

**ELEKTRO EĞİRME YÖNTEMİ İLE KARVAKROL
YÜKLÜ NANOLİFLERİN ÜRETİMİ VE
KARAKTERİZASYONU**

ÖZLEM ÇAYIR

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MERSİN
ARALIK – 2015**

**ELEKTRO EĞİRME YÖNTEMİ İLE
KARVAKROL YÜKLÜ NANOLİFLERİN
ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

ÖZLEM ÇAYIR

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Doç. Dr. Aylin ALTAN METE**

**MERSİN
ARALIK – 2015**

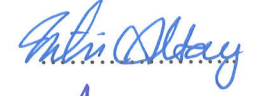
Özlem ÇAYIR tarafından Doç. Dr. Aylin ALTAN METE danışmanlığında hazırlanan “Elektro Eğirme Yöntemiyle Karvakrol Yüklü Nanoliflerin Üretimi ve Karakterizasyonu” başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza


Prof. Dr. H. İbrahim EKİZ



Doç. Dr. Filiz ALTAY



Doç. Dr. Aylin ALTAN METE



Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 12/02/2016 tarih ve 2016.6 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ELEKTRO EĞİRME YÖNTEMİYLE KARVAKROL YÜKLÜ NANOLİFLERİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Özlem ÇAYIR

ÖZ

Elektro eğirme gıdalarda özellikle raf ömrünü arttırmak, besin değerini yükseltmek, gıda bileşenlerinin korunması, stabilizasyonu ve yavaş salınımı için kullanılan etkili bir enkapsülasyon yöntemidir. Bu çalışmada, karvakrol yüklü zein nanolif yapıları üretilmiştir. Tek iğneli elektro eğirme yönteminde zein konsantrasyonu (%32-36 a/h) ve karvakrol miktarı (%1-7 a/a) bağımsız değişken olarak seçilmiş ve iki faktörlü merkezi karma tasarımına göre nanolif üretimi gerçekleştirilmiştir. Elektro eğirme prosesinde uygulanan voltaj, akış hızı ve besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe 18 kV, 1 mL/h ve 13.5 cm olarak sabit tutulmuştur. Hazırlanan polimer çözeltilerinin reolojik davranışı, viskozitesi ve elektrik iletkenliği tespit edilmiştir. Electrospun zein yapılarının morfolojisi alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) ile incelenmiştir. Liflerin termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) kullanılarak belirlenmiştir. Üretilen liflerin enkapsülasyon verimi, su buharı geçirgenliği ve mekanik özellikleri belirlenmiştir. Nanoliflerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi için *E. coli* ve *S. aureus* kullanılarak agar disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Karvakrol miktarındaki artışla iletkenliğin önemli düzeyde düştüğü gözlenmiştir. Zein çözeltilisinin konsantrasyonu arttıkça ortalama lif çapı artmıştır. Karvakrol içeriğinin artmasıyla boncuklu yapının oluştuğu gözlenmiştir. Karvakrol yüklü zein nano parçacıklarının termal özelliğinin saf zeinden elde edilen liflere göre daha iyi olduğu belirlenmiştir. Karvakrolün enkapsülasyonu başarıyla gerçekleştirilmiştir. Karvakrolün enkapsülasyon verimi 40 ± 1.9 ile 81 ± 1.7 arasında değişmiştir. Karvakrol mekanik özelliklerin gelişmesini sağlamış ve su buharı geçirgenliğini olumlu yönde etkilemiştir. Liflerin agar üzerinde oluşturduğu zon çapları dikkate alındığında antimikrobiyal özelliğinin *S.aureus* üzerinde daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda özellikleri incelenen nanoliflerin aktif paketlemede kullanımının umut verici olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Elektro eğirme, Zein, Karvakrol, Enkapsülasyon, Antimikrobiyal Nanolif

Danışman: Doç. Dr. Aylin ALTAN METE, Mersin Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

FABRICATION AND CHARACTERIZATION OF CARVACROL LOADED NANOFIBERS BY ELECTROSPINNING

Özlem ÇAYIR

ABSTRACT

Electrospinning is an effective encapsulation method aiming to increase shelf life of food, to improve nutritional value and to provide protection, stabilization and controlled release of food components. In this study, carvacrol loaded zein nanofibers were produced. Zein concentration (32-36% w/v) and carvacrol amount (1-7% w/w) were selected as independent variables for single-needle electrospinning method. Nanofiber production was carried out according to central composite design with two factors. The applied voltage, flow rate and the distance between the spinneret tip and the collector were maintained constant at 18 kV, 1 mL/h and 13.5 cm during electrospinning process. The rheological behavior, viscosity and conductivity of prepared solutions were determined. The morphology of electrospun zein fibers was examined by a field emission scanning electron microscope. Thermal properties were determined by differential scanning calorimetry. Encapsulation efficiency, water vapor permeability and mechanical properties were investigated. Antimicrobial activity of obtained nanofibers was determined using *E. coli* and *S. aureus* by agar disc diffusion method. Increase in the amount of carvacrol decreased the conductivity significantly. The average fiber diameter increased when zein concentration was increased. A beaded structure was observed with increasing carvacrol content. The thermal stability of carvacrol loaded nanofibers was better than that of nanofibers produced from pure zein. Carvacrol was successfully encapsulated. The encapsulation efficiency of carvacrol changed between 40 ± 1.9 and 81 ± 1.7 . Carvacrol improved mechanical properties and caused positive effect on water vapor permeability. The antimicrobial properties of the fibers were more effective on *S.aureus* when considering the zone diameters of fibers formed on agar plate. Results showed that the produced materials can be promising for active packaging.

Key Words: : Electrospinning, Zein, Carvacrol, Encapsulation, Antimicrobial nanofiber

Advisor: Assoc. Prof. Aylin ALTAN METE, Department of Food Engineering, Mersin University

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve çalışmalarım süresince derin bilgi ve deneyimleriyle çalışmamı yönlendiren, kendimi geliştirmem konusunda bende çok emeği olan, her zaman bilgi ve tecrübelerini aktaran değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Aylin ALTAN METE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans dönemi boyunca deneyimlerinden ve bilgilerinden yararlandığım Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı değerli hocam Sayın Prof. Dr. H. İbrahim EKİZ'e ve desteğini esirgemeyen Gıda Mühendisliği Bölümü değerli öğretim üyelerine en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı 113Z507 nolu proje ile destekleyen TÜBİTAK'a, çalışmalarım boyunca 2015-TP2-1041 nolu proje ile destek sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (BAP) ve tüm altyapı olanaklarını kullandığım Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca destekleriyle her zaman yanımda olan bütün arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca her zaman maddi manevi sabırla, özveriyle, güvenle yanımda olarak destekleriyle bugünlere gelmemi sağlayan canım aileme en içten sevgilerimi iletip teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| ÖZ | i |
| ABSTRACT | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| İÇİNDEKİLER | iv |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | viii |
| SİMGELER ve KISALTMALAR | x |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI | 4 |
| 2.1. ENKAPSÜLASYON | 4 |
| 2.1.1. Gıdada Enkapsülasyon Uygulamaları..... | 5 |
| 2.1.2. Enkapsülasyon Teknikleri..... | 7 |
| 2.2. ELEKTRO EĞİRME | 8 |
| 2.3. ELEKTRO EĞİRMEDE KULLANILAN BİYOPOLİMERLERİN ÖZELLİĞİ | 14 |
| 2.4. ELEKTRO EĞİRME DÜZENİNDE KULLANILAN ZEİN | 17 |
| 2.5. ELEKTRO EĞİRME PROSESİNİ ETKİLEYEN PARAMETRELER | 20 |
| 2.5.1. Polimer Çözeltisi Parametreleri | 20 |
| 2.5.1.1. Konsantrasyon ve vizkozite | 20 |
| 2.5.1.2. Moleküler ağırlık..... | 21 |
| 2.5.1.3. Yüzey gerilimi..... | 22 |
| 2.5.1.4. Polimer ve çözeltinin elektrik iletkenliği..... | 22 |
| 2.5.1.5 Çözücünün dielektrik etkisi | 24 |
| 2.5.2. Proses Parametreleri | 24 |
| 2.5.2.1. Uygulanan voltaj | 25 |
| 2.5.2.2. Mesafe | 26 |
| 2.5.2.3. Akış hızı | 27 |
| 2.5.2.4. İğne yapısı | 27 |
| 2.5.3. Ortam Parametreleri..... | 28 |
| 2.5.3.1. Sıcaklık..... | 28 |

| | |
|--|-----------|
| 2.5.3.2. Bağıl Nem | 28 |
| 2.5.3.3. Basınç | 29 |
| 2.6. NANOLİF | 29 |
| 2.7. ELEKTRO EĞİRME İLE İLGİLİ YAPILAN ÇALIŞMALAR..... | 32 |
| 2.8. ELEKTRO EĞİRME DÜZENEGİNDE KULLANILAN KARVAKROLÜN ÖZELLİKLERİ VE KİMYASAL YAPISI | 36 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM..... | 39 |
| 3.1. MATERYAL..... | 39 |
| 3.2. ELEKTRO EĞİRME YÖNTEMİ İÇİN ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI | 39 |
| 3.3. ÇÖZELTİ ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ..... | 41 |
| 3.4. YÖNTEM..... | 43 |
| 3.4.1. Elektro eğirme Yöntemi..... | 43 |
| 3.4.2. Deney Tasarımı..... | 44 |
| 3.5. NANOLİFLİ YÜZEYLERİN KARAKTERİZASYONU | 44 |
| 3.5.1 Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskop (FE-SEM) Analizi..... | 44 |
| 3.5.2. FTIR (Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre) Analizi | 45 |
| 3.5.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) İle Zein liflerinin Analizi..... | 45 |
| 3.5.4. Enkapsülasyon Veriminin Belirlenmesi | 46 |
| 3.5.5. Mekanik Özellik Ölçümü..... | 47 |
| 3.5.6. Su Buharı Geçirgenliği | 48 |
| 3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ | 50 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA..... | 51 |
| 4.1. POLİMER ÇÖZELTİLERİNİN ÖZELLİKLERİ..... | 51 |
| 4.2. NANOLİF ESASLI YÜZEYLERİN KARAKTERİZASYONU | 54 |
| 4.2.1. Morfolojik Analiz | 54 |
| 4.2.2. FTIR Analizi | 61 |
| 4.2.3. Termal Analiz | 64 |
| 4.2.4. Enkapsülasyon Verimi..... | 68 |
| 4.2.5. Mekanik Özelliklerin Belirlenmesi..... | 70 |
| 4.2.6. Su Buharı Geçirgenliği | 75 |
| 4.2.7. Antimikrobiyal Aktivite..... | 76 |

| | |
|---|-----------|
| 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER..... | 80 |
| KAYNAKLAR | 81 |
| ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ..... | 93 |



