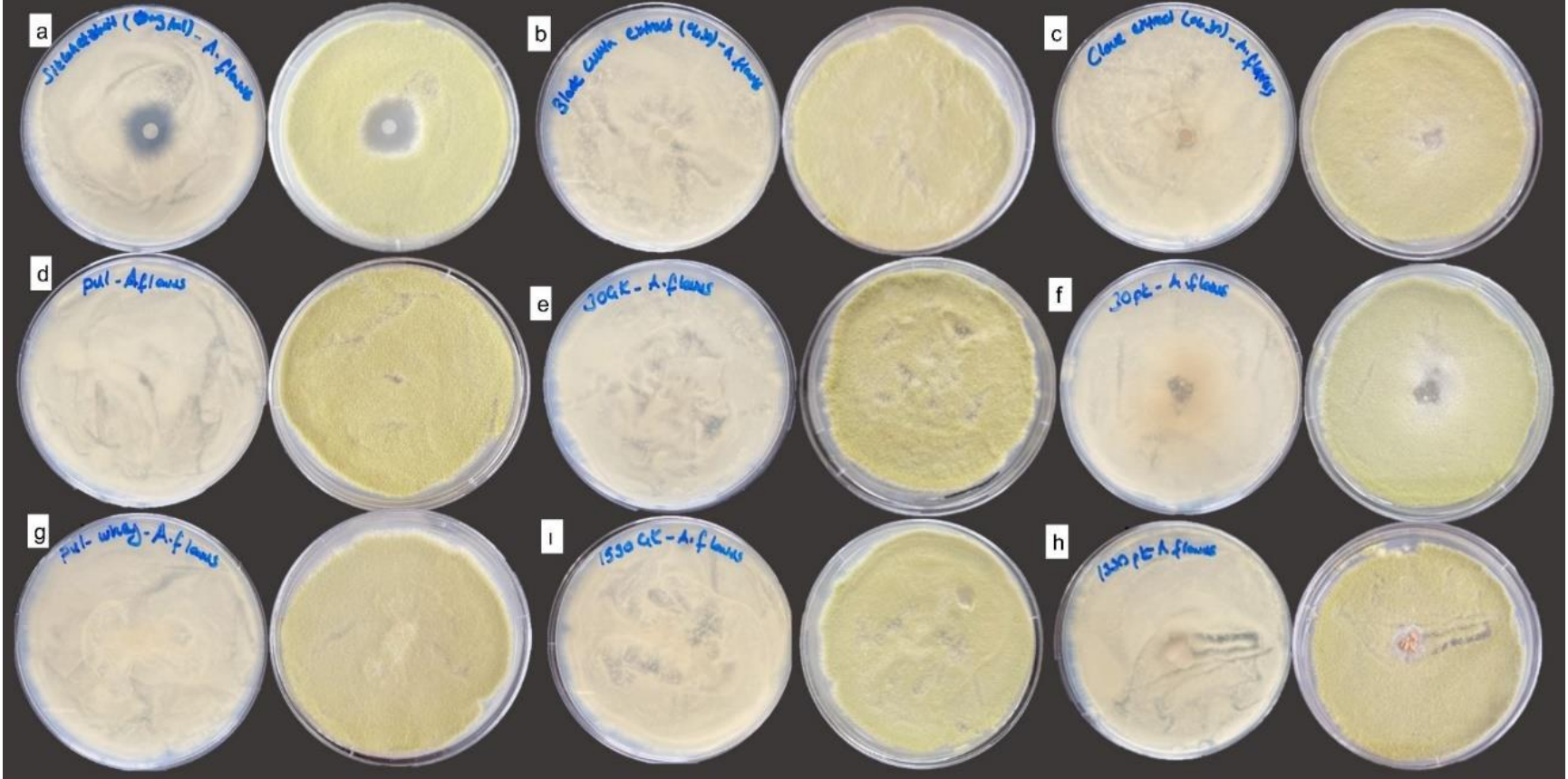


Şekil 4.31: a: Pozitif kontrol (siklohegzimit (6 mg/mL), b: Çörekotu atığı ekstraktı c: Karanfil ekstraktı, d: PN 15 e: ÇAE PN 15 30, f: KE PN 15 30 g: P/WN 15 h: ÇAE P/WN 15 30, ı: KE P/WN 15 30 nanoliflerinin *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi

(Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

Tüm nanolif örneklerinin, Gram (+) bakterilere (*S. aureus* ve *M. luteus*) göstermiş oldukları antimikrobiyal aktivite, *E. coli*'ye, *C. albicans*'a ve *A. flavus*'a karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteden daha yüksektir. Tüm mikroorganizmalara karşı aktivite gösteren KE PN 15 30 nanolifinin *E. coli*'ye karşı gösterdiği aktivite ile *A. flavus*'a karşı gösterdiği aktivite arasında fark bulunmazken ($p > 0,05$), *A. flavus*'a kıyasla *C. albicans*'a daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Gram (-) bakterilerin antimikrobiyal aktivite açısından fenolik bileşenlere karşı daha dirençli olmasının nedeni; bu organizmaların çift katmanlı hücre zarından kaynaklanmaktadır (Holley ve Patel 2005, Vanin ve diğ. 2014, Balcerek ve diğ. 2022). Gram pozitif

bakterilerde tek kat glikoprotein/teikoik asitten oluşan bir zar varken, mayalarda ise glikoprotein/betaglukan bazlı bir hücre zarı bulunmaktadır. Bu nedenle maya ve Gram (+) bakteriler Gram (-) bakterilere göre fenolik bileşenlere daha az direç göstermektedirler. Maya ve mantarların zarlarında bulunan ancak prokaryotik hücrelerde bulunmayan steroller, bu antimikrobiyalere karşı direnç sağlamaz (Holley ve Patel 2005).



Şekil 4.32: a: Pozitif kontrol (eritromisin (10 mg/mL)), b: Çörekotu atığı ekstraktı c: Karanfil ekstraktı, d: PN 15 e: ÇAE PN 15 30, f: KE PN 15 30 g: P/WN 15 h: ÇAE P/WN 15 30, ı: KE P/WN 15 30 nanoliflerinin *A. flavus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesi (Nanolif kodlarının açıklamaları için bkz. Tablo 3.1)

4.3 Sosis Örneklerinin Nanolifler ile Kaplanması

4.3.1 Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin pH Değerleri

Yapısında karanfil ve çörekotu atığı ekstraktı bulunan nanolifler ile kaplanan sosis örneklerine ait pH sonuçları Tablo 4.7’de verilmiştir. pH sonuçları incelendiğinde 0 ve 1. günlerde örneklerin pH’sı arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Depolamanın 4 ve 7. günlerinde kontrol ve pullulan nanolifi ile kaplanan sosis örneklerinin pH’sı arasında fark görülmezken ($p > 0,05$), kontrol ve pullulan nanolifi ile kaplı sosis örneklerinin pH’sının ekstrakt içeren pullulan nanolifi ile kaplı sosis örneklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Depolamanın 10. gününe gelindiğinde ise örneklerin pH’sı arasındaki ilişkinin $pH_{\text{kontrol}} > pH_{\text{PNK}} > pH_{30\text{ÇNK}} > pH_{30\text{KNK}}$ şeklinde olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Elde edilen sonuçlara göre depolama süresi ile tüm örneklerin pH’sında artış meydana gelmiştir. Fakat pH’daki bu artışın en az karanfil ekstraktı yüklü nanolif ile kaplanan örnekte en fazla ise kontrol örneğinde olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Depolama süresi boyunca pH’da gerçekleşen bu artış bakteriyal metabolizma sonucunda oluşan metabolitlerin toplanması ve proteinlerin deaminasyonu sonucu oluşan bazik karakterdeki bileşenlerden kaynaklı olabilir (Shukla ve diğ., 2020).

Sharma ve diğ. (2017) karanfil yağı, fesleğen yağı, kekik yağı ve Çin Tarçını yağlarını taze tavuk sosislerine ilave ettikleri çalışmalarında sosis örneklerini 4°C’de 20 gün boyunca depolamışlardır. Sosislerin pH, TBARS, renk değerleri gibi analizlerini gerçekleştirdikleri bu çalışmada pH değerlerinde depolama esnasında bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Fakat karanfil yağı, fesleğen yağı, kekik yağı ve Çin Tarçını yağı ilavesi gerçekleştirilen sosis örneklerinin pH artışının kontrol örneklerine göre daha yavaş gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Venkatachalam ve Lekjing (2020) karanfil yağı ve nisin ilavesi gerçekleştirdikleri kitosan filmleri ile domuz köftelerini kaplayarak 15 gün boyunca 4°C’de depolamıştır. Köfte örneklerinin pH’sının depolama süresince arttığı fakat karanfil yağı ilave edilerek elde edilen kitosan filmleriyle kaplı olan

örneklerde kontrol grubuna göre daha yavaş bir şekilde pH artışı gerçekleştiğini tespit etmişlerdir.

Rahman ve diğ. (2021) dana köfteleri üzerine yaptıkları çalışmada köfte formülasyonuna %0,1, %0,2 ve %0,3 oranlarında çörek otu ekstraktı ilave etmişler ve 15 gün boyunca 4°C'de depolamışlardır. Köfte örneklerinin pH'sının depolama süresince azaldığını tespit etmişlerdir. Çörekotu ekstraktı ilave edilen köfte örneklerinin pH'sının ise kontrol örneğine göre daha yavaş azaldığını tespit etmişler ve bunu çörekotu ekstraktının örneklerde meydana gelebilecek lipid ve protein oksidasyonunu yavaşlatmasına ve antimikrobiyal etkisine bağlamışlardır.

4.3.2 Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin TBARS Değerleri

Lipit oksidasyonu, et ve kümes hayvanlarının kalitesini ve kabulünü etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Bu reaksiyon, doymamış yağ asitleri açısından oldukça zengin yağ içeriğine sahip olan kümes hayvanlarında kolayca oluşur (Beltran ve diğ. 2003). Lipit oksidasyonu ayrıca kaslı gıdalarda tazelik kaybına neden olan faktörlerden birisidir (Xiong ve diğ. 2015). Lipidlerdeki oksidasyon reaksiyonları sırasında, çoklu doymamış yağ asitleri önce hidroperoksitlere parçalanır ve daha sonra hidroperoksitler, acılaşımdan sorumlu aldehit, keton vb. bazı bileşiklere dönüşür. Lipit oksidasyonunun ikincil ürünlerini (özellikle malondialdehitler) TBARS analizi gerçekleştirilerek belirlenir (Özünü ve Ergezer 2022). Lipit oksidasyonu, fosfolipitlerin bileşiminden, çoklu doymamış yağ asitlerinin miktarından, metal iyonlarının varlığından, oksijenden, hem pigmentlerinden, mekanik işlemlerden ve işleme sırasında tuz ilavesinden etkilenir (Biswas ve diğ. 2012).