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

| | |
|---|----|
| Çizelge 2.1. Gıda enkapsülasyon uygulamaları | 6 |
| Çizelge 2.2. Enkapsülasyon yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları | 7 |
| Çizelge 2.3. Doğal polimerler | 15 |
| Çizelge 2.4. % Protein dağılımı | 18 |
| Çizelge 2.5. Çözücülerin elektrik iletkenlikleri | 23 |
| Çizelge 2.6. Çözücülerin dielektrik sabitleri | 24 |
| Çizelge 2.7. Bağlı nemin lif çapına etkisi | 28 |
| Çizelge 3.1. Elektro eğirme deneyleri için yapılan deney tasarımı..... | 41 |
| Çizelge 4.1. Polimer çözeltilerinin özellikleri..... | 52 |
| Çizelge 4.2. Elektrik iletkenliği (EI) için elde edilen modelin ANOVA sonucu..... | 53 |
| Çizelge 4.3. Ortalama lif çapı (LÇ) için elde edilen modelin ANOVA sonucu | 54 |
| Çizelge 4.4. Elektroeğirme yöntemiyle üretilen liflerin camsı geçiş (T_g) ve bozunma sıcaklıkları (T_b)..... | 66 |
| Çizelge 4.5. Gerilim direnci (GD) için elde edilen modelin ANOVA sonucu | 72 |
| Çizelge 4.6. Elektro eğirme yöntemiyle üretilen liflerin uzama miktarı ve su buharı geçirgenlikleri (SBG)..... | 74 |
| Çizelge 4.7. Elektro eğirme yöntemiyle üretilen nanolifli yüzeylerin mikroorganizmalara göre oluşturdukları zon çapları | 78 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

| | |
|---|----|
| Şekil 2.1. Taylor deney düzeneği | 9 |
| Şekil 2.2. Yatay elektro eğirme düzeneği | 10 |
| Şekil 2.3. Elektro eğirme düzeneğinde Taylor konisi yapısı | 12 |
| Şekil 2.4. Kılcal boru ucundaki damlanın ilerleyerek artan voltaj etkisiyle Taylor konisi ve jet oluşumu | 13 |
| Şekil 2.5. Elektro eğiirmede kararsızlığı gösteren jet yapısı | 14 |
| Şekil 2.6. Lif çapına etki eden proses parametreleri | 25 |
| Şekil 2.7. Nanolif morfolojik yapısı | 30 |
| Şekil 2.8. Polimer nanoliflerin uygulama alanları | 32 |
| Şekil 2.9. Karvakrol bileşiğinin kimyasal yapısı | 36 |
| Şekil 3.1. Elektro eğirme işlemi akış şeması | 40 |
| Şekil 3.2. Elektro eğirme deney cihazı | 43 |
| Şekil 3.3. Karvakrolün HPLC kromatogramı | 47 |
| Şekil 3.4. Mekanik özelliklerin belirlenmesinde kullanılan kalıp (a) ve tekstür analiz probu (b)..... | 48 |
| Şekil 4.1. Elektro eğirme yöntemi için zein konsantrasyonu ve karvakrol miktarının iletkenlik üzerine etkisinin tepki yüzey grafiği..... | 53 |
| Şekil 4.2. Elektro eğirme ile karvakrol miktarı ve zein konsantrasyonunun ortalama lif çapına etkisinin tepki yüzey grafiği..... | 56 |
| Şekil 4.3. Sabit karvakrol miktarı (%4) ve farklı zein konsantrasyonunda elektro eğirme yöntemiyle elde edilen liflerin SEM görüntüsü ve çap dağılımları a) %31.2 zein b) %34 zein c) %36.8 zein..... | 58 |
| Şekil 4.4. Sabit zein konsantrasyonunda (%34) ve farklı karvakrol içeriklerinde elektro eğirme yöntemiyle elde edilen liflerin SEM görüntüsü ve çap dağılımları a) %0 karvakrol b) %4 karvakrol c) %8.2 karvakrol | 59 |
| Şekil 4.5. Zein-karvakrol karışımlarından elektro eğirme yöntemiyle elde edilen liflerin SEM görüntüleri a) %32 zein, %1 karvakrol; b) %32 zein, %7 karvakrol; c) %36 zein, %7 karvakrol | 60 |

| | |
|--|----|
| Şekil 4.6. Karvakrol ve elektro eğirme yöntemiyle üretilen liflerin FTIR spektrumları a) karvakrol; b) %34 zein; c) %34 zein, %4 karvakrol; d) %34 zein, %8.2 karvakrol; e) %36 zein, %1 karvakrol; f) %36 zein, %7 karvakrol..... | 61 |
| Şekil 4.7. Karvakrol içermeyen zeinden üretilen lifler ile tribütil sitrat ve yüzey aktif maddesinin FTIR spektrumları a) saf zein (%34); b) saf zein, tribütil sitrat ve tween; c) saf zein and tribütil sitrat; d) tribütil sitrat; e) tween 80..... | 62 |
| Şekil 4.8. Elektro eğirme yöntemiyle üretilmiş liflerde karvakrolün enkapsülasyon verimi | 69 |
| Şekil 4.9. Zein konsantrasyonu ve karvakrol miktarının gerilim direnci üzerine etkisinin tepki yüzey grafiği..... | 72 |
| Şekil 4.10. Elektro eğirme yöntemiyle %36 zein konsantrasyonunda ve farklı karvakrol içeriklerinde elde edilen liflerin çap dağılımları a) %1 karvakrol b) %7 karvakrol | 74 |
| Şekil 4.11. Karvakrol içermeyen (a, deney 11) ve içeren (b, deney 9) nanolif yapısının <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> üzerine antimikrobiyal etkisi..... | 77 |

SİMGELER ve KISALTMALAR

| | |
|----------------|---|
| σ | : Kayma gerilimi (Pa) |
| $\dot{\gamma}$ | : Kayma hızı (s^{-1}) |
| AFM | : Atomik Kuvvet Mikroskobu |
| AKM | : Atomik Kuvvet Mikroskobu |
| d | : Yüzeyin kalınlığını (mm) |
| DMSO | : Dimetil Sülfoksit |
| EV | : Enkapsülasyon verimi |
| FT- IR | : Fourier Transfer Infrared Spektrometresi |
| HPLC | : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi |
| K | : Kıvam katsayısı ($Pa s^n$) |
| n | : Akış davranış indeksi |
| PEO | : Polietilen oksit |
| PVA | : Polivinil alkol |
| Q | : Çözeltinin hacimsel akış hızı (m^3/s) |
| RSM | : Yanıt Yüzey Yöntemi |
| SBG | : Su buharı geçirgenliği |
| SBI | : Su buharı iletme hızı |
| SEM | : Taramalı Elektron Mikroskobu |
| T_b | : Bozunma sıcaklığı |
| T_g | : Camı geçiş sıcaklığı |
| TGA | : Termogravimetrik analiz |

TGaz : Transglutaminaz

TTM : Taramalı Tünelleme Mikroskobu

UV : Ultraviyole Işını

XRD : X Işını Kırınımı



1. GİRİŞ

Nanoteknoloji ortaya çıkan alanın multidisipliner yönleriyle yeni fonksiyonel gıdalar ve gıda ambalaj malzemelerinin geliştirilmesi için gıda araştırmacılarına önemli bir ivme sağlamıştır [Sozer ve Kokini, 2008]. “Nano” herhangi bir fiziksel büyüklüğün milyarda biri olarak tanımlanmaktadır. Nanoteknoloji ilk olarak 1959’da Nobel ödüllü Amerikalı fizikçi Richard Feynman’ın yaptığı bir yayınla ortaya çıkmıştır. Feynman yayınında; fizik kanunlarının, mevcut halinin atom üstüne atom dizilerek yeni bir yapı oluşturulmasına ters düşmediğini öne sürmüştür [Kut ve Güneşoğlu, 2005]. Nanoteknoloji terimi ilk defa 1974’te Tokyo Bilim Üniversitesi’den profesör Norio Taniguchi tarafından malzemelerin atom atom ya da molekül molekül ayrılması, birleştirilmesi ve bozulması işlemlerinden meydana gelmesi olarak tanımlanmıştır [Taniguchi, 1974]. Eric Drexler 1986 yılında yayınladığı "Yaratma Motorları: Nanoteknolojin Yaklaşan Devri" ve "Nanosistemler: Moleküler Mekanizmalar, Üretim ve Hesaplama" kitaplarında istediğimiz maddeyi atom atom dizerek oluşturan nanorobotların varolabileceği düşüncesini savunmuştur. Bununla birlikte "Yaratma Motorları: Nanoteknolojin Yaklaşan Devri" yayımlanan ilk nanoteknoloji kitabı olarak ifade edilmiştir. ABD'nin nanoteknolojiye yatırım yapması sonucu tüm Dünya'nın birçok ülkesinde nanoteknoloji araştırmaları ivme kazanmıştır [Dinç, 2013].

Nanolifler çapları 1.0 mikrondan daha küçük yapıdaki lifler için kullanılan terimsel ifade olarak bilinmektedir. Nano boyuttaki lif yapıları görsel büyütme olmadan görülememektedir [Kozanoğlu, 2006]. Nanolifler, özel uygulamalara sahip materyallerin geliştirilmesine olanak sağlayan mikro ve nano yapısal özellikleri nedeniyle, son yıllarda giderek önemli bir hale gelmiştir. Büyük yüzey alanları ve küçük gözenek boyutları, nanoliflerin önemini artıran özelliklerdir [Süpüren vd., 2007]. Nanolif üretim yöntemleri çekim yöntemi, şablon sentezi, faz ayırma, kendiliğinden düzenlenme, meltbrown, bikomponent lif üretimi ve elektro eğirme uygulamalarından oluşmaktadır.

Polimer nanolifler üretme yöntemleri arasında elektro eğirme yöntemi en avantajlı yöntemdir. Bu yöntem Formhals tarafından 1934’te ortaya çıkmıştır. Son

yıllarda nanometre mikrometre aralığında ultra ince lifler üretilmesinden dolayı bu teknik yaygın hale gelmiştir [Bai vd., 2008].

Bioaktif bileşenlerin korunumun sağlanması, yüksek enkapsülasyon verimi ve enkapsüle edilmiş materyalin sürekli salınımı elektro eğirme tekniğinin avantajları arasında yer almaktadır. Elektro eğirme yöntemi yüksek yüzey alanı, işlevsellik ve mekanik dayanım gibi üstün özellikler taşımaktadır. Elektro eğirme elektrik alan kuvvetleri yardımı ile polimerden nano boyutta lif oluşumunu sağlayan bir yöntemdir. Basit bir elektro eğirme düzeneğinde besleme ünitesi, yüksek voltaj güç kaynağı ve toplayıcı yer almaktadır.

Elektro eğirme tekniğinde, polimer uygun bir çözücüde çözdürülerek şırınganın içine yerleştirilmektedir. Pompa, şırınga içerisinde polimer eriyiğini şırınga boyunca uç kısma doğru itecek sürekli bir basınç meydana getirmektedir. Daha sonra polimer eriyiği ile toplayıcı levha arasında gerilim uygulanmaktadır. Besleyici üniteye iğnenin ucunda asılı durumda duran polimer damlası kritik bir voltaj değerine ulaşıncaya kadar, yüzey geriliminin uyguladığı kuvvetlerden ötürü, küresel bir şekle sahiptir. Uygulanan potansiyel fark bir eşik değerine ulaştığı esnada, elektrostatik kuvvetler yüzey gerilimi kuvvetlerine eşit olmakta ve bu noktada polimer damlası koni biçimini almaktadır. Bu yapı Taylor konisi olarak ifade edilmektedir. Elektro eğirme esnasında polimer çözeltisi toplayıcıya doğru birikmekte, meydana gelen lifler ise sürekli olarak çekilmektedirler. Elektro eğirme yöntemi, polimerlerin önce çok yüksek voltajlı elektrik akımı ile yüklenecek bir düzden topraklı bir plakaya doğru akması esnasında katılaşmaları ile lif oluşturmaya esasına dayanmaktadır. [Kriegel vd., 2008; Li ve Xia, 2004; Reneker ve Yarin, 2008].

Bu tezin amacı, zeinden elektro eğirme yöntemiyle biyopolimer bazlı fonksiyonel nanoliflerin üretilmesi ve özelliklerinin araştırılmasıdır. Bu çalışmada, karvakrolün elektro eğirme yöntemiyle enkapsüle edilerek antimikrobiyal nanoliflerin üretilmesi ve paketleme materyali olarak kullanılma olanağının araştırılması hedeflenmiştir. Tez kapsamında nanolif esaslı yüzeylerin morfolojik, bariyer, mekanik, termal ve antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir. Elektro eğirme yönteminde tek başlıklı püskürtücü sistem kullanılmıştır. Elektro eğirme yöntemiyle

karvakrolün zein içerisinde enkapsülasyonu ve karakterizasyonu ile ilgili literatürde çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile gıdada nanolifli yüzeylerin kullanılma potansiyeli araştırılmış olmakla birlikte nanoliflerin gıda alanında uygulamalarının geliştirilmesi için yapılacak çalışmalara önemli bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. ENKAPSÜLASYON

Enkapsülasyon; bir maddenin başka bir madde veya sistem ile kaplanması olarak bilinmektedir [Madene vd., 2006]. 1932 yılında İngiliz şirketi A. Boake, Roberts ve Co, Ltd tarafından püskürterek kurutma tekniğı uygulanmış gum arabic tarafından kapsüle edilmiş lezzet tozu üretilmiştir. Bu üretim sonrası püskürtmeli kurutma tekniğı gıda alanında büyük bir önem taşımıştır. Püskürtmeli kurutma özün polimerler tarafından koruyucu bir matris ile kaplanması için kullanılan bir enkapsülasyon uygulamasıdır [Barbosa Canovas ve Vega-Mercado, 1996].

Enkapsülasyon teknolojisi tarihsel olarak 40-50 yıl öncesine dayanmaktadır. Enkapsülasyon uygulaması artış oranı 1997-2006 yılları arasında yaklaşık olarak sekiz katına ulaşmıştır. Enkapsülasyon, bir sıvı damlasının veya katı bir parçacığın katı bir kabukla sarmalanması şeklinde uygulanmaktadır. Kabuk, içeriğın serbest kalmasını korumak, stabilize etmek ve kontrol etmek için kullanılır. Enkapsülasyon gıda bileşenlerinin korunması, stabilizasyonu ve yavaş salınımı için kullanılan nispeten yeni bir teknolojidir. Gıdada enkapsülasyon akıllı salınım ve taşıma sistemlerinin geliştirilerek fonksiyonel ingredientlerin hedef hücrelere ulaşımını sağlar. Enkapsülasyon, depolama sırasında tat ve koku maddelerinin kayıplarını önleyerek aroma maddelerinin oksidatif bozulmasının önüne geçmekte, bununla birlikte beslenme ile ilgili kayıpların ortaya çıkmasını engellemektedir. Enkapsülasyon gıdada sindirilebilirliğı sağlayarak raf ömrünü arttıran bir uygulamadır [Gökmen vd., 2012]. Transgulutaminaz (TGaz) enzimi mikroenkapsülasyon işleminde kullanıldığında sodyum kazeinat jellerinin bağırsak içerisinde sindirimi gerçekleşmiştir [Lorenzen vd., 2002].

2.1.1. Gıdada Enkapsülasyon Uygulamaları

Gıda ürünlerinin enkapsülasyonunda elektro eğirme yöntemi enkapsüle edilmiş materyalin sürekli salınımı, kimyasal bozunmada bioaktif bileşiklerinin korunumunun sağlanması ve yüksek enkapsülasyon verimi sebebiyle etkili bir yöntem olmuştur [Bhardwaj ve Kundu, 2010]. Bunun yanı sıra püskürtmeli kurutma, dondurarak kurutma, püskürtmeli soğutma, akışkan yatak kaplama, ekstrüzyon, koaservasyon ve kokristalizasyon gibi yöntemler de kullanılmaktadır [Özcan ve Altun, 2013]. Enkapsülasyon tekniği, gıda sektöründe genellikle, sıvı damlacıkların, katı partiküllerin veya gaz bileşenlerinin gıda saflığında kaplama materyalleri ile kaplanması için ürünlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek ve raf ömürlerini artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Gıda ürünleri içerisinde çoğunlukla katı ve sıvı yağlar, aroma bileşenleri, vitaminler, mineraller, renk bileşenleri ve enzimler mikroenkapsüle edilmektedir. Kaplama materyalleri olarak film oluşturabilen şekerler, gamlar, proteinler, doğal ve modifiye polisakkaritler, yağlar veya sentetik polimerler, jelâtin, pektin, nişasta, kappa-karragenan, agar, peyniraltı suyu ve karbonhidratlar maltodekstrinler şeklinde kullanılır [Aloğlu vd., 2010].

Gıdalarda enkapsülasyon tekniği et ürünlerinde, peynir, margarin, mayonez, süt tozu yapımında, yağ haplarında, meyve suyu üretiminde ve balık yağ haplarında kullanılmaktadır [Magee ve Olson, 1981]. Et ve süt fermentasyonu ve enzim proseslerinde tutuklanmış hücre/enzim teknolojisi kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda mikroenkapsülasyon yapılmış balık yağlarının tüketimi yaygın hale gelmektedir [Gökmen vd., 2012]. Plastik bir film içindeki mikro veya nanokapsüllerden antimikrobiyal maddenin salınımı yeni geliştirilen nanoenkapsülasyon sistemler, mikroenkapsülasyon sistemlerine kıyasla daha iyi fiziksel ve kimyasal kararlılığa ve gıda matriksleri ile daha iyi uyumluluğa sahiptirler. Dolayısıyla, nanoenkapsülasyon sistemler, gıdayı muhafaza etme ve enkapsüle edilmiş antimikrobiyal maddeyi mikroorganizmaların faaliyet gösterdiği bölgelere ulaştırmada daha etkinlerdir [Moreau ve Rosenberg, 1996]. Çözeltideki pH değişimi kapsül büyüklüğünde önemli değişimlere sebep olmaktadır. pH 6.4 koşullarında daha büyük kapsül yapıları görülmektedir. Biyo-uyumlu, biyo-

ayrıştırılabilir ve gıda alanlarında biyoaktif maddelerin enkapsülasyonu için iletken polimer maddeler kullanılmaktadır [Young vd., 1993].

Çizelge 2.1. Gıda enkapsülasyon uygulamaları [Koç vd., 2010].

| Çekirdek Materyal | Kaplama materyali | Enkapsülasyon Gereçesi | Hava Giriş Sıcaklığı (°C) | Hava Çıkış Sıcaklığı (°C) |
|---|---|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Süt yağı | Peynir altı suyu proteinleri/ laktoz | Oksidasyon önlenmesi | 160 | 80 |
| Etil bütirat ve Etil kaprilat | Peynir altı suyu proteinleri/laktoz | Aroma Korunması | 160 | 80 |
| Likopen | Jelatin/sakkaroz | Depolama stabilitesini artırma | 190 | 52 |
| Linoleik asit | Düşük/yüksek moleküler ağırlıklı çözünür soya polisakkaridi | Oksidasyon önlenmesi | 200 | 100-110 |
| Siyah havuç antosiyanin pigmenti | Maltodekstrin | Depolama stabilitesini artırma | 160 | 107 |
| Portakal yağı | Laktoz/ Kazeinat | Aroma korunması | 180 | 80 |
| D- limonen | Gam arabik/maltodekstrin/ modifiye nişasta | Oksidasyon önlenmesi | 200 | 110 |
| Portakal kabuğu yağı | Mesquite gam | Oksidasyon önlenmesi | 200 | 110 |

Elektro eğirme ve elektro püskürtme tekniklerinde kullanılan protein bazlı enkapsüle materyaller [Young vd., 1993] : Peynir altı suyu proteini ekstraktı, peynir altı suyu proteini konsantresi, soya protein ekstraktı, kazein, yumurta albümini, kollajen, jelatin ve zein olarak bilinmektedir. Gıda enkapsülasyon uygulamaları için Çizelge 2.1’de verilen örnekler enkapsülasyonun gelişimi açısından önem taşımaktadır. Balık yağlarında kontrollü salınım sağlamak için TGaz enzimi ile enkapsülasyon işlemi yapılmaktadır [Koç vd., 2008]. TGaz enzimi kullanımı; tekstür iyileştirme, besin değerini artırma, su tutma kapasitesini iyileştirme, proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirme gibi avantajlar sağlamaktadır [Dickinson ve Yamamoto, 1996; Soper ve Thomas,2000; Tachiba vd., 2003; Aktaş ve Kılıç, 2005; Dong vd., 2008; Heidebach vd., 2009].

2.1.2. Enkapsülasyon Teknikleri

Püskürterek kurutma, dondurarak kurutma, hava süspansiyon kaplama yöntemi, döner süspansiyon seperasyon yöntemi, moleküler kompleks oluşturma yöntemi, santrifüj ile suyun uzaklaştırılması yöntemi, ekstrüzyon, emülsiyon, lipozom dağıtma yöntemi, koaservasyon, kokristlizasyon ve elektropüskürtme-elektro eğirme enkapsülasyon teknikleridir.

Çizelge 2.2. Enkapsülasyon yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları [Chen, 2007]

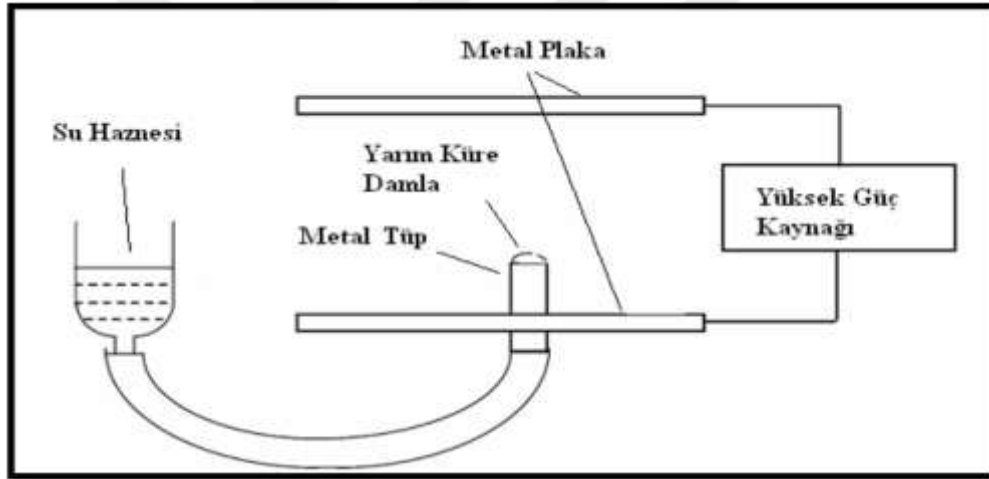
| Özellik | Sprey | Ekstrüzyon | Emülsiyon |
|-----------------------------------|-----------------------------|----------------|------------------------|
| | Kurutma | | |
| Büyütülmesi | Kolay | Daha zor | Kolay |
| Kapsülasyon İşlemi | Basit | Basit | Daha zor |
| Kaplama materyalinin farklılığı | Çok | Az | Çok |
| Şekil ve Genişlik | Üniform/ küçük | Üniform/ büyük | Üniform değil/küçük |
| Mikroorganizmaların Canlı Kalması | Taşıyıcı ve Sıcaklığa bağlı | Yüksek | Yüksek |