Yapısında karanfil ve çörekotu atığı ekstraktı bulunan nanolifler ile kaplanan sosis örneklerine ait TBARS sonuçları Tablo 4.7'de verilmiştir. 0. ve 1. günlerde örnekler kendi arasında kıyaslandığında istatistiki açıdan bir fark görülmemektedir ($p>0,05$). Fakat her bir örnek için ayrı ayrı bakıldığında ise örneklerin lipid oksidasyonunun 4. günden itibaren hızlanmaya başladığı görülmektedir. 4. günde en yüksek TBARS değerine kontrol grubu sahip iken ekstrakt yüklenmemiş pullulan nanolifi ile kaplanan sosis örneklerinin TBARS değeri kontrol grubunu takip etmektedir ($p<0,05$). Ekstrakt yüklenen nanoliflerle kaplı sosis örneklerinin 4. Gün TBARS

değerleri kendi aralarında kıyaslandığında herhangi bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$), fakat her iki örneğinde diğer gruplardan daha düşük TBARS değerine sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). 7. gün ve 10. gün sonuçlarına bakıldığında ise bitkisel ekstrakt içermeyen pullulan nanolifi ile kaplanan sosis örnekleri ve kontrol örneklerinin oksidasyon derecesinin bitkisel ekstrakt yüklü nanolif örnekleri ile kaplanan sosis örneklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca bitkisel ekstrakt yüklü nanolif örnekleri ile kaplı sosis örneklerinden çörekotu atığı ekstraktı içeren nanolif ile kaplanan sosis örneklerinin oksidasyon derecesi karanfil ekstraktı içeren nanolif ile kaplanan sosis örneklerinden daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0,05$). Örnekler oksidasyon hızı açısından kıyaslandığında ise lipid oksidasyonun en hızlı gerçekleştiği grubun kontrol grubu olduğu, en yavaş okside olan grubun ise karanfil ekstraktı ilavesi gerçekleştirilmiş nanolifler ile kaplanan sosis örneklerine ait grup olduğu belirlenmiştir. Bu durumda bitkisel ekstrakt yüklü nanolif kaplamanın lipid oksidasyonunu yavaşlatıcı bir etkiye sahip olduğu söylenebilmektedir. Ayrıca oksidasyon ilerledikçe her iki ekstrakt arasındaki fark daha bariz bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Karanfil ekstraktı ve çörekotu atığı ekstraktının antioksidan aktivitesi nedeniyle, ekstrakt içeren nanoliflerle kaplı sosis örneklerinin TBARS değerlerinin daha düşük çıktığı düşünülmektedir.

Tablo 4.7: 4 °C’de 10 gün boyunca depolanan sosilerin pH ve TBARS değerindeki değişimler

Örnek	Depolama Süresi (Gün)				
	0	1	4	7	10
pH Değeri					
Kontrol	5,09±0,04 ^{aa}	5,09±0,04 ^{aa}	5,36±0,01 ^{ab}	5,75±0,10 ^{ac}	5,94±0,01 ^{ad}
PNK	5,05±0,02 ^{ba}	5,07±0,02 ^{aa}	5,35±0,01 ^{ab}	5,66±0,05 ^{ac}	5,92±0,01 ^{bd}
30ÇNK	5,08±0,02 ^{abA}	5,08±0,01 ^{aA}	5,26±0,01 ^{bB}	5,31±0,02 ^{bc}	5,39±0,00 ^{cd}
30KNK	5,04±0,00 ^{ba}	5,05±0,01 ^{aA}	5,24±0,01 ^{bB}	5,28±0,01 ^{bc}	5,33±0,00 ^{dd}
TBARS (mg malonaldehit/kg sosis)					
Kontrol	1,07±0,00 ^{Aa}	1,07±0,00 ^{Aa}	1,33±0,03 ^{Ba}	1,39±0,00 ^{Ca}	1,43±0,00 ^{Da}
PNK	1,07±0,00 ^{Aa}	1,07±0,01 ^{Aa}	1,24±0,00 ^{Bb}	1,29±0,00 ^{Cb}	1,38±0,00 ^{Db}
30ÇNK	1,07±0,00 ^{Aa}	1,07±0,00 ^{Aa}	1,12±0,00 ^{Bc}	1,15±0,01 ^{Cc}	1,18±0,00 ^{Dc}
30KNK	1,07±0,01 ^{Aa}	1,07±0,00 ^{Aa}	1,11±0,00 ^{Bc}	1,12±0,00 ^{Cd}	1,14±0,00 ^{Dd}

a,b,c,d aynı sütunda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

A,B,C,D aynı satırda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

Antioksidan aktivite (AH), oksidatif zincir reaksiyonlarının başlama veya yayılma basamağını inhibe ederek veya radikal olmayan ürünler oluşturan stabil radikaller (A) oluşturarak lipitlerin veya diğer moleküllerin oksidasyonunun geciktirilmesi veya inhibe edilmesi olarak ifade edilebilir. Bitki ekstraktlarında bulunan flavonoidler, gıda sistemlerindeki (yağlar, sıvı yağlar ve emülsiyonlar) trigliseritlerin oksidasyonu sırasında meydana gelen radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırır ve böylece serbest radikal süpürücü görevi görebilir (Perumalla ve Hettiarachchy 2011).

Shukla ve diğ. (2020) karanfil esansiyel yağı ilave ederek elde ettikleri kitosan yenilebilir filmlerinin aralarında bulunduğu dört ayrı yenilebilir film kaplama (kontrol grubu, %1 asetik asit, %1,5 oranında kitosanın %1'lik asetik asit içerisinde çözündürülmesi ile elde edilen kaplama, ve %1,5 oranında kitosanın %1'lik asetik asit içerisinde çözündürülmesiyle elde edilen çözeltiye %0,5 oranında karanfil esansiyel yağı ilave edilerek hazırlanan kaplama) ile tavuk köftelerini kaplamış ve 35 gün boyunca 4°C'de depolamışlardır. Dört farklı yenilebilir film arasından TBARS'ı en düşük olan grubun karanfil esansiyel yağı ilave edilerek elde edilen kitosan filmleriyle kaplanan köfteler olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca bunun nedeninin karanfil esansiyel yağı ve kitosanın sahip olduğu antioksidan aktivite olduğunu belirtmişlerdir. Kumar ve Tanwar (2011) ise üretiminde % 0,1, 0,2 ve 0,3 oranında karanfil tozu kullandıkları tavuk nuggetları 15 gün boyunca 4°C'de depolamışlardır. Karanfil tozu içeren nuggetların kontrol grubuna göre daha düşük TBARS değerlerine sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

Zowalan ve diğ. (2020) çörekotu ekstraktının tavuk köftelerinin kalite özellikleri üzerindeki etkisi araştırdıkları çalışmalarında, çörekotunun sulu ve etanolik ekstraktını içeren ve herhangi bir ekstrakt içermeyen tavuk köfteleri üretip bunları 14 gün boyunca 4°C'de depolamışlardır. Köftelerin TBARS sonuçlarına bakıldığında etanolik ekstrakt içeren köftelerin diğer gruplara göre daha düşük TBARS içeriğine sahip oldukları belirlenmiştir.

4.3.3 Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin Renk Değerleri

Renk, gıdanın en önemli duyuşal özelliği olabilir ve bu nedenle genel gıda kalitesini belirlemede öncü bir konuma sahiptir. Renk; lezzet, tatlılık ve tuzluluk gibi diğer duyuşal özelliklerin yanı sıra nem içeriği, aşırı işleme ve pigment içeriği gibi

duyusal olmayan kalite özelliklerinin önemli bir belirleyicisi olarak tüketicinin yargısını etkiler (Clydesdale 1991). Yapısında karanfil ve çörekotu atığı ekstraktı bulunan nanolifler ile kaplanan sosis örneklerine ait L^* (parlaklık), a^* (kırmızılık) ve b^* (sarılık) değerleri Tablo 4.8’de verilmiştir. Depolamanın 0. gününe bakıldığında karanfil ekstraktı içeren nanolif ile kaplanan sosis örneklerinin L^* değerinin diğer örneklerden daha düşük olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Bunun nedenin ise karanfil ekstraktının koyu renginden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer sosis grupları arasında ise 0. günde L^* değeri açısından herhangi bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Depolama süresi sonunda kontrol örneklerin L^* değerinin azaldığı ve bu azalmanın depolamanın 4. Gününde başladığı belirlenmiştir. Nanolifler ile kaplanmış sosis örneklerinin ise L^* değerinde depolama süresince istatistiksel olarak herhangi bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$). L^* değeri bir ürünün parlaklığı ya da koyuluğu hakkında fikir vermektedir. Kontrol gruplarının L^* değerinde meydana gelen bu azalma depolama sırasında sosis örneklerinin nem içeriğinde meydana gelen azalma ile açıklanabilmektedir (Shukla ve diğ. 2020). Can (2021) limon esansiyel yağı ilavesiyle elde ettiği jelatin ve polikaprolakton nanolifleriyle kapladığı tavuk göğüs etinin L^* değerinin, kaplanmamış tavuk göğüs etine göre daha yüksek olduğunu belirtmiştir.

Sosis örneklerinin depolamasının 0. gününde kontrol örneklerinin a değerinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu ($p<0,05$), nanolifler ile kaplanan tüm grupların a^* (kırmızılık) değerlerinin ise kendi arasında istatistiksel olarak fark göstermediği belirlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.8). Tüm örnek gruplarının a^* değerlerinin depolama süresi sonunda azaldığı tespit edilmiştir. a^* değerindeki azalmanın en yavaş gerçekleştiği grup karanfil ekstraktı ilave edilerek elde edilen nanolifler ile kaplanan grup olurken, en hızlı şekilde azalmanın gerçekleştiği grup ise ekstrakt ilavesi gerçekleştirilmeksizin elde edilen pullulan nanolifi ile kaplanan grup olmuştur ($p<0,05$). Devatkal ve diğ. (2011) nar, nar çekirdeği ve kinnow mandalinası ekstraktları ilave edilerek ürettikleri tavuk köftelerinde, Venkatachalam ve Lekjing (2020) ise karanfil esansiyel yağı ve nisin ilavesiyle elde ettikleri kitosan filmleriyle kapladıkları domuz köftelerinde de benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Tablo 4.8: 4 °C’de 10 gün boyunca depolanan sosislerin CIELAB renk değerindeki değişimler

Örnek	Depolama Süresi (Gün)				
	0	1	4	7	10
L* Değeri (Parlaklık)					
Kontrol	55,32±0,08 ^{Aa}	55,21±0,06 ^{Aa}	53,46±0,13 ^{Ba}	52,09±1,06 ^{Bab}	52,16±0,52 ^{Bb}
PNK	57,27±0,59 ^{Aa}	57,20±0,57 ^{Aa}	54,99±1,39 ^{Aa}	54,69±1,59 ^{Aa}	56,31±0,24 ^{Aa}
30ÇNK	56,12±1,00 ^{Aa}	55,95±1,04 ^{Aa}	54,15±1,00 ^{Aa}	54,97±0,79 ^{Aa}	56,72±0,27 ^{Aa}
30KNK	49,57±1,36 ^{Ab}	50,13±1,24 ^{Ab}	49,14±1,53 ^{Ab}	50,63±0,02 ^{Ab}	50,81±0,34 ^{Ac}
a* Değeri (Kırmızılık)					
Kontrol	28,90±0,34 ^{Aa}	28,51±0,41 ^{Aa}	27,93±0,02 ^{Ba}	27,47±0,19 ^{Ba}	26,75±0,21 ^{Ca}
PNK	27,35±0,13 ^{Ab}	26,70±0,52 ^{Bb}	25,93±0,07 ^{Cc}	25,50±0,06 ^{Cc}	23,99±0,44 ^{Dc}
30ÇNK	27,49±0,06 ^{Ab}	26,81±0,30 ^{Bb}	27,02±0,03 ^{Bb}	26,23±0,04 ^{Cb}	25,25±0,12 ^{Db}
30KNK	27,18±0,31 ^{Ab}	26,56±0,30 ^{Bb}	26,02±0,10 ^{Cc}	25,58±0,32 ^{Cc}	25,56±0,13 ^{Cb}
b* Değeri (Sarılık)					
Kontrol	15,11±0,05 ^{Aa}	14,83±0,15 ^{Ba}	14,58±0,20 ^{Ca}	14,37±0,09 ^{CDa}	14,30±0,05 ^{Da}
PNK	14,36±0,23 ^{Ab}	14,24±0,01 ^{Ab}	14,17±0,10 ^{Ab}	13,26±0,04 ^{Bb}	13,23±0,01 ^{Bb}
30ÇNK	14,43±0,41 ^{Ab}	14,07±0,25 ^{ABb}	13,77±0,11 ^{BCc}	13,61±0,04 ^{BCb}	13,50±0,33 ^{Cb}
30KNK	13,90±0,02 ^{Ac}	14,09±0,21 ^{ABb}	13,87±0,05 ^{ABc}	13,68±0,20 ^{Bc}	13,39±0,15 ^{Cb}

a,b,c,d aynı sütunda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (p<0,05).

A,B,C,D aynı satırda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (p<0,05).

Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

TBARS değerlerindeki artış da göz önünde bulundurulduğunda a* değerindeki bu azalmanın miyogloblin oksidasyonu kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Oksidasyon sırasında, demir atomları miyogloblin moleküllerini oksitleyebilir veya denatüre edebilir, bu da ürünlerin rengini olumsuz yönde değiştirebilir ve miyogloblini metmyoglobline dönüştürebilir (Özönlü ve Ergezer 2018). Azalan kırmızılık değerleri met-miyogloblin oluşumunun göstergesidir (Devatkal ve diğ 2011).

Örneklerin b* değerlerine bakıldığında ise; 0. günde en yüksek b* değerine kontrol grubu sahipken (p<0,05), en düşük b değeri ise karanfil ekstraktı ilave edilerek üretilen nanoliflerle kaplanmış sosis örneklerinin sahip olduğu belirlenmiştir (p<0,05) (Tablo 4.8). Depolama süresi sonunda ise kontrol grubu örneklerinin b* değeri diğer tüm gruplara göre daha yüksek iken (p<0,05), diğer örnek gruplarının b* değerleri

arasında fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Depolama süresi sonunda tüm grupların b^* değerlerinin 0. günden daha düşük olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). b^* değerlerindeki bu azalmanın en yavaş karanfil ekstraktı ilave edilerek üretilen nanoliflerle kaplanmış sosis örneklerinde olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Bu grubu ise çörekotu atığı ekstraktı ilave edilerek üretilen nanoliflerle kaplanmış sosis örnekleri takip etmektedir. Shukla ve diğ. (2020) karanfil esansiyel yağı ilave ederek elde ettikleri kitosan yenilebilir filmler ile tavuk köftelerinin kapladıkları çalışmada kaplamalı ve kaplamasız olan tüm örneklerin depolama süresi boyunca b değerinde azalma meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Lin ve diğ. (2018) kekik esansiyel yağı ilave ederek ürettikleri jelatin nanolifi ile kapladıkları tavuk göğüs eti örneklerini 4°C 'de 7 gün ve 25°C 'de 5 gün boyunca depolamışlardır. Hem kontrol gruplarının hem de nanolif ile kaplanmış örneklerin depolama süresi boyunca L^* , a^* ve b^* değerlerinin azaldığını fakat kontrol grubuyla nanolifle kaplanan örnekler arasında L^* , a^* ve b^* değerleri açısından herhangi bir fark olmadığı tespit ederek nanolif ile tavuk örneklerinin kaplanmasının renk değerleri üzerine herhangi bir olumsuz etkisi olmadığını ifade etmişlerdir.

4.3.4 Nanolifler ile Kaplanan Sosis Örneklerinin Mikrobiyolojik Kalitesi

Gıda kaynaklı hastalıkların sonuçları çok ciddidir. Ekonomik kayıplara ve hatta ölümlere neden olabilirler. Bakteriler, parazitler, kimyasallar ve virüsler kontamine gıdalar yoluyla hastalığa neden olabilir. *Escherichia coli* yaygın gıda patojenlerinden birisidir. *E. coli* enfeksiyonlarının salgınları genellikle kıyma, yeşil yapraklı sebzeler ile ilişkilendirilmektedir (Ma ve diğ. 2019).

Listeria monocytogenes ise hem tarım hem de gıda işleme ortamlarında yaygın olarak görülen bir patojendir. *L. monocytogenes*'in yaygın olarak kontamine süt, et ve kümes hayvanı ürünleri veya meyve ve sebze kaynaklı gıda zehirlenmelerine neden olduğu bilinmektedir. Genellikle tekrar pişirilmeden kullanılan yemeye hazır (RTE) et ürünleri, ısıl işlemden sonraki potansiyel kontaminasyon nedeniyle endişe verici olabilirler. Pek çok bakterinin aksine *Listeria* buzdolabı koşullarında canlılığını muhafaza edebilir hatta çoğalabilir (Lara-Lledó, ve diğ. 2012).

Gıdalardaki koruyucular, bozulmaya neden olan bakterilerin ve gıda kaynaklı patojenlerin büyümesini önleyebilir; bu nedenle özellikle et ürünlerinde koruyucuların kullanılması gerekmektedir. Bununla birlikte, gıda üretiminde kullanılan koruyucuların çoğu kimyasal katkı maddeleridir ve sağlığa zararlı etkileri bulunabilmektedir (Lee ve diğ., 2021). Bu doğrultuda, uygun alternatiflerin araştırılması, özellikle doğal kaynaklardan elde edilen bileşikler gıda alanında araştırma ve geliştirmenin ana konularından biridir (Munekata ve diğ., 2020). Bu antibakteriyel ajanlardan ikisi ise çalışmamızda kullanılan karanfil ve çörekotudur.

Steril koşullarda 10^2 kob/mL düzeyinde *E.coli* ve *L.monocytogenes* inokülasyonu gerçekleştirildikten sonra karanfil ekstraktı ve çörekotu atığı ekstraktı içeren nanoliflerle kaplanan sosis örneklerine ait *E. coli* ve *L. monocytogenes* sayısındaki değişimler Tablo 4.9'da verilmiştir. 0. gün sonuçlarına bakıldığında örnek grupları arasında *E. coli* sayısı açısından istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). 1, 4 ve 7. Günlere bakıldığında ise kontrol grubu ve pullulan nanolifi ile kaplı sosis örnekleri arasında *E. coli* sayısı açısından fark bulunmazken ($p>0,05$), bu iki örnek grubundaki mikroorganizma yükü bitkisel ekstrakt içeren gruplara göre daha yüksektir ($p<0,05$). 1, 4 ve 7. günlerde en düşük mikroorganizma yüküne sahip olan grup karanfil ekstraktı içeren nanolifler ile kaplanmış olan sosis örnekleri iken çörekotu atığı ekstraktı içeren nanolif ile kaplanan sosis örnekleri ise en düşük mikroorganizma yüküne sahip ikinci gruptur ($p<0,05$). Depolamanın 10. gününe kadar pullulan nanolifi ile kaplanan sosis örnekleri ve kontrol grubu arasında mikrobiyal yük açısından fark bulunmamıştır. Depolamanın 10. günündeki *E. coli* yükleri ise sırasıyla Kontrol>PNK>30ÇNK>30KNK şeklindedir. 10 günlük depolama süresi sonunda karanfil ekstraktı içeren nanoliflerin *E. coli* yükünü kontrol grubuna göre 1,98 log düzeyinde azalttığı, çörekotu atığı ekstraktı içeren nanoliflerin ise *E. coli* yükünü 1,01 log düzeyinde azalttığı tespit edilmiştir.

Cui ve diğ. (2018) karanfil/kitosan nanolifleri gömülü jelatin nanolifleri üzerine yaptıkları çalışmada, salatalık parçalarına 10^6 kob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 inokülasyonu gerçekleştirmişlerdir. Daha sonra salatalık örnekleri farklı oranlarda (6 mg/mL-9 mg/mL) karanfil/kitosan nanolifleri içeren jelatin nanolifleri ile kaplanarak 4, 12, 25 ve 35 °C'de 4 gün boyunca depolanmıştır. 4 gün boyunca 12°C'de depolanan

salatalık örneklerinin *E. coli* sayısında 4,28-4,97 log düzeyinde azalma meydana gelmiştir.

Tablo 4.9: 4 °C'de 10 gün boyunca depolanan sosislerin *E.coli* ve *L.monocytogenes* sayısındaki değişimler

Örnek	Depolama Süresi (Gün)				
	0	1	4	7	10
<i>E. coli</i> (Log kob/g)					
Kontrol	2,06±0,03 ^{Aa}	3,19±0,01 ^{Ba}	3,97±0,05 ^{Ca}	4,83±0,01 ^{Da}	4,93±0,01 ^{Ea}
PNK	2,02±0,03 ^{Aa}	3,14±0,01 ^{Aa}	3,93±0,01 ^{Ba}	4,75±0,02 ^{Ca}	4,80±0,08 ^{Db}
30ÇNK	2,05±0,1 ^{Aa}	2,98±0,01 ^{Bb}	3,24±0,04 ^{Cb}	4,05±0,04 ^{Db}	3,92±0,01 ^{Dc}
30KNK	2,00±0,04 ^{Aa}	2,55±0,07 ^{Bc}	2,24±0,15 ^{Ac}	3,04±0,12 ^{Cc}	2,95±0,00 ^{Cd}
<i>L. monocytogenes</i> (Log kob/g)					
Kontrol	2,03±0,12 ^{Aa}	2,51±0,01 ^{Ba}	2,91±0,08 ^{Ca}	3,66±0,08 ^{Da}	3,96±0,03 ^{Ea}
PNK	2,02±0,14 ^{Aa}	2,45±0,02 ^{Ba}	2,90±0,05 ^{Ca}	3,58±0,10 ^{Da}	3,83±0,20 ^{Da}
30ÇNK	2,15±0,05 ^{Aa}	2,25±0,04 ^{Ab}	2,88±0,02 ^{Ba}	3,11±0,03 ^{Cb}	3,09±0,07 ^{Cb}
30KNK	1,90±0,05 ^{Aa}	2,25±0,03 ^{Bb}	2,37±0,04 ^{Bb}	2,56±0,08 ^{Cc}	2,63±0,09 ^{Cc}

a,b,c,d aynı sütunda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (p<0,05).