2.2. ELEKTRO EĞİRME

Elektro eğirme yöntemi çok farklı polimer çözeltileri ve eriyiklerinden nanofiber üretilmesinde basit ve çok yönlü bir teknik olduğu için son yıllarda ön plana çıkmıştır. Bu yöntemde, polimer uygun bir çözücüde çözülür veya ısı ile eritilir ve bir şırınga içine nakledilir. Daha sonra ise polimer çözeltisine/eriyiğine ve şırınganın açık ucunun yakınındaki bir toplayıcı levhaya yüksek gerilim (50 kV'ya kadar) uygulanır. Sonuç olarak toplayıcı levhada oluşan ağimsı yüzeyde çapları 30 nm'den 1 mikronun üzerindeki değerlere kadar değişen fiberler üretilebilmektedir. Elektro eğirme 1600'lü yıllarda, William Gilbert'in manyetizma üzerine çalışmalarını sürdürürken tesadüfi bir şekilde elektro-manyetizmanın sıvılar üzerine etkisini gözlemlemesiyle ortaya çıkan bir yöntemdir. Gilbert'in çalışmasına göre elektro eğirme metodu bir su damlasının elektriksel olarak kuru bir yüzeyden belli bir mesafede, bir koni biçiminde çekildiği görüşüne dayanmaktadır. 1882'de Lord Rayleigh, elektrik yüküne sahip damlaların elektro-üretim sırasında gösterdiği düzensiz hareketler üzerinde çalışmalar yapmıştır. Rayleigh yalıtılmış yüklü damlacığın kararlılığı üzerine yaptığı çalışmayla yükün kararlılığını sağlayan yüzey geriliminin üstünde bir değer aldığı anda damlacığın kararsız bir hale geldiğini ve parçalanma oluştuğunu bildirmiştir. Yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre; damla üzerine etkiyen iki kuvvetten biri elektrik kuvveti, diğeri ise elektrik kuvvetine tam zıt yönde damlayı etkileyen yüzey gerilimi kuvvetidir. 1914 yılında Zeleny, damla ucundaki elektrik yükü yoğunluğunu basınçlı sıvı kolonunun yüksekliğine bakarak belirlemiş ve böylelikle elektrik yüklü damla ucunun elektrik alan sayesinde mekanik bir kuvvet uygulayarak sıvı kolonunu yükselteceği varsayımı ortaya çıkmıştır. 1917 yılında ise Zeleny, ilk defa elektriklenmiş sıvı yüzeylerinin hızlı elektro-hidrokinamik çarpmasını incelemiştir. Çalışma sonucuna bağlı olarak oluşan spreyn çözücünün yapısının, yüksek voltajın ve borunun ucundaki sıvı basıncının bir fonksiyonu olduğu ifade edilmiştir [Kozanoğlu, 2006].

Elektrik kuvvetinin yüzey geriliminden kaynaklanan kuvveti yendiği anda ise damla ince jetlere ayrılarak akmaya başlamaktadır. Elektro eğirme yöntemiyle lif üretimine dair ilk patent 1934 yılında Anton Formhals [US Patent, 1-975-504] tarafından alınmıştır. Formhals, polimer filament üretimi için elektrostatik kuvvet

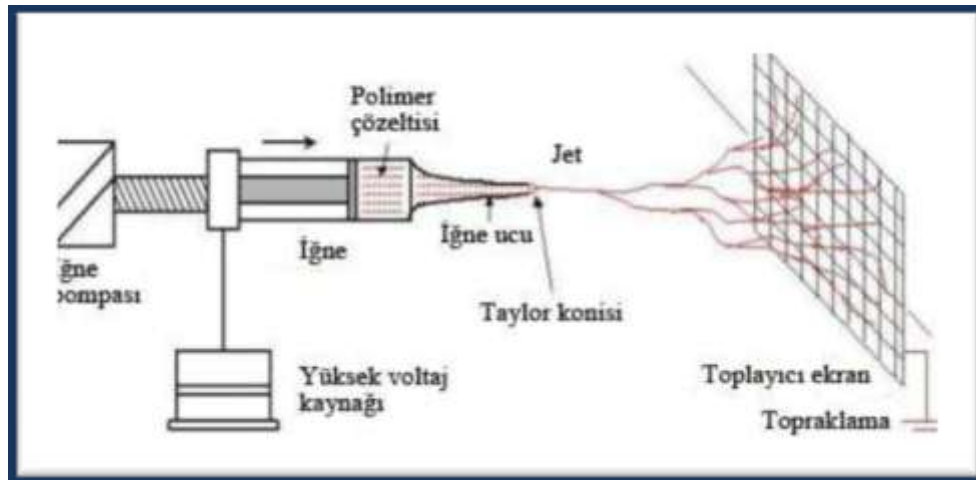
kullanarak bir sistem geliştirmiştir. Elde edilen çalışmada selüloz asetatın polimer çözeltisine elektrik alan uygulanmıştır. Yapılan çalışmada çözelti, selüloz asetatın etilen glikolde çözünmesiyle hazırlanmıştır. Polimer çözeltisi zıt kutuplara sahip elektrotlar arasında yol alarak filament üretimi görülmektedir. Formhals, potansiyel fark olarak 5-10 kV uygulamıştır. 1939’da sistem, şırınga ile toplayıcı arasındaki mesafenin ayarlanabildiği bir şekilde tekrar tasarlanmıştır. Mesafe kısa tutulduğu takdirde çözücü tam olarak buharlaşmamakta, bu nedenle lifler birbirlerine ve plakaya yapışma eğilimine sahip olmaktadır. Hareketli toplayıcı plaka sayesinde liflerin tamamen kurummasını sağlayacak mesafe elde edilmektedir. 1952’de ise Vonnegut ve Neubaunen tek dağılımlı damlaların, 1.0-0.1 mikrometre aralığında sağlanabileceği ifade edilmiştir [Çakmakçı, 2009].



Şekil 2.1. Taylor deney düzeneği

Taylor tarafından 1960’lı yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda, elektriklenmiş sıvıların temel teorik prensipleri ortaya çıkmıştır. Taylor tarafından geliştirilen teoride, bir elektrik alan içindeki viskoz damladan ince lif yapılarının oluşması, elektriksel kuvvetler tarafından yüklenen sıvı yüzeyindeki maksimum karasızlıktan dolayı gerçekleşmektedir. Şekil 2.1’de Taylor deney düzeneği görülmektedir.

Simons 1966'da selüloz esterleri ve eterleri, vinil reçineler, akrilik reçineler, polistiren, polikarbonat ve poliüretan gibi polimerler ile CHCl_3 , aseton, metiletil keton ve metilizobütil keton gibi çözücülerini kullanılarak lif üretimi için bir yöntem uygulamıştır. Baumgarten 1971'de difenilformamid çözeltisinde %93 akrilonitril, %6 metil akrilat ve %0,4 sodyum stirenden oluşan bir terpolimerden lif üretmiştir. Martin, Cockshott ve Fildes 1977'de elektro eğirme yöntemiyle tıbbi amaçlı kullanılabilir lifli ağ yapıları oluşmasını sağlamışlardır [Çakmakçı, 2009]. Larrondo ve St. John Manley tarafından 1981 yılında poliolefinlerin eriyik formda elektro eğilmesi ile ilgili çalışma yapılmıştır. 1982'de Bornat, bir silindir üzerine takılıp sökülebilir bir tabaka sarmış ve bu düzeneği elektro çekim yönteminde kullanmıştır. How, 1985'te silindirin dönüş hızının 2000 ile 20000 rpm [devir/dakika] dönüş hızı aralığında kontrol edilmesi istenen derecede anizotropi kazandırılabilen bir sistem geliştirmiştir. 12 kV potansiyel uygulanan yöntemde sabit bir yönde şırınga bir piston ile itilerek polimer püskürtülmektedir. 1990'lı yılların ortalarına doğru Reneker ve grubunun elektro üretim işlemi üzerine çalışmaya başlamasıyla birçok araştırmacı elektro eğirme yöntemi üzerine yoğunlaşmıştır. Elektro eğirme (electrospinning) tekniği, son zamanlarda nano boyutta lif üretimi için sıkça kullanılmaktadır (Şekil 2.2).

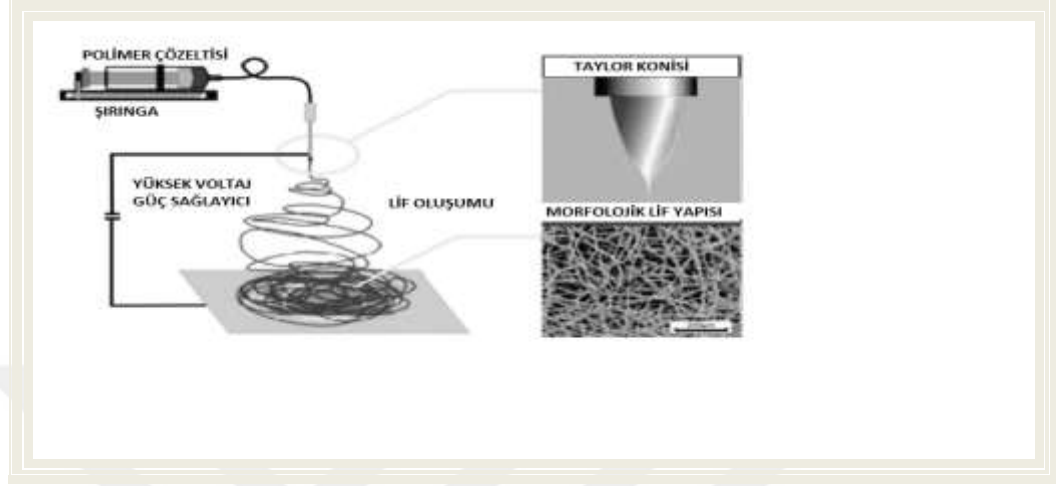


Şekil 2.2. Yatay elektro eğirme düzeneği [Anonim, 2010]

Polimer nanolifler üretme yöntemleri arasında elektro eğirme yöntemi en etkili ve en basit yöntemdir. İlk başta Formhals tarafından 1934'te ortaya çıkan bu yöntem son on yılda nanometre mikrometre aralığında ultra ince lifler üretmesi nedeniyle çok dikkat çekmiştir [Bai vd., 2008]. Elektro eğirme yöntemi nano boyutta mikron ya da mikrondan küçük lif ya da parçacıkların üretimi için polimer çözeltisinin elektrik yükü ile yüklenmesiyle gerçekleşmektedir. Bu yöntem ucuz, uygun maliyetli ve esnek bir yöntemdir. Pek çok avantaja sahip olmakla birlikte gıda işleme ve korunması alanında daha az araştırmalar yer almaktadır. Polimerin moleküler ağırlığı; viskozite, yüzey gerilimi, kondaktivite ve dielektrik gücü gibi reolojik ve elektriksel özellikler üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [Haghi ve Akbari, 2007]. Yüksek moleküler ağırlığa sahip polimer çözeltisi lif üretimi için istenilen viskozite özelliğini sağlar. Polimerin molekül ağırlığı çözeltideki polimer zincir ilişkisini göstermektedir. Polimer zincir ilişkisi elektro eğirmede önemli bir rol oynamaktadır. Polimer konsantrasyonu düşük olduğunda polimer zincirleri yeterli sayıda oluşmaktadır. Bununla beraber elektro eğirme esnasında düzgün bir jet yapısı oluşturmak için çözelti viskozitesi yeterli seviyededir. Polimer çözeltisindeki yüklü iyonlar jet oluşumunda oldukça etkilidir. Çözelti kondaktivitesi; polimer türü, iyonlaşabilen tuzlar ve kullanılan çözelti tarafından belirlenmektedir.