A,B,C,D aynı satırda farklı üssel harfler ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (p<0,05).

Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

Örnekler *L. monocytogenes* sayısı açısından değerlendirildiğinde ise, 0. gün sonuçlarına bakıldığında örnek grupları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır (p>0,05). Birinci günde kontrol grubu ve pullulan nanolifi ile kaplı sosis örnekleri arasında *L. monocytogenes* sayısı açısından fark bulunmazken (p>0,05), bu iki örnek grubundaki mikroorganizma yükü bitkisel ekstrakt içeren gruplara göre daha yüksektir (p<0,05). Ekstrakt içeren nanolifler ile kaplı olan sosis örneklerinin 1. gün mikroorganizma yükü açısından her iki grup arasında fark bulunmamaktadır (p>0,05). Dördüncü ve yedinci günlerde sosis grupları mikrobiyal yük açısından değerlendirildiğinde kontrol grubu ve pullulan nanolifi ile kaplı sosis örnekleri arasında *L. monocytogenes* sayısı açısından fark bulunmazken (p>0,05), bu grupların *Listeria* yükünün, ekstrakt içeren nanolifler ile kaplanmış sosis örneklerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,05). Dördüncü ve yedinci günlerde en düşük *Listeria* yüküne sahip olan grup karanfil ekstraktı içeren nanolifler ile kaplanan örnek grubudur (p<0,05). Depolama süresi sonunda ise en yüksek *Listeria* yüküne kontrol grubu örnekleri sahip iken (p<0,05), en düşük *Listeria* yüküne ise karanfil ekstraktı içeren

nanolifler ile kaplanan örnek grubunun sahip olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Karanfil ekstraktı içeren nanolifler ile kaplanan sosis örneklerinden sonra en düşük mikrobiyal içeriğine çörekotu atığı ekstraktı içeren nanolifler ile kaplanan sosis örnekleri sahiptir. 10 günlük depolama süresi sonunda karanfil ekstraktı içeren nanoliflerin *Listeria* yükünü kontrol grubuna göre 1,33 log düzeyinde azalttığı, çörekotu atığı ekstraktı içeren nanoliflerin ise *Listeria* yükünü 0,87 log düzeyinde azalttığı tespit edilmiştir. Doğal ekstraktların antimikrobiyal potansiyeli fenolik madde içerikleriyle alakalıdır. Bu nedenle, fenolik bileşikler ve biyoaktif bileşikler açısından zengin bitkisel yağlar ve ekstraktlar, antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirler (Mahgoub ve diğ. 2017).

Mytle ve diğ. (2006) tarafından tavuk franfurter tipi sosislere düşük (10^2 - 10^3 kob/g) ve yüksek (10^4 - 10^6 kob/g) düzeyde 7 farklı *L. monocytogenes* suşu inokülasyonu gerçekleştirilmiştir. Daha sonra sosisler %1 ve 2 oranında karanfil yağları ile muamele edilmişlerdir. Bir grup sosis 5°C'de 14 gün depolanırken, bir diğer grup ise 15°C'de 7 gün boyunca depolanmıştır. Karanfil yağı ile muamele edilen sosis örneklerindeki *L. monocytogenes* yükünün farklı depolama şartları ve uygulama koşullarında 1,3-4,5 log düzeyinde azaldığı belirtilmiştir.

Khaluque ve diğ. (2016) ise, 10^8 kob/g düzeyinde *L. monocytogenes* inoküle ettikleri kıyma örneklerini %5 ve 10 oranında laboratuvar ortamında üretilmiş ve ticari olarak temin edilmiş karanfil yağı ile muamele ettikten sonra kıyma örneklerini 0 ve 8°C'de 7 gün boyunca -18°C'de ise 60 gün boyunca depolamışlardır. Çalışmalarının sonucunda ise, %10 oranında karanfil yağının depolama sıcaklığından bağımsız olarak *L. monocytogenes*'i 3 gün içerisinde tamamen etkisiz hale getirdiğini, %5 oranında karanfil yağının ise *L. monocytogenes* popülasyonunu bir miktar azalttığını ve depolama süre ve koşullarına bağlı olarak depolama süresi boyunca ise sabit bir sayıda tuttuğunu belirtmişlerdir. Ayrıca ticari olarak temin ettikleri karanfil yağının laboratuvar ortamında elde edilen yağa göre daha etkili sonuçlar verdiğini de belirtmişlerdir.

Mahgoub ve diğ. 2017 ise çörekotu yağının *L. monocytogenes* üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında kıyma örneklerine 4,76 log kob/g düzeyinde *L. monocytogenes* inoküle etmiş ve %1, 2 ve 4 oranında çörekotu yağı ile muamele etmişler ve %4 oranında çörekotu yağı ilavesinin 2,7 log kob/g düzeyinde *L. monocytogenes* sayısını azalttığını ifade etmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın amacı elektro-eğirme yöntemi ile karanfil ve çörekotu atığı ekstraktlarını içeren pullulan/peynir altı suyu proteini nanolifleri üretmek ve bu nanoliflerle sosisleri kaplayarak, kalite parametereleri üzerine etkilerini, 10 günlük depolama süresi boyunca incelemektir. Bu kapsamda ilk etapta polimerin ağırlıkça %5'i oranında bitkisel ekstrakt içeren polimer çözeltiler elde edilmiş ve bu polimer çözeltilerin viskozite ve elektriksel iletkenlik değerlerine bakılmıştır. Toplamda 9 adet polimer çözeltinin her birisinden 2 ayı koşulda olmak üzere 18 adet farklı nanolif eldesi gerçekleştirilmiştir. Bu nanoliflerin SEM, FTIR, XRD, DSC, antimikrobiyal aktivite, toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın ilk basamağında elde edilen %5 (w/w) oranında bitkisel ekstrakt içeren nanoliflerin,

- 1) SEM görüntüleri göre, bitkisel ekstrakt içeren veya içermeyen pullulan ve pullulan/peynir altı suyu proteini (50:50 w/w) çözeltilerinden pürüzsüz nanolifler elde edilmiştir.
- 2) XRD, FTIR ve DSC verileri, bitkisel ekstraktlarla polimerler arasında iyi bir etkileşim mevcut olduğunu göstermektedir.
- 3) Her iki ekstraktın yüklü olduğu nanoliflerin hepsi antioksidan aktivite göstermektedir. Karanfil ekstraktı yüklü olan nanoliflerin antioksidan aktivitesi çörekotu atığı yüklü olan nanoliflere göre daha yüksek bulunmuştur. Nanoliflerin antioksidan aktivitesi ve fenolik madde içeriği elektro eğirme koşullarından etkilenmektedir.
- 4) Karanfil ekstraktı yüklü tüm nanolifler *S. aureus* ve *M. luteus*'a karşı aktivite gösterirken, çörekotu atığı ekstraktı yüklü olan nanoliflerden sadece çörekotu atığı ekstraktı yüklü olan pullulan nanolifleri *S. aureus*'a karşı aktivite göstermektedir. Nanoliflerin *C. albicans*'a karşı aktivitesine de bakılmış fakat sadece karanfil ekstraktı yüklü KE PN 15 nanolifi *C. albicans*'a karşı aktivite göstermiştir.

Çalışmanın ikinci basamağında ise ilk basamakta seçilen 4 adet koşulda, %30 (w/w) oranında bitkisel ekstrakt içeren nanolifler elde edilmiştir. Çalışmanın ikinci basamağında elde edilen %30 oranında bitkisel ekstrakt içeren nanoliflerin,

- 1) SEM görüntüleri göre, %30 (w/w) oranında bitkisel ekstrakt içeren pullulan ve pullulan/peynir altı suyu proteini (50:50 w/w) çözeltilerinden pürüzsüz nanolifler elde edilmiştir.
- 2) Çörekotu atığı ekstraktı içeren nanoliflerin lif çapı karanfil ekstraktı içeren nanoliflerden daha fazladır.
- 3) %30 (w/w) oranında ekstrakt içeren nanoliflerin toplam fenolik madde içeriği 26,17-167,02 mg GAE/g km, antioksidan aktivitesi ise 1905-17165 µmol TE/g km aralığında değişmektedir.
- 4) %30 (w/w) oranında çörekotu atığı ekstraktı içeren pullulan nanolifi sadece *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı aktivite gösterirken, %30 (w/w) oranında karanfil ekstraktı içeren pullulan nanolifi 5 ayrı mikroorganizmaya (*S. aures*, *M. luteus*, *E. coli*, *C. albicans*, *A. flavus*) karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir.

Çalışmanın üçüncü basamağında ise seçilen nanolifler ile kaplanan sosis örnekleri için,

- 1) Karanfil ekstraktı ve çörekotu atığı ekstraktı içeren nanolifler ile kaplanan sosis örneklerinin pH değeri kontrol grubu örneklerine göre daha yavaş artış göstermiştir.
- 2) Karanfil ekstraktı ve çörekotu atığı ekstraktı içeren nanolifler ile kaplanan sosis örnekleri kontrol grubuna göre TBARS değerini sırasıyla %20 ve %17 oranında azaltmıştır.
- 3) Nanolif ile kaplanmayan kontrol grubu örneklerinin depolama süresi sonunda L* değerinde azalma meydana gelirken, nanolif örnekleri ile kaplanan sosislerin L* değerlerinde değişme meydana gelmemiştir
- 4) Bitkisel ekstrakt içeren nanolifler ile kaplı sosis örneklerinin a* değerinde meydana gelen azalma kontrol grubuna göre daha yavaş seyretmektedir.
- 5) Bitkisel ekstrakt içeren nanolifler ile kaplı sosis örneklerinin b* değerinde meydana gelen azalma kontrol grubuna göre daha yavaş seyretmektedir.

- 6) Karanfil ekstraktı yüklü nanolif ve çöreotu atığı ekstraktı yüklü nanolif kaplaması; *E. coli* sayısını sırasıyla 1,98 ve 1,01 log düzeyinde ve *L. monocytogenes* sayısını ise sırasıyla 1,33 ve 0,87 log düzeyinde azaltmıştır.

Bu sonuçlar doğrultusunda elde edilen nanolifler sağlığa zararlı herhangi bir kimyasal içermemesi, yeşil teknolojiyi desteklemesi gibi nedenler de göz önünde bulundurulduğunda gıda ambalajlama teknolojisinde gelecek vaadeden bir yöntem olabilir. Fakat yöntemin daha fazla ekstrakt konsantrasyonlarında ve farklı polimerle denenmelidir. Ayrıca ekonomik fizibilite açısından da değerlendirilmelerin yapılması gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abdullah, M. F., Nuge, T. Andriyana, A., Ang, B. C. and Muhamad, F., “Core–shell fibers: design, roles and controllable release strategies in tissue engineering and drug delivery”, *Polymers*, 11(12), (2019).
- Ahmed, S. M., Ahmed, H., Tian, C., Tu, Q., Guo, Y. and Wang, J., “Whey protein concentrate doped electrospun poly (epsilon-caprolactone) fibers for antibiotic release improvement”, *Colloids Surf., B*, 143, 371-381, (2016).
- Ali, A., Mohebbullah, M., Shahid, M. A., Alam, S., Uddin, M. N., Miah, M. S. and Khan, M. S.,” PVA-*Nigella sativa* nanofibrous mat: antibacterial efficacy and wound healing potentiality”, *J. Text. Inst.*, 112(10), 1611-1621, (2021).
- Almetwally, A. A., El-Sakhawy, M., Elshakankery, M.H. and Kasem, M.H., “Technology of nano-fibers: production techniques and properties-critical review”, *J. Text. Assoc*, 78(1), 5-14, (2017).
- Amna, T., Gharsan, F. N., Shang, K., Hassan, M. S., Khil, M. S. and Hwang, I., “Electrospun twin fibers encumbered with intrinsic antioxidant activity as prospective bandage”, *Macromol. Res.*, 27(7), 663-669, (2019).
- Andrady, A. L., Science and technology of polymer nanofibers, New Jersey: John Wiley and Sons, (2008).
- Angamma, C. J. and Jayaram, S. H., “Fundamentals of electrospinning and processing technologies”, *Part. Sci. Technol.*, 34(1), 72-82, (2016).
- Arslan, S., “Çörek otu posasının aktif karbon üretiminde değerlendirilmesi”, *FÜMBD*, 33(1), 193-201, (2021).
- Asgher, M., Qamar, S. A. and Iqbal, H. M., “Microbial exopolysaccharide-based nano-carriers with unique multi-functionalities for biomedical sectors”, *Biologia*, 76, 673-685, (2021).

Aslaner, G., Sumnu, G. and Sahin, S., “Encapsulation of grape seed extract in rye flour and whey protein–based electrospun nanofibers”, *Food Bioprocess Technol.*, 14(6), 1118-1131, (2021).

Azizzadeh, F., “The separation separation of phenolic phenolic compounds from red colored fruit fruit juices juices by using using electrospun nanofiber membranes”, M.Sc. Thesis, *Istanbul Technical University, Graduate School of, Science Engineering and Technology*, İstanbul, (2017).

Baji, A., Mai, Y. W., Wong, S. C., Abtahi, M. and Chen, P., “Electrospinning of polymer nanofibers: effects on oriented morphology, structures and tensile properties”, *Compos. Sci. Technol.*, 70(5), 703-718, (2010).

Beachley, V. and Wen, X., “Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length”, *Mater. Sci. Eng., C*, 29(3), 663-668, (2009).

Beltran, E., Pla, R., Yuste, J. and Mor-Mur, M., “Lipid oxidation of pressurized and cooked chicken: role of sodium chloride and mechanical processing on TBARS and hexanal values”, *Meat Sci.*, 64(1), 19-25, (2003).

Bera, B., “Literature review on electrospinning process (a fascinating fiber fabrication technique)”, *IJIR*, 2(8), 972-984, (2016).

Bhardwaj, N. and Kundu, S. C., “Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique”, *Biotechnol. Adv.*, 28(3), 325-347, (2010).

Biswas, A. K., Chatli, M. K. and Sahoo, J., “Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii L.*) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage”, *Food Chem.*, 133(2), 467-472, (2012).

Can, F. Ö., “Encapsulation of lemongrass oil for antimicrobial and biodegradable food packaging applications”, PhD. Thesis, *Yildiz Technical University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Chemical and Metallurgical Engineering Food Engineering Program*, İstanbul, (2021).

Celebioglu, A. and Uyar, T., “Electrohydrodynamic encapsulation of eugenol-cyclodextrin complexes in pullulan nanofibers”, *Food Hydrocolloids*, 111, 106264, (2021).

Cengiz-Çallıoğlu, F., Jirsak, O. and Dayık, M., “The influence of non-solvent addition on the independent and dependent parameters in roller electrospinning of polyurethane”, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 13(7), 4727-4735, (2013).

Cetin Babaoglu, H., Bayrak, A., Ozdemir, N. and Ozgun, N., “Encapsulation of clove essential oil in hydroxypropyl beta-cyclodextrin for characterization, controlled release and antioxidant activity”, *J. Food Process. Preserv.*, 41(5), e13202, (2017).

Chau, C. F., Wu, S. H. and Yen, G. C., “The development of regulations for food nanotechnology”, *Trends Food Sci. Technol.*, 18(5), 269-280, (2007).

Cheyrier, V., “Phenolic compounds: from plants to foods”, *Phytochem. Rev.*, 11(2), 153-177, (2012).

Chinnappan, B. A., Krishnaswamy, M., Xu, H. and Hoque, M. E., “Electrospinning of biomedical nanofibers/nanomembranes: effects of process parameters”, *Polymers*, 14(18), 3719, (2022).

Classics Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. and Randall, R., “Protein measurement with the Folin phenol reagent”, *J Biol Chem*, 193(1), 265-75, (1951).

Clydesdale, F. M., “Color perception and food quality 1”, *J. Food Qual.*, 14(1), 61-74, (1991).

Colin-Orozco, J., Zapata-Torres, M., Rodriguez-Gattorno, G. and Pedroza-Islas, R., “Properties of poly (ethylene oxide) /whey protein isolate nanofibers prepared by electrospinning”, *Food Biophys*, 10(2), 134-144, (2015).

Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R. F. and Oliveira, W. P., “Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice”, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 4(2), 90-96, (2014).

Cui, H., Bai, M., Rashed, M. M. and Lin, L., “The antibacterial activity of clove oil/chitosan nanoparticles embedded gelatin nanofibers against *Escherichia coli* O157: H7 biofilms on cucumber”, *Int. J. Food Microbiol.*, 266, 69-78, (2018).

Çabuk, B. and Harsa, Ş. T., “Protection of *Lactobacillus acidophilus* NRRL-B 4495 under in vitro gastrointestinal conditions with whey protein/pullulan microcapsules”, *J. Biosci. Bioeng.*, 120(6), 650-656, (2015).

Demir, M. M., Yilgor, I., Yilgor, E. E. A. and Erman, B., “Electrospinning of polyurethane fibers”, *Polymer*, 43(11), 3303-3309, (2002).

Deng, L., Kang, X., Liu, Y., Feng, F. and Zhang, H., “Characterization of gelatin/zein films fabricated by electrospinning vs solvent casting” *Food Hydrocolloids*, 74, 324-332, (2018).

Devatkal, S. K., Narsaiah, K. and Borah, A., “The effect of salt, extract of kinnow and pomegranate fruit by-products on colour and oxidative stability of raw chicken patties during refrigerated storage”, *J. Food Sci. Technol.*, 48(4), 472-477, (2011).

Dordevic, V., BALanc, B., Belscak-Cvitanovic, A., Levic, S., Trifkovic, K., Kalusevic, A., Nedovic, V. “Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds” *Food Eng. Rev.*, 7, 452-490, (2015).

Drosou, C., Krokida, M. and Biliaderis, C. G., “Composite pullulan-whey protein nanofibers made by electrospinning: Impact of process parameters on fiber morphology and physical properties”, *Food Hydrocolloids*, 77, 726-735, (2018).

Ebrahimi, S., Fathi, M., & Kadivar, M., “Production and characterization of chitosan-gelatin nanofibers by nozzle-less electrospinning and their application to enhance edible film’s properties” *Food Packag. Shelf Life*, 22, (2019).

Fabra, M. J., López-Rubio, A. and Lagaron, J. M., “Use of the electrohydrodynamic process to develop active/bioactive bilayer films for food packaging applications”, *Food Hydrocolloids*, 55, 11-18, (2016).

Faki, R., Gursoy, O. and Yilmaz, Y., “Effect of electrospinning process on total antioxidant activity of electrospun nanofibers containing grape seed extract”, *Open Chem.*, 17(1), 912-918, (2019).

Falsafi, S. R., Rostamabadi, H., Nishinari, K., Amani, R. and Jafari, S. M., “The role of emulsification strategy on the electrospinning of β -carotene-loaded emulsions stabilized by gum Arabic and whey protein isolate”, *Food Chem.*, 374, 131826, (2022).

Fernandez, A., Torres-Giner, S. and Lagaron, J. M., “Novel route to stabilization of bioactive antioxidants by encapsulation in electrospun fibers of zein prolamine”, *Food Hydrocolloids*, 23(5), 1427-1432, (2009).

Ferreira, L. M., Velasquez, A. D. A., Schaffazick, S. R., & Cruz, L., “Pullulan: an advantageous natural polysaccharide excipient to formulate tablets of alendronate-loaded microparticles”, *Braz. J. Pharm. Sci.*, 51, 27-33, (2015).

Ghamari, M. A., Amiri, S., Rezazadeh-Bari, M. and Rezazad-Bari, L., “Physical, mechanical and antimicrobial properties of active edible film based on milk proteins incorporated with *Nigella sativa* essential oil”, *Polym. Bull.*, 79(2), 1097-1117, (2022).

Ghayempour, S. and Mortazavi, S. M., “Antibacterial activity of peppermint fragrance micro-nanocapsules prepared with a new electro spraying Method”, *J. Essent. Oil Res.*, 26(6), 492-498, (2014).

Ghorani, B. and Tucker, N., “Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle for bioactive compounds in food nanotechnology”, *Food Hydrocolloids*, 51, 227-240, (2015).

Gomaa, S. F., Madkour, T. M., Moghannem, S. and El-Sherbiny, I. M., “New polylactic acid/cellulose acetate-based antimicrobial interactive single dose nanofibrous wound dressing mats”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 105, 1148-1160, (2017).

Gomez-Mascaraque, L. G., Morfin, R. C., Pérez-Masiá, R., Sanchez, G. and Lopez-Rubio, A., “Optimization of electro spraying conditions for the microencapsulation of probiotics and evaluation of their resistance during storage and in-vitro digestion”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 69, 438-446, (2016).

Hadidi, M., Pouramin, S., Adinepour, F., Haghani, S. and Jafari, S. M., “Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities”, *Carbohydr. Polym.*, 236, 116075, (2020).

Haghi, A. K. and Akbari, M., “Trends in electrospinning of natural nanofibers”, *Phys. Status Solidi A*, 204(6), 1830-1834, (2007).