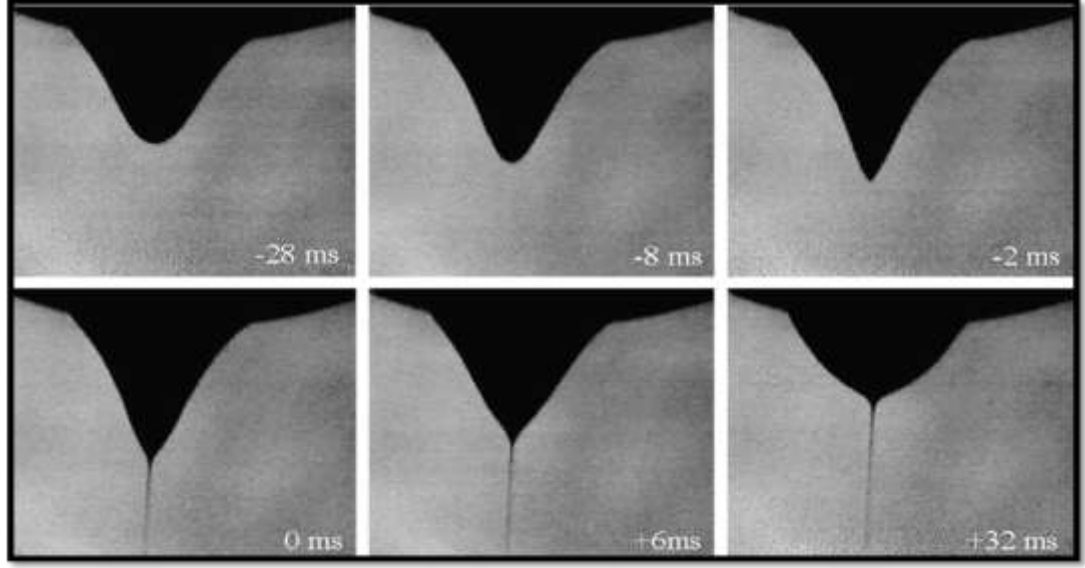
Elektro eğirme sistemi dört ana unsur içermektedir. Elektro eğirme düzeneği yüksek voltaj kaynağı, paslanmaz çelik iğne, şırınga pompası ve iyi topraklanmış döner tambur veya düz bir düzlem şeklindeki toplayıcıdan oluşmaktadır [Anu Bhushani vd., 2014]. Bu teknikte ilk aşamada polimer uygun bir çözücüde çözülür. Çözelti şırıngalara alınır ve dozaj pompasına yerleştirilir. Dozaj pompası istenilen akıma ayarlanır ve çalıştırılır. Yüksek voltaj kaynağı açılır. Metal toplaç ile dozaj pompası arasına uygulanan yüksek voltaj kritik değere ulaştığında, şırınganın ucunda asılı bir damlacık olarak duran çözelti, jet biçiminde ve elektriksel olarak yüklenmiş olarak toplaca doğru hareket etmeye başlar, eğirmeye başlanır. Voltajın kritik değere ulaşmasından hemen önce, yani elektriksel itme kuvvetleri yüzey gerilimini yenmeden az önce, damlacık ucunda yarı küresel haldeki sıvı konik bir şekil alarak "Taylor konisi" adı verilen bir şekil oluşturur (Şekil 2.3). Elektriksel kuvvetin yüzey gerilimini yenmesiyle elektriksel olarak yüklenmiş polimer jeti hızla düzeden dışarıya doğru yönelmekte ve aynı elektriksel yüke sahip partiküllerin birbirini

itmesinden ötürü, polimer jeti çok ince lifler halinde ayrılarak metal bir plaka üzerinde toplanmaktadır.



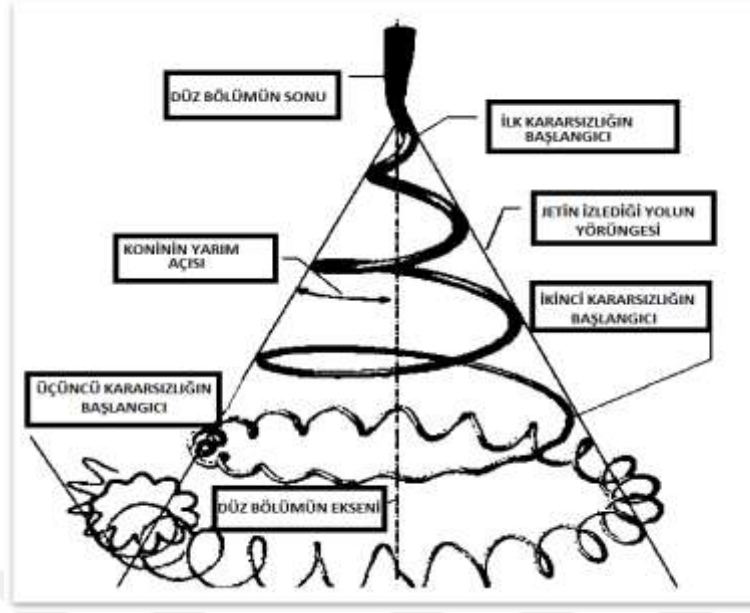
Şekil 2.3. Elektro eğirme düzeneğinde Taylor konisi yapısı [Wallace vd., 2012]

Bir sıvı çözelti, kuvvetli bir elektrik alana maruz kaldığında sıvı çözeltinin molekülleri artı ve eksi yük ile yüklenir ve tıpkı mıknatısın zıt kutupları gibi moleküller birbirini itmeye çalışır. Bu itme kuvveti belirli bir seviyeden sonra sıvı çözeltinin sakız gibi uzayarak incelmeye neden olur. Kuruyan sakız benzeri çözelti kesintisiz ipliksi fiberler halinde birikir. Elektrostatik kuvvet yüzey gerilimini yendikten sonra, jet oluşumu meydana geldiğinde eşit dağılıma sahip olmayan yükler jetin bükülmesine neden olur. Jet yapısının uzaması ve çözücünün hızla buharlaşması ince yapıda lif oluşumuna sebep olmaktadır [Kriegel vd., 2008; Li ve Xia, 2004; Reneker ve Yarin, 2008]. Şekil 2.4'te Taylor konisinin oluşmasıyla voltajda çok küçük bir artışla beraber jet yapısı koni ucundan fişkırmaktadır. Jet metal iğne ucu ile toplayıcı arasında farklı yollar izleyerek hareket etmektedir. Taylor konisinden çıkan yüklü jet yapısı belli bir mesafe boyunca kararlı bir hal alırken daha sonra bu kararlı jet yapısı bozulur ve kararsızlık hali ortaya çıkmaktadır.



Şekil 2.4. Kılcal boru ucundaki damlanın ilerleyerek artan voltaj etkisiyle Taylor konisi ve jet oluşumu [Kozanoğlu, 2006]

Şekil 2.5'te jet yapısı için Klasik Rayleigh kararsızlığı, Eksenel simetrik elektrik alan akımlanması ve Whipping kararsızlığı olmak üzere üç kararsızlık hali görülmektedir [Erdal, 2013]. Jet yüzeyindeki yükler birbirini iterek jette merkezden radyal bir şekilde tork oluşumunu gerçekleştirmektedir. Bu nedenle Whipping kararsızlığı hali gerçekleşir. Jet toplayıcı plakaya yaklaştığı zaman, radyal yükler birbirlerini iterek ana jetten ayrılmakta ve küçük jet yapıları oluşmaktadır. Jet yeterince inceldiğinde viskoelastik kuvvetler sönümlenmekte ve ikinci whipping kararsızlığı hali görülmektedir [Shin vd., 2001]. Elektro eğirme işleminde iki kuvvet dengesi yer almaktadır. Birinci kuvvet sistemi elektro eğirme sürecinin devamlılığını sürdürürken, ikinci kuvvet sistemi ise elektro eğirme işleminin önünde engel oluşturmaktadır. Birinci kuvvet sistemi damlanın kararlı hal yapısını bozarak ince jet oluşumunu sağlamaktadır. İkinci kuvvet sistemi sıvının uzayıp akmasına engel teşkil ederek damlanın sabitlenmesine yol açmaktadır [Erdal, 2013].



Şekil 2.5. Elektro eğirmede kararsızlığı gösteren jet yapısı [Reneker ve Yarin, 2008]

Elektro eğirme yöntemi, işlem koşullarının dikkatli bir şekilde kontrolü gerçekleştirildiğinde ürünün pürüzsüz ve yüksek geçirgenlikte olmasını sağlamaktadır.

2.3. ELEKTRO EĞİRMEDE KULLANILAN BİYOPOLİMERLERİN ÖZELLİĞİ

Biyopolimerler uygun bir çözeltide çözdürülmekte ve çözelti halinde çekilme gerçekleşmektedir. Elektro eğirme prosesinde uygun biyopolimer çözeltisi seçilerek yapılan uygulamayla elde edilen nanolif çapları 10-2000 nm arasındadır [Dursun vd., 2010].

Biyopolimerler toksik özellik içermemesi, biyouyumlu, sindirilebilir, yenilenebilir ve sürdürülebilir olması açısından başta biyomedikal, ilaç ve kozmetik olmak üzere çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Özellikle biyopolimer bazlı antimikrobiyal nano parçacıkları et, balık, tavuk ürünleri, tahıl, peynir, meyve ve sebze ürünlerini içeren geniş bir gıda grubu için, potansiyel uygulamalara sahiptir [Rhim vd., 2006]. Biyopolimerler özellikle nemli ortamlarda suya karşı hassaslığı ve

nispeten az olan katılığı ve gücünden dolayı sınırlı kullanıma sahip yapılardır. Aktif ingredientlerin kontrollü salınımın sağlanması, iç bileşenlerin kontrol altında tutulması, antimikrobiyal ve antioksidant ajanlar için taşıyıcı olarak görev görmesi ve raf ömrünü uzatması sebebiyle avantajlara sahiptir [Zhao vd., 2008]. Doğal biyopolimerlerin biyolojik olarak parçalanması ve yenilenebilir olmasının yanında yenilebilir olduğu için de sentetik polimerlerin üzerinde avantajlara sahip olduğu görüşüne varılmıştır [Rhim ve Ng, 2007]. Doğal biyopolimer ambalajları aktif maddelerin ve besinsel katkıların taşınmasına katkıda bulunmaktadır. Bu da gıda teknolojisinde yeni ürün geliştirilmesinde önem taşımaktadır. Çizelge 2.3'te doğal polimerler ve çeşitleri görülmektedir.

Çizelge 2.3. Doğal polimerler [Dursun vd., 2010]

| DOĞAL POLİMERLER |
|---|
| Polisakkaritler Bitkisel/Algse: nişasta, selüloz, pektin, konjak, aljinat, karragenan, gumlar |
| Hayvansal: hyluronik asit |
| Fungal: pullulan, elsinan, sikleroglukan |
| Bakteriyal: kitin, kitosan, levan, ksantan, poligalaktozamin, kürdlan, jellan, dekstran |
| Proteinler Soya, zein, buğday gluteni, kazein, serum, albumin, kollajen/jelatin, deri, resilin, polilislin, poliamino asitler, poli (γ -glutamik asit), elastin, poliarjinil-poliiaspartik asit |
| Lipidler/sümfaktanlar Asetogliseridler, vakslar, sümfektanlar, emülsan |
| Özel polimerler Lignin, şellak, doğal kauçuk |

Proteinler daha geniş fonksiyonel özellikte olduğundan yüksek intermoleküler bağlanma potansiyeli barındıran spesifik bir yapıdadır. Bundan ötürü mekaniksel özellikleri de polisakkarit ve yağ bazlı filmlerden daha iyidir. Ayrıca, kazein, süt proteinleri ve zein gibi proteinlerin bol miktarda buldukları, ucuz ve kolayca elde edildikleri için yenilebilir filmlerin formülasyonunda nem bariyeri olacak şekilde kullanıldığı belirtilmiştir. Yapılan araştırmada biyopolimer olan kitosan zincirlerinde meydana gelen itici gücün elektro eğirme işlemine uygun

olmadığı belirlenmiştir. Kitosan, PEO veya polivinilalkol (PVA) ile karıştırıldığı zaman, polikatyonik kitosan molekülleri arasındaki itici gücün bir miktar azaltıldığı ifade edilmiştir. Bu sayede kitosan elektro üretime uygun hale gelmektedir [Lu vd., 2006]. Jelatin elektro eğirme yöntemiyle nanolif elde edilen biyopolimerlerden biridir, yüksek sıcaklıkta hazırlanan jelatin çözeltisinin elektro üretim işlem sıcaklığında, soğuyarak neredeyse katı bir hale gelmesi nanolif eldesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle jelatin çözeltisi aljinat ve PEO ile birlikte hazırlanmış, bu karışım oda sıcaklığında akışkan halde olduğundan elektro üretim yöntemiyle başarılı bir şekilde nanolif elde edilmiştir [Moon ve Farris, 2009].