Haider, A., Haider, S. and Kang, I. K., “A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology”, *Arabian J. Chem.*, 11(8), 1165-1188, (2018).

Hameed, M., Rasul, A., Waqas, M. K., Saadullah, M., Aslam, N., Abbas, G. and Akhtar Shah, P., “Formulation and evaluation of a clove oil-encapsulated nanofiber formulation for effective wound-healing”, *Molecules*, 26(9), 2491, (2021).

Hannon, J. C., Kerry, J., Cruz-Romero, M., Morris, M. and Cummins, E., “Advances and challenges for the use of engineered nanoparticles in food contact materials”, *Trends Food Sci. Technol.*, 43(1), 43-62, (2015).

Henriques, C., Vidinha, R., Botequim, D., Borges, J. P. and Silva, J. A. M. C., “A systematic study of solution and processing parameters on nanofiber morphology using a new electrospinning apparatus”, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 9(6), 3535-3545, (2009).

Hill, L. E., Gomes, C. and Taylor, T. M., “Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications”, *LWT Food Sci. Technol.*, 51(1), 86-93, (2013).

Ho, C. T., “Phenolic compounds in food: an overview”, (eds: Mou-Tuan Huang, Chi-Tang Ho, Chang Y. Lee), *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II*, New Jersey: American Chemical Society, 2-7, (1992).

Holley, R. A. and Patel, D., “Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials”, *Food Microbiol.*, 22(4), 273-292, (2005).

Huang, Z. M., Zhang, Y. Z., Kotaki, M. and Ramakrishna, S., “A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites”, *Compos. Sci. Technol.*, 63(15), 2223-2253, (2003).

Ibrahim, H. M. and Klingner, A., “A review on electrospun polymeric nanofibers: Production parameters and potential applications”, *Polym Test.*, 90, 106647, (2020).

Islam, M. S. and Yeum, J. H., “Electrospun pullulan/poly (vinyl alcohol)/silver hybrid nanofibers: Preparation and property characterization for antibacterial activity”, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.*, 436, 279-286, (2013).

Islam, M. S., Ang, B. C. andriyana, A. and Afifi, A. M., “A review on fabrication of nanofibers via electrospinning and their applications”, *SN Appl. Sci.*, 1, 1-16, (2019).

Işık, B. Ş., “The uniaxial uniaxial and coaxial coaxial electrospun nanofiber encapsulation encapsulation of sour cherry (*prunus Prunus cerasus l.*) anthocyanins anthocyanins and their their in in vitro vitro bioaccessibilitybioaccessibility”, M.Sc. Thesis, *Istanbul Technical University, Graduate School of Science Engineering and Technology*, İstanbul (2016).

Jacobs, V., Anandjiwala, R. D. and Maaza, M., “The influence of electrospinning parameters on the structural morphology and diameter of electrospun nanofibers”, *J. Appl. Polym. Sci.*, 115(5), 3130-3136, (2010).

Wen Jia, X., yu Qin, Z., xin Xu, J., hua Kong, B., Liu, Q. and Wang, H., “Preparation and characterization of pea protein isolate-pullulan blend electrospun nanofiber films”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 157, 641-647, (2020).

Jiang, J., Watowita, P. S. M. S. L., Chen, R., Shi, Y., Geng, J. T., Takahashi, K. and Osako, K., “Multilayer gelatin/myofibrillar films containing clove essential oil: Properties, protein-phenolic interactions and migration of active compounds”, *Food Packag. Shelf Life*, 32, 100842, (2022).

Jung, S. W., Jeong, Y. I. and Kim, S. H., “Characterization of hydrophobized pullulan with various hydrophobicities”, *Int. J. Pharm.*, 254(2), 109-121, (2003).

Kadam, D., Shah, N., Palamthodi, S. and Lele, S. S., “An investigation on the effect of polyphenolic extracts of *Nigella sativa* seedcake on physicochemical properties of chitosan-based films”, *Carbohydr. Polym.*, 192, 347-355, (2018).

Khaleque, M. A., Keya, C. A., Hasan, K. N., Hoque, M. M., Inatsu, Y. and Bari, M. L., “Use of cloves and cinnamon essential oil to inactivate *Listeria monocytogenes* in ground beef at freezing and refrigeration temperatures”, *LWT Food Sci. Technol.*, 74, 219-223, (2016).

Khalf, A. and Madihally, S. V., “Recent advances in multi-axial electrospinning for drug delivery”, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 112, 1-17, (2017).

Khoo, W. and Koh, C. T., “A review of electrospinning process and microstructure morphology control”, *ARPJ. Eng. Appl. Sci.*, 11(12), 7774-7781, (2016).

Kozanoğlu, G. S., “Elektrospinning yöntemiyle nanolif üretim teknolojisi”, Doktora Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı*, İstanbul, (2006).

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

Kumar, N., “Polysaccharide-based component and their relevance in edible film/coating: A review”, *Nutr. Food Sci.*, 49(5), 793-823, (2019).

Lara-Lledó, M., Olaimat, A. and Holley, R. A., “Inhibition of *Listeria monocytogenes* on bologna sausages by an antimicrobial film containing mustard extract or sinigrin”, *Int. J. Food Microbiol.*, 156(1), 25-31, (2012).

Larrondo, L. S. J. M. and St. John Manley, R., “Electrostatic fiber spinning from polymer melts. I. Experimental observations on fiber formation and properties”, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, 19(6), 909-920, (1981).

Lee, J., Sung, J. M., Cho, H. J., Woo, S. H., Kang, M. C., Yong, H. I. and Choi, Y. S., “Natural extracts as inhibitors of microorganisms and lipid oxidation in emulsion sausage during storage”, *Food Sci. Anim. Resour.*, 41(6), 1060, (2021).

Li, Y., Chen, F., Nie, J. and Yang, D., “Electrospun poly (lactic acid)/chitosan core-shell structure nanofibers from homogeneous solution”, *Carbohydr. Polym.*, 90(4), 1445-1451, (2012).

Li, Y., Zhu, J., Cheng, H., Li, G., Cho, H., Jiang, M. and Zhang, X., “Developments of advanced electrospinning techniques: A critical review”, *Advanced Adv. Mater. Technol.*, 6(11), 2100410, (2021).

Li, Z. and Wang, C., “Effects of working parameters on electrospinning”, *In One-dimensional nanostructures*. Springer, Berlin, Heidelberg. 15-28, (2013).

Lin, L., Zhu, Y. and Cui, H., “Electrospun thyme essential oil/gelatin nanofibers for active packaging against *Campylobacter jejuni* in chicken”, *Lwt Food Sci Technol*, 97, 711-718, (2018).

López-Rubio, A. and Lagaron, J. M., “Whey protein capsules obtained through electrospraying for the encapsulation of bioactives”, *Innovative Food Sci. and Emerg. Technol.*, 13, 200-206, (2012).

López-Rubio, A., Sanchez, E., Wilkanowicz, S., Sanz, Y. and Lagaron, J. M., “Electrospinning as a useful technique for the encapsulation of living bifidobacteria in food hydrocolloids”, *Food Hydrocolloids*, 28(1), 159-167, (2012).

Ma, J., Xu, C., Yu, H., Feng, Z., Yu, W., Gu, L. and Hou, J., “Electro-encapsulation of probiotics in gum Arabic-pullulan blend nanofibres using electrospinning technology”, *Food Hydrocolloids*, 111, 106381, (2021).

Ma, Y., Ding, S., Fei, Y., Liu, G., Jang, H. and Fang, J., “Antimicrobial activity of anthocyanins and catechins against foodborne pathogens *Escherichia coli* and *Salmonella*”, *Food Control*, 106, 106712, (2019).

Mahgoub, S. A. M., Osman, A. and Ramadan, M. F., “Inhibitory effect of *Nigella sativa* oil against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* inoculated in minced beef meat”, *J. Food Meas. Charact.*, 11, 2043-2051, (2017).

Majumder, S., Matin, M. A., Sharif, A. and Arafat, M. T., “Understanding solubility, spinnability and electrospinning behaviour of cellulose acetate using different solvent systems”, *Bull. Mater. Sci.*, 42(4), 1-9, (2019).

Makhuvele, R., Naidu, K., Gbashi, S., Thipe, V. C., Adebo, O. A. and Njobeh, P. B., “The use of plant extracts and their phytochemicals for control of toxigenic fungi and mycotoxins”, *Heliyon*, 6(10), e05291, (2020).

Mendes, A. C., Stephansen, K. and Chronakis, I. S., “Electrospinning of food proteins and polysaccharides”, *Food Hydrocolloids*, 68, 53-68, (2017).

Mihindukulasuriya, S. D. F., “Investigations of heat seal parameters and oxygen detection in flexible packages”, Ph. D, *The University of Guelph*, Ontario, (2012).

Miyoshi, T., Toyohara, K. and Minematsu, H., “Preparation of ultrafine fibrous zein membranes via electrospinning”, *Polym. Int.*, 54(8), 1187-1190, (2005).

Moghimian, M., Aalami, S., Abtahi-Evari, S. H., & Soltani, M., “Effect of *Syzygium aromaticum* (clove) extract on morphine withdrawal side effect in male reproductive system should be addressed” *Physiol. Pharmacol.*, 22(2), 109-117, (2018).

Mokhtari, A., Sabzi, M. and Azimi, H., “3D porous bioadsorbents based on chitosan/alginate/cellulose nanofibers as efficient and recyclable adsorbents of anionic dye”, *Carbohydr. Polym.*, 265, 118075, (2021).

Moraru, C. I., Panchapakesan, C. P., Huang, Q., Takhistov, P., Liu, S. and Kokini, J. L., “Nanotechnology: a new frontier in food science understanding the special properties of materials of nanometer size will allow food scientists to design new, healthier, tastier and safer foods”, *Nanotechnology*, 57(12), 24-29. (2003).

Muñoz-Shugulí, C., Vidal, C. P., Cantero-López, P. and Lopez-Polo, J., “Encapsulation of plant extract compounds using cyclodextrin inclusion complexes, liposomes,

electrospinning and their combinations for food purposes”, *Trends Food Sci. Technol.*, 108, 177-186, (2021).

Mytle, N. anderson, G. L., Doyle, M. P. and Smith, M. A., “Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters”, *Food control*, 17(2), 102-107, (2006).

Naeimirad, M., Zadhoush, A., Kotek, R., Esmaeely Neisiany, R., Nouri Khorasani, S. and Ramakrishna, S., “Recent advances in core/shell bicomponent fibers and nanofibers: A review”, *J. Appl. Polym. Sci.*, 135(21), 46265, (2018).

Najafi, Z., Bildik, F., Şahin-Yeşilçubuk, N., & Altay, F., “Enhancing oxidative stability of encapsulated echium oil by incorporation of saffron extract loaded nanoliposomes into electrospun pullulan-pea protein isolate-pectin” *Food Hydrocolloids*, 129, (2022).

Najafi, Z., Cetinkaya, T., Bildik, F., Altay, F., & Yeşilçubuk, N. Ş. “Nanoencapsulation of saffron (*Crocus sativus* L.) extract in zein nanofibers and their application for the preservation of sea bass fillets” *LWT*, 163, (2022).

Nasir, A., “Nanotechnology and dermatology: part I—potential of nanotechnology”, *Clin. Dermatol.*, 28(4), 458-466, (2010).

Nisar, T., Wang, Z. C., Yang, X., Tian, Y., Iqbal, M. and Guo, Y., “Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 106, 670-680, (2018).

Oguz, S., Tam, N., Aydogdu, A., Sumnu, G., & Sahin, S., “Development of novel pea flour-based nanofibres by electrospinning method” *Int. J. Food Sci. Technol.*, 53(5), 1269-1277, (2018).

Oğuz, S., “Characterization of pea flour based nanofibers produced by electrospinning Methodmethod”, Master's thesis, *Middle East Technical University, Food Engineering Department*, Ankara, (2018).

Okutan, N., Terzi, P. and Altay, F., “Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers”, *Food Hydrocolloids*, 39, 19-26, (2014).

Ozdal, T., Capanoglu, E. and Altay, F., “A review on protein–phenolic interactions and associated changes”, *Food Res. Int.*, 51(2), 954-970, (2013).

Özünlü, O. and Ergezer, H., “Development of novel paper-based colorimetric indicator labels for monitoring shelf life of chicken breast fillets”, *J. Food Process. Preserv.*, 46(11), e17013, (2022).

Özünlü, O., Ergezer, H. and Gökçe, R., “Improving physicochemical, antioxidative and sensory quality of raw chicken meat by using acorn extracts”, *LWT Food Sci. Technol.*, 98, 477-484, (2018).

Parlinska-Wojtan, M., Depciuch, J., Fryc, B. and Kus-Liskiewicz, M., “Green synthesis and antibacterial effects of aqueous colloidal solutions of silver nanoparticles using clove eugenol”, *Appl. Organomet. Chem.*, 32(4), e4276, (2018).

Pennells, J., Godwin, I. D., Amiralian, N. and Martin, D. J., “Trends in the production of cellulose nanofibers from non-wood sources”, *Cellulose*, 27(2), 575-593, (2020).

Perumalla, A. V. S. and Hettiarachchy, N. S., “Green tea and grape seed extracts- Potential applications in food safety and quality”, *Food Res. Int.*, 44(4), 827-839, (2011).

Pise, D. D., Ahuja, B. B. and Shendokar, S. M., “Study of process parameters affecting the diameter and morphology of electrospun polyvinylidene fluoride (PVDF) nanofibers”, *Int. J. Sci. Res.*, 4, 155-160, (2015).

Poudel, D., Swilley-Sanchez, S., O’keefe, S., Matson, J., Long, T. and Fernández-Fraguas, C., “Novel electrospun pullulan fibers incorporating hydroxypropyl- β -cyclodextrin: morphology and relation with rheological properties”, *Polymers*, 12(11), 2558, (2020).

Przybylska-Balcerek, A., Szablewski, T., Cegielska-Radziejewska, R., Góral, T., Kurasiak-Popowska, D. and Stuper-Szablewska, K., “Assessment of antimicrobial properties of phenolic acid extracts from grain infected with fungi from the genus *Fusarium*”, *Molecules*, 27(5), 1741, (2022).

Qin, Z. Y., Jia, X. W., Liu, Q., Kong, B. H. and Wang, H., “Fast dissolving oral films for drug delivery prepared from chitosan/pullulan electrospinning nanofibers”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 137, 224-231, (2019).

Rahman, M. H., Alam, M. S., Monir, M. M. and Ahmed, K., “Comprehensive effects of black cumin (*Nigella sativa*) and synthetic antioxidant on sensory and physicochemical quality of beef patties during refrigerant storage”, *J. Agric. Food Res.*, 4, 100145, (2021).

Ramsden, J., *Nanotechnology: an introduction*, Cambridge: William Andrew, 2016.

Rezaei, A., Fathi, M. and Jafari, S. M., “Nanoencapsulation of hydrophobic and low-soluble food bioactive compounds within different nanocarriers”, *Food Hydrocolloids*, 88, 146-162, (2019).

Rezaei, A., Nasirpour, A. and Fathi, M., “Application of cellulosic nanofibers in food science using electrospinning and its potential risk”, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 14(3), 269-284, (2015).

Sánchez-Moreno, C., "Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems", *Food Sci. Technol. Int.*, 8(3), 121-137, (2002).

Sarbatly, R., Sariau, J. and Alam, M. F. I., “Advances in nanofiber membrane”, *Mater. Today Proc.*, 46, 2118-2121, (2021).

Seethu, B. G., Pushpadass, H. A., Emerald, F., Nath, B. S., Naik, N. L. and Subramanian, K. S., “Electrohydrodynamic encapsulation of resveratrol using food-grade nanofibres: Process optimization, characterization and fortification”, *Food Bioprocess Technol.*, 13(2), 341-354, (2020).

Shao, P., Niu, B., Chen, H. and Sun, P., “Fabrication and characterization of tea polyphenols loaded pullulan-CMC electrospun nanofiber for fruit preservation”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 107, 1908-1914, (2018).

Sharifi, M., Bahrami, S. H., Nejad, N. H. and Milan, P. B., “Electrospun PCL and PLA hybrid nanofibrous scaffolds containing *Nigella sativa* herbal extract for effective wound healing”, *J. Appl. Polym. Sci.*, 137(46), 49528, (2020).

Shen, Y., Ni, Z. J., Thakur, K., Zhang, J. G., Hu, F. and Wei, Z. J., “Preparation and characterization of clove essential oil loaded nanoemulsion and pickering emulsion activated pullulan-gelatin based edible film”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 181, 528-539, (2021).

Shukla, V., Mendiratta, S. K., Zende, R. J., Agrawal, R. K. and Kumar Jaiswal, R., “Effects of chitosan coating enriched with *Syzygium aromaticum* essential oil on quality and shelf-life of chicken patties”, *J. Food Process. Preserv.*, 44(11), e14870, (2020).

Singh, D. P., & Packirisamy, G., “Biopolymer based edible coating for enhancing the shelf life of horticulture products” *Food Chem.: Mol. Sci.*, 4, (2022).

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R. M., “Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent”, *Methods enzymol.*, 299,152-178, (1999).

Smith, D. M., Simon, J. K. and Baker Jr, J. R., “Applications of nanotechnology for immunology”, *Nat. Rev. Immunol.*, 13(8), 592-605, (2013).

Songchotikunpan, P., Tattiyakul, J. and Supaphol, P., “Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 42(3), 247-255, (2008).

Sozer, N. and Kokini, J. L., “Nanotechnology and its applications in the food sector”, *Trends in biotechnology*, 27(2), 82-89, (2009).

Suantawee, T., Wesarachanon, K., Anantsuphasak, K., Daenphetploy, T., Thien-Ngern, S., Thilavech, T. and Adisakwattana, S., “Protein glycation inhibitory activity and antioxidant capacity of clove extract”, *J. Food Sci. Technol.*, 52, 3843-3850, (2015).

Subbiah, T., Bhat, G. S., Tock, R. W., Parameswaran, S. and Ramkumar, S. S., “Electrospinning of nanofibers”, *Journal of Applied Polymer Science*, 96(2), 557-569, (2005).

Sullivan, S. T., Tang, C., Kennedy, A., Talwar, S. and Khan, S. A., “Electrospinning and heat treatment of whey protein nanofibers”, *Food Hydrocolloids*, 35, 36-50, (2014).

Şener, A. G., “Elektro üretim yöntemiyle sodyum aljinat ve mısır nişastası içeren nanolif eldesine etki eden faktörlerin incelenmesi”, Doktora Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, İstanbul, (2011).

Terzi, P., “Elektrodöndürme yöntemiyle elde edilen jelatin nanoliflerinin gıdalarda kıvam verici olarak kullanılması”, Doktora Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, İstanbul, (2013).

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D. H., “Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts”, *J. Food Compos. Anal.*, 19(6-7), 669-675, (2006).

Torres-Giner, S., Gimenez, E., & Lagaron, J. M., “Characterization of the morphology and thermal properties of zein prolamine nanostructures obtained by electrospinning” *Food Hydrocolloids*, 22(4), 601-614, (2008).

Tymczewska, A., Furtado, B. U., Nowaczyk, J., Hrynkiewicz, K. and Szydłowska-Czerniak, A., “Functional properties of gelatin/polyvinyl alcohol films containing black cumin cake extract and zinc oxide nanoparticles produced via casting technique”, *Int. J. Mol. Sci.*, 23(5), 2734, (2022).

Unalan, I., Endlein, S. J., Slavik, B., Buettner, A., Goldmann, W. H., Detsch, R. and Boccaccini, A. R., “Evaluation of electrospun poly (ϵ -caprolactone) /gelatin nanofiber mats containing clove essential oil for antibacterial wound dressing”, *Pharmaceutics*, 11(11), 570, (2019).

Vafania, B., Fathi, M. and Soleimani-Zad, S., “Nanoencapsulation of thyme essential oil in chitosan-gelatin nanofibers by nozzle-less electrospinning and their application to reduce nitrite in sausages”, *Food Bioprod. Process.*, 116, 240-248, (2019).

Vanin, A. B., Orlando, T., Piazza, S. P., Puton, B., Cansian, R. L., Oliveira, D. and Paroul, N., “Antimicrobial and antioxidant activities of clove essential oil and eugenyl acetate produced by enzymatic esterification”, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 174(4), 1286-1298, (2014).

Venkatachalam, K. and Lekjing, S., “A chitosan-based edible film with clove essential oil and nisin for improving the quality and shelf life of pork patties in cold storage”, *RSC Adv.*, 10(30), 17777-17786, (2020).

Walsh, S. E., Maillard, J. Y., Russell, A. D., Catrenich, C. E., Charbonneau, D. L. and Bartolo, R. G., “Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and-negative bacteria”, *J. Appl. Microbiol.*, 94(2), 240-247, (2003).

Wang, H. and Ziegler, G. R., “Electrospun nanofiber mats from aqueous starch-pullulan dispersions: Optimizing dispersion properties for electrospinning”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 133, 1168-1174, (2019).

Wang, J., Li, X., Song, J., Wu, K., Xue, Y., Wu, Y. and Wang, S., “Direct preparation of cellulose nanofibers from bamboo by nitric acid and hydrogen peroxide enables fibrillation via a cooperative mechanism”, *Nanomaterials*, 10(5), 943, (2020).

Wang, Q., Yu, H., Tian, B., Jiang, B., Xu, J., Li, D. and Liu, C., “Novel edible coating with antioxidant and antimicrobial activities based on whey protein isolate nanofibrils and carvacrol and its application on fresh-cut cheese”, *Coatings*, 9(9), 583, (2019).