Biyopolimerler uzun, karmaşık ve pahalı saflaştırma yöntemine tabi tutulmaktadır. Yüksek kristallik özelliklerinden dolayı organik çözücülerde daha az çözünmektedir. Biyopolimerler güçlü hidrojen bağları oluşturmaları sebebiyle yüksek çözelti viskozitesine ve jel oluşumuna neden olmaktadır. Biyopolimerlerin mekanik özellikleri zayıftır. Bundan ötürü doğal polimerlerle sentetik polimerler için karışım çözeltileri hazırlanmakta polielektrolit makromoleküllerin karmaşıklığı ortadan kalkmaktadır. Doğal ve sentetik polimerlerin karışım çözeltileri yüksek mekanik özelliklerin görülmesine yardımcı olarak biyouyumluluğun gelişmesine katkıda bulunmaktadır [He vd., 2005].

Ayrıca sentetik polimer zincirleri biyopolimeri çevreleyerek gerekli bağ yapısını sağlamakta böylelikle elektro eğirme prosesi başarıyla gerçekleşmektedir [Duan ve 2004]. Nötral lipidler, yağ asitleri veya vakslar gibi hidrofobik materyallerin biyopolimer nano parçacıklarında nem bariyeri özelliklerini geliştirmek için eklendiği bilinmektedir. UV veya γ -radyasyonu, ultrasonik muamele ve ısı muamele gibi çeşitli fiziksel araçlar ve pH'nın ayarlanması, kimyasal modifikasyon ve çapraz bağlama ajanlarının ilavesi gibi kimyasal araçlar polimer matriksi içinde inter veya intramoleküler çapraz bağlarla indüklenen biyopolimer bazlı nano taneciklerin özelliklerini geliştirmektedir [Rhim vd., 2006].

2.4. ELEKTRO EĞİRME DÜZENEGİNDE KULLANILAN ZEİN

Mısır nişastası üretiminin kuru yan ürünü mısır proteindir. Zein, mısırdaki bulunan bitkisel proteine verilen isimdir. Zein mısır gluten yapısında bulunan prolamin olarak bilinmektedir. Mısırdaki %70 oranında bulunan proteinin %60'ını zein oluşturmaktadır. Proteinin yaklaşık %75'i endosperm tabakasıdır. Kalan yapılar tohum ve kepek arasında dağıtılır. Zein endosperm içinde yer almaktadır. Zein, mısır endosperm yapısının sertliğini belirler. Mısırdan zeinin ayrılması sudkostik (NaOH) ve asitle çöktürme ile sağlanır. Zein, mısırdan nişasta elde edilmesi sırasında %70'lik izopropil alkol ilavesi ile ayrıştırılır. Alkol buharlaştırılır ve açık sarı renkte toz hâlinde zein elde edilir. Ardından bu madde sudkostik çözeltisinde çözünür. Çözelti daha sonra filtrelenebilir, havası alınır ve 24 saat olgunlaştırma için bekletilir. İçinde sülfürik asit, asetik asit ve çinko sülfat bulunan asidik koku banyosunda düzelerden pompalanarak yağ çekim yöntemi ile filament hâline getirilir. Kesikli lif yapılacaksa filamentler yıkanır, kıvrım verilir, kurutulur ve kesilerek şapel hâle getirildikten sonra balyalanır. Zein ilk olarak 1821 yılında John Gorham tarafından tanımlanmıştır [Gorham, 1821]. 1897 yılında sulu alkol çözeltisinde çözünürlüğü ortaya çıkmıştır. Zein glutamin, prolin, lösin ve alanin gibi hidrofobik amino asit kalıntılarını büyük miktarda içerdiğinden suda çözünmez [Shukla ve Cheryan, 2001]. Bu nedenle tüketim için doğrudan kullanılmamaktadır. Mısır gluteninden yılda 500 ton zein üretimi sağlanmaktadır. Amerika'da Freeman sanayi ve Japonya'da Showa Sangyo Corp firmaları tarafından zein üretimi gerçekleştirilmektedir. Zein saflığına bağlı olarak kilogramı 10-40 US\$ arasında değişmektedir. Zein ile üretilen kaplamalar oldukça parlak ve sert bir görünüme sahiptir [Gennedios ve Weller, 1990]. Zein hidrofobik yağlar için dayanıklı özelliğe sahip kaplamalarda kullanılan antimikrobiyal etkiye sahip bir polimerdir. Mısır proteinleri dört sınıfta çözünürlüklerine göre Çizelge 2.4'te tanımlanmıştır [Shukla ve Cheryan, 2001].

Çizelge 2.4. % Protein dağılımı [Shuckla ve Cheryan, 2001].

| Protein | Çözünürlük | Çekirdek Yapısı | Endosperm | Tohum |
|----------|------------|-----------------|-----------|-------|
| Albumin | Su | 8 | 4 | 30 |
| Globulin | Tuz | 9 | 4 | 30 |
| Glutelin | Alkali | 40 | 39 | 25 |
| Zein | Alkol | 39 | 47 | 5 |

Zeinin lizin ve triptofan gibi esansiyel aminoasitler bakımından yetersiz olduğundan besinsel değeri düşüktür. 20. Yüzyılın ortalarında endüstriyel polimer şeklinde kullanılmasından dolayı önem taşımaktadır. Daha etkili zein prosesi için ticari gelişimler meydana gelmiştir. 1939'dan beri mısır gluteninden ticari zein üretimi gerçekleştirilmektedir. Zein, 5-35 µm nişasta granülleri arasında mısır endosperm hücrelerinin sitoplazması boyunca homojen bir şekilde dağılmış halde bulunmaktadır [Duvick, 1961]. Zein biyobozunur bir özellik göstermektedir. Zein, film oluşturma özelliğinden dolayı gıda uygulamalarında oldukça önemli bir yere sahip yenilebilir kaynaklardandır [Shuckla ve Cheryan, 2001]. Zein kaplamaları fındık, şeker, şekerleme ürünleri başta olmak üzere meyve, ilaç ve kapsüllü gıda kaplamalarında; oksijen, lipid ve nem bariyeri olarak kullanılmaktadır. Zein aynı zamanda reçinede ve diğer biyoplastik polimerlerde işlenebilir özellik taşımaktadır. Burada zein kaplamaları kuru üzümde kahvaltılık tahıllara nem geçişini önleyerek ürünün kalitesini korur. Hayvansal gıdaları koruma amacıyla zein kullanımı son zamanlarda etkili hale gelmektedir.

Lösin, alanin ve fenilalanin gibi hidrofobik amino asit kalıntılarını büyük miktarda içerdiği için zein suda çözünme özelliğine sahip değildir [Gianazza vd., 2003]. Suda çözünmeyen polimerler kullanılarak elektro eğirme uygulamasıyla elde edilen lifler suda çözünen polimerlerden elektro eğirme ile üretilen liflere göre enkapsüle edilen bileşik için daha optimal bir koruma sağlamaktadır.

Ultra ince zein lif yapıları elde etmek için %80 etanol sulu çözeltisi kullanılarak elektro eğirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çözelti konsantrasyonu

arttırıldığında lifler daha kalın yapıda olmakla beraber boncuklaşma azalmaktadır. Lif morfolojisinin elektrik alanı ve polimer konsantrasyonundan etkilendiği ortaya çıkmıştır. Lifler %21 (w/v) zein konsantrasyonundan daha yüksek seviyede 15 kV koşullarında elde edilmiştir. Bunun dışında 30 kV elektrik alanında %18 (w/v) zein konsantrasyonundan daha yüksek konsantrasyonda lif üretilmiştir [Miyoshi vd., 2005]. Zein biyoaktif bileşiklerin enkapsülasyonu için önem taşımaktadır. Daha önceki çalışmalara göre epigallokateşin galat enkapsülasyonu için elektro eğirme işlemi uygulanarak üretilen zein liflerinde β -karoten stabilizasyonu gözlenmiştir [Brahatheeswaran vd., 2012, Fernandez vd., 2009, Li vd., 2009].

Kavrulmuş fıstıkların zein ile kaplanmaları oksijen bariyeri görevi taşıyarak raf ömrünü %50 uzatmaktadır. Nisbi nemi %50 ve 70°C'de sıcaklık uygulaması ile elde edilmiş kaplamalı cevizler raf ömrü bir ay olan kaplamasız ceviz ile kıyaslandığında 3 ay raf ömrüne sahiptir [Krochta ve DeMulder Johnston, 1997]. Alabalık filetoalarının taze olarak muhafaza süresi üzerine vakum paketlenme ve zein kaplamanın etkilerini araştırmak amacıyla yapılan çalışma sonuçlarına göre zein kaplamanın vakum paketlenmeye alternatif olabileceği ifade edilmiştir [Can ve Çoban, 2012].

Zein kaplamaları domateslerin üzerindeyken, domatesin nem kaybını azaltmaktadır, renk değişimini de geciktirmektedir. Zein, peynirler üzerinde oldukça etkili olup, peynirlerin yüzeyine koruyucu olarak uygulanan sorbik asidi korumaktadır [Akbaba, 2006]. Ayrıca sosis kılıflarında zein kaplamaları kollajenlerin yerine kullanılabileceği gibi, kuru gıdalar için suda eriyen poşetlerin üretiminde bitki kaynaklı bir alternatif olarak düşünülmektedir [Turbak, 1972].

2.5. ELEKTRO EĞİRME PROSESİNİ ETKİLEYEN PARAMETRELER

2.5.1. Polimer Çözeltisi Parametreleri

İstenilen nanolif üretimi için polimer çözeltisi parametreleri büyük önem taşımaktadır. Elektro eğirme koşullarını ve nanolif yapısını etkileyen parametreler konsantrasyon, moleküler ağırlık, çözelti viskozitesi, yüzey gerilimi, polimer çözelti iletkenliği, çözeltinin dielektrik etkisi ve polimerin pH değeridir. Konsantrasyon ve moleküler ağırlık önemli bir etkiye sahiptir, viskozite de elektro eğirme koşulları için oldukça önemlidir. Bu parametreler optimum koşulda olduğu halde polimer Taylor konisi formunda değildir ve elektro eğirme süreci oluşmayabilir. Bu noktada elektro eğirme oluşumunun gerçekleşmesinde polimer yüzey gerilimi ve iletkenlik önemli bir rol oynamaktadır [Doshi ve Reneker, 1995].

2.5.1.1. Konsantrasyon ve vizkozite

Elektro eğirme koşulu için optimum çözelti konsantrasyonu sağlanmalıdır. Düşük konsantrasyonda boncuklu lif yapısı oluşmakta, yüksek konsantrasyonda çözeltinin akışı yeterli bir şekilde sağlanamayacağından dolayı düzenli lif oluşumu gözlenmemektedir [Sukigara vd., 2003]. Çözelti konsantrasyonu ve lif çapı arasında önemli bir ilişki olduğu araştırmacılar tarafından ortaya çıkmıştır. Çözelti konsantrasyonu arttığında lif çapı da artmaktadır [Ki vd., 2005; Jun vd., 2003]. Çözelti derişimi arttırıldığında boncuk yapısı, küresel biçimden iğsi yapıya dönüşerek artan viskozite direnci ile tektip liflerin oluşumu gerçekleşmiştir [Bhardwaj, 2010]. Çözelti konsantrasyonu lif morfolojisi ve yapısını etkilemektedir [Doshi ve Reneker, 1995].