Weiss, J., Kanjanapongkul, K., Wongsasulak, S. and Yoovidhya, T., “Electrospun fibers: fabrication, functionalities and potential food industry applications”, (ed: Qingrong Huang), In *Nanotechnology in the food, beverage and nutraceutical industries*, Woodhead Publishing, 362-397, (2012).

Wen, P., Zong, M. H., Linhardt, R. J., Feng, K. and Wu, H., “Electrospinning: A novel nano-encapsulation approach for bioactive compounds”, *Trends Food Sci. Technol.*, 70, 56-68, (2017).

Xiong, Z., Sun, D. W., Pu, H., Xie, A., Han, Z. and Luo, M., “Non-destructive prediction of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) value for freshness evaluation of chicken meat using hyperspectral imaging”, *Food chem.*, 179, 175-181, (2015).

Xu, C., Ma, J., Wang, W., Liu, Z., Gu, L., Qian, S. and Jiang, Z., “Preparation of pectin-based nanofibers encapsulating *Lactobacillus rhamnosus* 1.0320 by electrospinning”, *Food Hydrocolloids*, 124, 107216, (2022).

Yang, Y., Xie, B., Liu, Q., Kong, B. and Wang, H., “Fabrication and characterization of a novel polysaccharide based composite nanofiber films with tunable physical properties”, *Carbohydr. Polym.*, 236, 116054, (2020).

Yanilmaz, M., Kalaoğlu, F. and Karakaş, H., “Study on optimising the morphology of electrospun polyurethane nanofibers”, *J. of Text. Apparel*, 22(3), (2012).

Yılmaz, E., “Çörek otu küspesinden hazırlanan biyosorbent yüzeyine boyar madde adsorpsiyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı*, Balıkesir, (2019).

Yılmaz, M. ve Altan, A., “Elektro-eğirme yöntemine dayalı nanosensörlerin gıda alanındaki uygulamaları”, *J. Food*, 42(6), (2017).

Yılmaz, T., “E vitamininin elektro döndürme yöntemiyle enkapsülasyonu ve elektro döndürmeyi etkileyen parametrelerin incelenmesi, nanoliflerin karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı*, İstanbul, (2015).

Yılmaz, M., “Elektro döndürme yöntemi ile elde edilen karbon nanolif ve karbon nanotüplerin karakterizasyonu ve işlevselleştirilmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı*, İstanbul, (2014).

Yildiz, Z. I., Celebioglu, A., Kilic, M. E., Durgun, E. and Uyar, T., “Fast-dissolving carvacrol/cyclodextrin inclusion complex electrospun fibers with enhanced thermal stability, water solubility and antioxidant activity”, *J. Mater. Sci.*, 53(23), 15837-15849, (2018).

Yoo, H. S., Kim, T. G. and Park, T. G., “Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery”, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 61(12), 1033-1042, (2009).

Zadegan, S., Nourmohammadi, J., Vahidi, B. and Haghighipour, N., “An investigation into osteogenic differentiation effects of silk fibroin-nettle (*Urtica dioica L.*) nanofibers”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 133, 795-803, (2019).

Zeng, J., Haoqing, H., Schaper, A., Wendorff, J. H. and Greiner, A., “Poly-L-lactide nanofibers by electrospinning–Influence of solution viscosity and electrical conductivity on fiber diameter and fiber morphology”, *e-Polymers*, 3(1), (2003).

Zhu, S., Meng, X., Yan, X. and Chen, S., “Evidence for bicomponent fibers: a review”, *e-Polymers*, 21(1), 636-653, (2021).

EKLER

7. EKLER

EK A Nanolif Üretimi Deneme Koşulları

Tablo 7.1: Pullulan polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları

Voltaj (kv)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (ml/h)	Üretim Durumu	Bağıl Nem-Sıcaklık
20kv	20cm	0,4 ml/h	kesildi	RH=%28 T=18°C
15kv	15cm	0,4ml/h	kesildi	RH=%28 T=18°C
15kv	15cm	0,5ml/h	çözelti dondu	RH=%28 T=18°C
15kv	15cm	0,2ml/h	kesildi	RH=%28 T=18°C
15kv	20cm	0,2ml/h	oldukça başarılı	RH=%27 T=19°C
15kv	15cm	0,3ml/h	başarılı	RH=%27 T=19°C
20kv	15cm	0,2 ml/h	oldukça başarılı	RH=%27 T=19°C
15kv	15cm	0,2ml/h	kesildi	RH=%27 T=19°C

Tablo 7.2: %5 (w/w) oranında karanfil ekstraktı içeren pullulan polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları

Voltaj (kv)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (ml/h)	Üretim Durumu	Bağıl Nem-Sıcaklık
15kv	15cm	0,3ml/h	oldukça başarılı	RH=%32 T=20°C
20kv	20cm	0,2ml/h	oldukça başarılı	RH=%32 T=20°C
15kv	20cm	0,3ml/h	oldukça başarılı	RH=%32 T=20°C
15kv	20cm	0,2ml/h	başarılı	RH=%32 T=20°C
20kv	15cm	0,2 ml/h	oldukça başarılı	RH=%32 T=20°C
15kv	15cm	0,4ml/h	oldukça başarılı	RH=%32 T=20°C

Tablo 7.3: %5 (w/w) oranında çörek otu atığı ekstraktı içeren pullulan polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları

Voltaj (kv)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (ml/h)	Üretim Durumu	Bağıl Nem-Sıcaklık
15kv	15cm	0,3 ml/h	oldukça başarılı	RH=%27 T=19°C
15kv	15cm	0,4ml/h	oldukça başarılı	RH=%27 T=19°C
15kv	20cm	0,3ml/h	çok az damlama	RH=%27 T=19°C
20kv	20cm	0,3ml/h	başarılı	RH=%27 T=19°C
20kv	15cm	0,2ml/h	kesildi	RH=%27 T=19°C
15kv	20cm	0,2ml/h	kesildi	RH=%27 T=19°C

Tablo 7.4: Pullulan:peynir altı suyu proteini (50:50 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları

Voltaj (kv)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (ml/h)	Üretim Durumu	Bağıl Nem-Sıcaklık
20kv	15cm	0,5 ml/h	başarılı	RH=%34 T=21°C
15kv	15cm	0,4ml/h	damlama	RH=%34 T=21°C
11kv	15cm	0,2ml/h	damlama	RH=%34 T=21°C
14kv	15cm	0,3ml/h	damlama	RH=%34 T=21°C
15kv	20cm	0,2ml/h	oldukça başarılı	RH=%33 T=21°C
15kv	15cm	0,1ml/h	başarılı	RH=%34 T=21°C
20kv	15cm	0,4 ml/h	başarılı	RH=%33 T=21°C
20kv	15cm	0,2ml/h	oldukça başarılı	RH=%34 T=22°C
18 kv	20 cm	0,2ml/h	oldukça başarılı	RH=%34 T=22°C

Tablo 7.5: %5 (w/w) oranında karanfil ekstraktı içeren pullulan:peynir altı suyu proteini (50:50 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları

Voltaj (kv)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (ml/h)	Üretim Durumu	Bağıl Nem-Sıcaklık
20kv	15cm	0,3 ml/h	başarılı	RH=%33 T=20°C
20kv	15cm	0,2 ml/h	başarılı	RH=%33 T=20°C
15kv	20cm	0,2ml/h	oldukça başarılı	RH=%33 T=20°C

Tablo 7.6: %5 (w/w) oranında çörek otu atığı ekstraktı içeren pullulan:peynir altı suyu proteini (50:50 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları

Voltaj (kv)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (ml/h)	Üretim Durumu	Bağıl Nem-Sıcaklık
20kv	15cm	0,2 ml/h	kesildi	RH=%32 T=19°C
15kv	15cm	0,4ml/h	damlama	RH=%32 T=19°C
20kv	20cm	0,1ml/h	kesildi	RH=%32 T=20°C
20kv	20cm	0,3ml/h	başarılı	RH=%32 T=20°C
15kv	20cm	0,2ml/h	damlama	RH=%32 T=20°C
15kv	15cm	0,2ml/h	başarılı	RH=%32 T=19°C
20kv	15cm	0,3 ml/h	kesildi	RH=%32 T=20°C
20kv	15cm	0,4ml/h	kesildi	RH=%32 T=20°C
20 kv	15 cm	0,5ml/h	oldukça başarılı	RH=%32 T=20°C
17 kv	15 cm	0,3 ml/h	başarılı	RH=%32 T=20°C
15kv	20cm	0,2ml/h	kesildi	RH=%32 T=20°C

Tablo 7.7: Pullulan:peynir altı suyu proteini (25:75 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları

Voltaj (kv)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (ml/h)	Üretim Durumu	Bağıl Nem-Sıcaklık
20kv	20cm	0,6 ml/h	başarılı	RH=%31 T=19°C
20kv	15cm	0,6 ml/h	başarılı	RH=%31 T=19°C
15kv	15cm	0,5ml/h	başarılı	RH=%31 T=19°C
20kv	20cm	0,3ml/h	üretilemedi	RH=%31 T=19°C
15kv	15cm	0,2ml/h	üretilemedi	RH=%31 T=19°C
20 kv	15 cm	0,5ml/h	üretilemedi	RH=%31 T=19°C

Tablo 7.8: %5 (w/w) oranında karanfil ekstraktı içeren pullulan:peynir altı suyu proteini (25:75 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları

Voltaj (kv)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (ml/h)	Üretim Durumu	Bağıl Nem-Sıcaklık
20kv	20cm	0,6 ml/h	başarılı	RH=%32 T=20°C
20kv	15cm	0,6 ml/h	başarılı	RH=%32 T=20°C
15kv	15cm	0,5ml/h	başarılı	RH=%32 T=20°C
20kv	20cm	0,3ml/h	üretilemedi	RH=%32 T=20°C
15kv	15cm	0,2ml/h	üretilemedi	RH=%32 T=20°C
20 kv	15 cm	0,5ml/h	üretilemedi	RH=%32 T=20°C

Tablo 7.9: %5 (w/w) oranında çörek otu atığı ekstraktı içeren pullulan:peynir altı suyu proteini (25:75 (w/w)) polimer çözeltisine ait nanolif üretim koşulları

Voltaj (kv)	Mesafe (cm)	Akış Hızı (ml/h)	Üretim Durumu	Bağıl Nem-Sıcaklık
20kv	20cm	0,6 ml/h	başarılı	RH=%33 T=20°C
20kv	15cm	0,6 ml/h	başarılı	RH=%33 T=20°C
15kv	15cm	0,5ml/h	başarılı	RH=%33 T=20°C
20kv	20cm	0,3ml/h	üretilemedi	RH=%33 T=20°C
15kv	15cm	0,2ml/h	üretilemedi	RH=%33 T=20°C
20 kv	15 cm	0,5ml/h	üretilemedi	RH=%33 T=20°C