Çözelti viskozitesi polimerik lif oluşumunda liflerin çapının ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi için önemlidir. Optimum viskozite boncuksuz bir lif tabakası elde edilecek viskozitedir [Gündüz, 2014]. Yapılan çalışmalara göre bir elektro eğirme çözeltisinin en uygun viskozite değerlerinin 800 ile 4000 cP arasında olması gerektiği belirtilmiştir [Doshi vd., 1995]. Çok düşük vizkozite yapısında düzenli lif oluşumu gözlenmemektedir. Yüksek viskozite değerinde jet yapısı

oluşumunda zorluklar meydana gelmektedir. En uygun viskozite değeri elektro eğirme yöntemi için gereklidir. Bununla beraber yüksek viskozite yapısında daha uzun sürede gerilim gevşemesi ortaya çıkmaktadır. Bundan ötürü yüksek viskoziteli çözeltilerden elde edilen nanoliflerin morfolojik analizinde daha kalın lif yapısı gözlenmiştir [Islam vd., 2010]. Viskozite ile lif çapı arasında doğru orantı vardır. Çözelti viskozitesindeki ya da konsantrasyonundaki artış daha büyük çap özelliğine sahip liflerin oluşumuna neden olmaktadır [Deitzel vd., 2001]. Düşük viskoziteyle birlikte küçük çapta lifler oluşmaktadır. Düşük viskozitede küçük çapta lif oluşmasının nedeni coulomb kuvvetlerinin çözelti üzerinde yüksek esneme kuvveti yaratmasıdır [Mit-uppatham vd., 2004]. Düşük viskozite özelliğine sahip çözelti için yüzey gerilimi önemli bir faktördür, konsantrasyon seviyesi kritik konsantrasyon değerinden yukarıda olduğunda boncuklu yapı oluşturmaktadır [Doshi ve Reneker, 1995]. Konsantrasyon ve polimer arasında güçlü bir bağlantı vardır. Polimerin moleküler ağırlığı polimer zincir uzunluğunu ifade etmektedir. Çözelti viskozitesi üzerinde etkili olan polimer zincir uzunluğu, çözücü içerisindeki polimer zincir yapısının zorluk derecesini belirlemektedir. Bununla birlikte polimer konsantrasyonu arttığında viskozite artmaktadır. Moleküler ağırlıktaki artışla birlikte konsantrasyonda artış meydana gelirken bu da daha büyük polimer zincir yapısına yol açmaktadır. Polimer zincir yapısı elektro eğirme süresince jet oluşumunun devamının sağlanmasında büyük bir etki taşımaktadır.

2.5.1.2. Moleküler ağırlık

Polimerin moleküler ağırlığı çözelti viskozitesini etkileyen faktörlerden biridir. Yüksek moleküler ağırlığa sahip bir polimer, çözücüde çözüldüğünde daha düşük moleküler ağırlığa sahip aynı polimer çözeltilisine göre viskozitesi daha yüksektir [Kepekçi, 2011]. Elektro eğirmenin etkili bir şekilde gerçekleşmesi için çözelti yeterli moleküler ağırlıkta polimer içermeli ve çözelti yeterli viskoziteye sahip olmalıdır. Elektro eğirme sırasında polimer çözeltisi toplayıcı boyunca hareket edecek şekilde uzamaya başlar. Molekül zincir yapısı, polimer çözeltisinin uzaması sırasında sürekli jet oluşumunu sağlayan elektriksel sürücü jet kuvvetini engellemektedir.

2.5.1.3. Yüzey gerilimi

Yüzey gerilimi, elektro eğirme sürecinde önemli bir role sahiptir. Yüzey gerilimi azaltılarak düzgün lif yapısı oluşumu görülmektedir. Yüzey gerilimi yüksek değerde olduğu zaman jet yapısı düzensiz hale gelir ve püskürtme oluşumu gerçekleşir. Lif, damlacık ve boncuklu yapının oluşması çözeltilerin yüzey gerilimine bağlıdır, yüzey gerilimi düşük olan çözeltiler elektro eğirme sisteminin düşük elektrik alanda olmasına neden olur [Haghi ve Akbari, 2007]. Elektro eğirmenin başlaması için yüklü çözeltilerin yüzey gerilimini yenmesi gerekir. Jet yapısı toplayıcıya doğru hareket ettiğinde yüzey gerilimi jet boyunca boncuklaşmaya neden olabilmektedir. Yüzey gerilimi akışkanın birim kütledeki yüzey alan miktarını azaltan bir etki göstermektedir. Serbest çözücü moleküllerinin yüksek konsantrasyonunda çözücü molekülleri toplanmak için büyük bir eğilim gösterirler ve yüzey gerilimine bağlı olarak küresel bir şekil alırlar. Yüksek viskozite çözücü ile polimer molekülleri arasında büyük bir etkileşim sağlamaktadır. Yüksek viskoziteli çözeltilerde çözücü molekülleri ile polimer molekülleri arasındaki etkileşimden ötürü boncuk oluşumu engellenmektedir [Dong vd., 2011]. Çözelti yüklerin etkisi altında uzamaya başladığında, çözücü moleküllerinin biraraya gelme eğilimi yüzey geriliminin etkisiyle azalmaktadır. Fong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre etanol gibi düşük yüzey gerilimine sahip olan çözücüler pürüzsüz lif oluşumunu sağlamaktadır [Fong vd., 1999].

2.5.1.4. Polimer ve çözeltilerin elektrik iletkenliği

Elektro eğirme yüzeyde bulunan itme kuvvetlerinin etkisiyle çözeltilerin uzamasına dayalı bir yöntemdir. Çözelti elektrik iletkenliği arttırıldığında jet tarafından daha fazla yük taşınabilmektedir. Polimer çözeltilerindeki yüklü iyonlar, jet oluşumu için yüksek akışkanlık sağlaması bakımından önemlidir. Çözelti elektrik iletkenliği iyonlaşabilir tuzların mevcut olmasına, polimerin çeşidine ve kullanılan çözücüye bağlıdır [Kırıştı, 2011].

Çizelge 2.5. Çözücülerin elektrik iletkenlikleri [Ramakrishna, 2005]

| Solvent | Kondaktivite (mS/m) | Referans |
|---|--------------------------------|--------------------------------|
| 1,2- Dichloroethane | 0.034 | Jarusuwannapoom vd., (2005) |
| Aseton | 0.0202 | Theron vd., (2004) |
| Bütanol | 0.0036 | Prego vd., (2000) |
| Diklorometan / Dimetilformamid (40/60) | 0.505 | Theron vd., (2004) |
| Dikolorometan / Dimetilformamid (75/ 25) | 0.273 | Theron vd., (2004) |
| Dimetilformamid | 1.090 | Jarusuwannapoom vd., (2005) |
| Distile Su | 0.447 | Theron vd., (2004) |
| Etanol | 0.0554 | Prego vd., (2000) |
| Etanol (% 95) | 0.0624 | Theron vd., (2004) |
| Etanol / Su (40/60) | 0.150 | Theron vd., (2004) |
| Metanol | 0.1207 | Prego vd., (2000) |
| Propanol | 0.0385 | Prego vd., (2000) |
| Tetrahydrofuran / Etanol (50/50) | 0.037 | Theron vd., (2004) |

Çizelge 2.5'te farklı çözücü cinsleri için iletkenlik sonuçları gözlenmektedir. Çözelti iletkenliği iyon ilavesi ile artmaktadır. Eğer çözelti tam anlamıyla uzamazsa boncuklaşma görülmektedir. Az miktarda tuz ya da polielektrolit eklendiğinde artan yükler çözelti tarafından taşınarak çözeltinin uzaması sağlanmaktadır. Bu sayede boncuk oluşumunun engellendiği ifade edilmiştir. Çözelti iletkenliğinin artmasıyla beraber daha düşük voltajda lif üretiminin gerçekleşmesine olanak sağladığı sonucu ortaya çıkmıştır [Paipitak vd., 2011]. Çözeltideki elektrik iletkenliği arttırıldığında boncuk sayısında ve nanolif çapında önemli bir düşüş gözlenerek ideal lif yapısının oluşmasına katkı sağlanır

[Kırıştı, 2011]. Çözeltide meydana gelen elektrik iletkenliği düştüğünde yetersiz jet uzaması ve boncuklu yapı oluşmaktadır [Hayati vd.,1986].

2.5.1.5 Çözücünün dielektrik etkisi

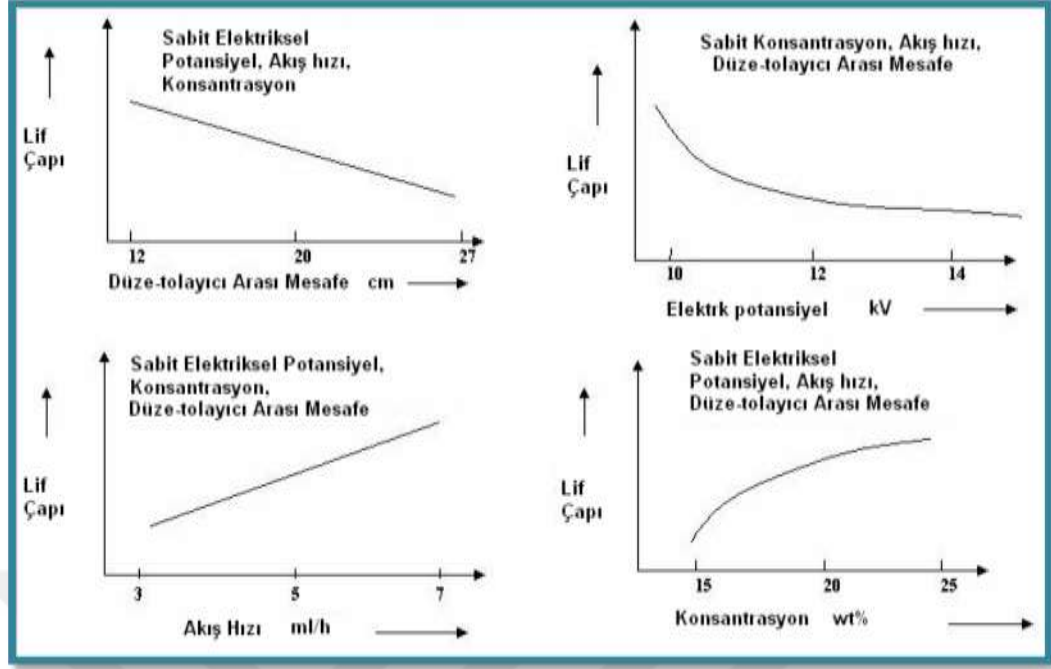
Çözücünün dielektrik sabiti elektro eğirme üzerinde önemli bir etki taşımaktadır. Çizelge 2.6'da farklı türde çözücülerin dielektik sabiti değerleri gösterilmiştir. Yüksek dielektrik özellikteki çözelti boncuklaşma oluşumunu ve oluşan lif çapını azaltmaktadır [Son vd., 2004; Paipitak vd., 2011]. Eğer çözeltiye yüksek dielektrik sabitine sahip çözücü eklenirse çözeltinin elektro eğirme özelliği artmaktadır.

Çizelge 2.6. Çözücülerin dielektrik sabitleri [Ramakrishna, 2005]

| Çözücü | Dielektrik Sabiti | Referans |
|-----------------|-------------------|-----------------------|
| Asetik Asit | 6.15 | Wannatong vd., (2004) |
| Kloroform | 4.8 | Berkland vd., (2004) |
| Diklorometan | 8.93 | Yang vd., (2004) |
| Dimetilformamid | 36.71 | Yang vd., (2004) |
| Etil asetat | 6.0 | Berkland vd., (2004) |
| Etanol | 24.55 | Yang vd., (2004) |

2.5.2. Proses Parametreleri

Elektro eğirme tekniğinde proses parametreleri önemli bir role sahiptir. Proses parametreleri polimer çözeltisinin akış hızı, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe ve uygulanan voltajdır. Bununla beraber sıcaklık ve nem değerleri polimer ve proses koşullarını etkilemektedir.



Şekil 2.6. Lif çapına etki eden proses parametreleri [Kozanoğlu, 2006].

2.5.2.1. Uygulanan voltaj

Elektro eğirme prosesinde uygulanan voltaj kritik bir faktördür. Polimer çözeltisine uygulanan voltaj, elde edilen liflerin morfolojileri ve çapları üzerinde etkilidir. Jet oluşumu için minimum düzeyde voltaja ihtiyaç duyulmaktadır. Voltaj minimum değerinde olduğunda boncuklaşma oluşmaktadır. Bu nedenle boncuk oluşumunu engellemek için voltaj belirli bir seviyeye kadar artırılmalıdır.

Yapılan çalışmalarda voltaj artışının belirli bir seviyeye kadar lif çapında düşüşe neden olduğu fakat bir seviyeden sonra nanolif çapında bir değişim olmadığı gözlemlenmiştir. Nanolif oluşumunda uygulanan voltaj değeri artırıldığında jet üzerindeki elektrostatik itme kuvveti arttığından dolayı nanolif çapında düşme gözlemlenmektedir [Andrady, 2008; Bhardwaj ve Kundu, 2010]. Gerilimin artırılması ile belli bir noktaya kadar lifte incelleme görülmekte ancak gerilimin daha da artırılmasıyla daha çok polimerin çekilmesi sonucu kalın bir yapı oluşmaktadır [Ziğal, 2012].

Yüksek voltaj uygulandığında boncuklu lif yapısı meydana gelmektedir [Deitzel vd., 2001; Demir vd., 2002]. Boncuk şekli voltaj artışı ile küresel hale geçmektedir. Voltajdaki artış ile boncuk yoğunlunun artması jetin kararsız yapısının artması ile ifade edilebilmektedir [Gülmez, 2013]. Yüksek voltaj dıştaki elektrik alanla birlikte çözeltilerin yüklenmesine neden olmaktadır. Elektrostatik alan çözeltilerin yüzey gerilimini yendiğinde elektro eğirme prosesi başlamaktadır. Uygulanan voltaj yüksekse daha büyük miktardaki yükler jetin hızlanmasına ve böylelikle iğne ucundan daha fazla çözelti hacmi çıkmasına neden olmaktadır. Bu da daha az karalı bir Taylor Konisi yapısına yol açmaktadır [Zong vd., 2002]. Çözelti daha düşük viskoziteye sahip ise elektro eğirme boyunca daha yüksek voltajla birlikte ikinci bir jet oluşumu gerçekleşmektedir. Bunun sonucunda elde edilen nanolif yapılarında lif çapı azalmaktadır [Demir vd., 2002]. Voltaj değerinin düşük olduğu durumda jet hızı ve elektrik alanının azalmasıyla jetin havada kaldığı süre artmaktadır. Bu nedenle daha ince lif oluşumu görülmektedir [Demirel, 2012].

2.5.2.2. Mesafe

Elektro eğirme prosesinde, elektrik alan ile uçuş süresi elektro eğirme işlemi gidişatında ve oluşan nanolif özelliklerinin saptanmasında büyük bir etkiye sahiptir [Kireççi vd., 2012]. İğne ile toplayıcı arasındaki mesafe bu iki özelliği birden değiştiren önemli bir etkidir. İğne ile toplayıcı arasındaki mesafe değiştiğinde elektrik alan kuvveti de etkilenmektedir. İğne ile toplayıcı arasındaki mesafe kısa tutulduğunda uçuş süresi azalmaktadır. Jet toplayıcıya ulaşmadan önce daha kısa mesafede yol alacak, böylelikle elektrik alan kuvveti artacak bu da jetin ivmesini arttıracaktır [İçoğlu, 2014]. İğne ile toplayıcı arasındaki düşük mesafe, ıslak lif oluşumuna ve toplama kabına daha süratli çarpmaya yol açmaktadır. Mesafe daha az olduğunda, çözücünün yapıdan ayrılmadığı gözlemlenerek liflerin daha kalın çapta olduğu tespit edilmiştir [Kırıştı, 2011].

İğne ile toplayıcı arasındaki mesafenin arttığı durumda ise jetin izleyeceği mesafe artacağından lifin inceliği artmaktadır. Bu esnada lifler kuru bir şekilde toplanmaktadır [Gülmez, 2013]. İğne ile toplayıcı arasındaki mesafe arttığında lif

çapı azalmaktadır [Ayutsede vd., 2005]. İğne ile toplayıcı arasındaki mesafe çok büyük değere ulaştığında lif oluşumu gerçekleşmemektedir [Demir vd., 2002].

2.5.2.3. Akış hızı

Elektro eğirme uygulamasında akış hızı artırıldığında lif çapı da artmaktadır. Besleme hızı arttığında yüklerde artış meydana gelmektedir. Çözelti daha çok uzamaya başladığında, iğne ucundan daha fazla çözelti akışından kaynaklı lif çapında artışa neden olmaktadır. Besleme hızının etkisini araştırmak için yapılan çalışmada PA6 polimer çözeltisi kullanılarak akış hızları 10 $\mu\text{L/saat}$ ve 15 $\mu\text{L/saat}$ olarak alınmıştır. Çalışmada polimer debisi arttığında lif çapının arttığı sonucu gözlenmiştir [Zhang vd., 2009]. Bununla beraber akış hızının artmasıyla jetin kuruması daha uzun zaman almaktadır. Çözücü buharlaşmak için daha fazla zamana sahip olacağından akış hızının düşük değerde olması istenmektedir [Yuan vd., 2004]. Düşük akış hızı polimer çözücüsünün lif yapısından uzaklaşması için önemli bir etkidir [Kırıştı, 2011].

2.5.2.4. İğne yapısı

İğne iç çapı elektro eğirme işlemini etkileyen bir özelliğe sahiptir. İğnede tıkanmada azalma gözlenmesi çözeltinin atmosfere daha az maruz kalmasından kaynaklıdır. İğne iç çapında azalmaya bağlı olarak lif çapında azalma gerçekleşmektedir [Garg ve Bowlin 2011]. Düze çapı küçüldüğünde damlacığın yüzey gerilimi artmaktadır [Selbes, 2013]. Çok küçük çaplı iğnelerin damla oluşturamadığı için elektro eğirme işleminde tercih edilmediği görülmüştür [Ramakrishna vd., 2005].

2.5.3. Ortam Parametreleri

2.5.3.1. Sıcaklık

Çözeltinin sıcaklığının artması çözücünün buharlaşma hızının artmasına ve çözeltinin viskozitesinin artmasına neden olmaktadır [Kurtalan, 2013]. Çözelti yüksek sıcaklığa sahip olduğunda daha düzgün lif yapıları meydana gelmektedir [Su vd., 2011].

2.5.3.2. Bağıl Nem

Nem nanolif yapısını önemli ölçüde etkileyen bir ortam parametresidir. Yüksek nem içeren ortamda su molekülleri nanolif üzerinde yoğunlaşarak porlu lif yapısı oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalara göre %50 nem oranının altında yapılan elektro eğirme prosesinde daha düzgün lif üretimi meydana gelmiştir. Çözücünün lif yapısındaki buharlaşma hızı üzerinde ortamın nemi etkilidir. Nemsiz ortamda çözücünün buharlaşma hızının daha yüksek olduğu belirlenmiştir [Kepekçi, 2011].

Çizelge 2.7. Bağıl nemin lif çapına etkisi

| Bağıl Nem (%) | Ortalama Çap (nm) |
|---------------|-------------------|
| 10 | 130 |
| 30 | 240 |
| 50 | 290 |
| 70 | 380 |

Çizelge 2.7'de bağıl nem arttıkça lif çapının da arttığı görülmektedir. Bağıl nemdeki artışın, jetin incelmesi için gereken elektrik alan kuvvetini azalttığı ifade edilmiştir [Kozanoğlu, 2006].

2.5.3.3. Basınç

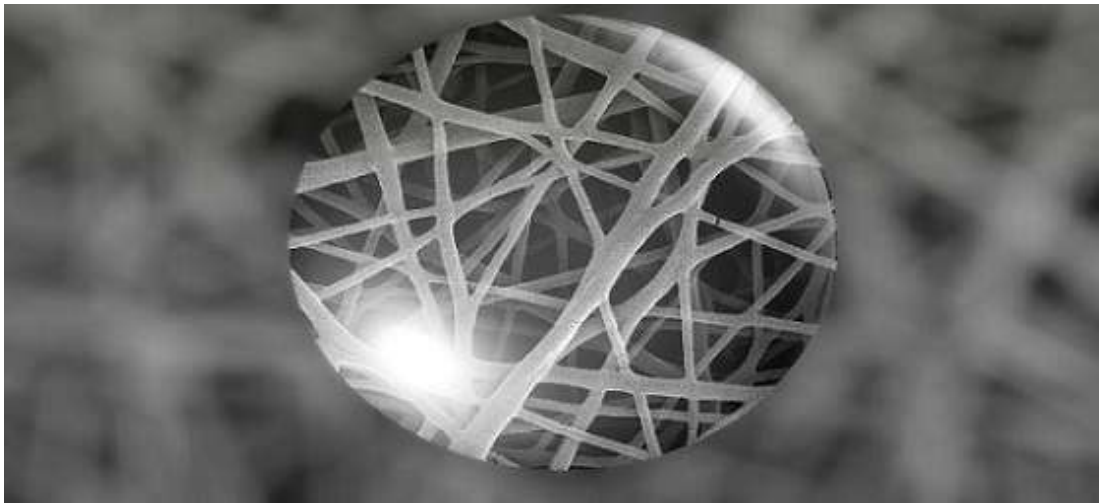
Elektro eğirme sisteminde basıncın düşük olması istenilmeyen bir parametredir. Düşük basınç şırınga içindeki polimer çözeltisinin iğne ucundan daha kolay akmasına neden olarak kararsız jet yapısı oluşturmaktadır. Bununla beraber düşük basınçlı ortamda elektrik yüklerinin kolay boşalmasına bağlı olarak elektro eğirme işlemi gerçekleşmemektedir [Kazaroğlu, 2009].

2.6. NANOLİF

Nanoteknoloji; 1 ile 100 nanometre boyutlarındaki malzemelerin anlaşılması, kontrol edilmesi, atomsal seviyede değiştirilmesi ve işlevsel hale getirilmesi olarak ifade edilmektedir. Nano malzemeler yüzey enerjisi, yük kapasitesi, erime noktası gibi özelliklerde üstünlüğe sahiptir. Richard Feynman nanoyapıların gösterdiği üstün özellikleri vurgulayarak bilim insanlarının dikkatini nanometre boyutlarına çekmek için çaba göstermiştir [Feynman, 1960]. 1980'li yılların başında nanoyapıların fiziksel büyüklüklerinin tespit edilmesi ve nanoölçekte malzeme amacıyla kullanılabilmesi için taramalı tünelleme mikroskobu (TTM), atomik kuvvet mikroskobu (AKM), yakın alan mikroskobu gibi yöntemler uygulanmıştır. Nanoteknoloji alanında ABD lider ülke olup Japonya ve Çin'de önemli araştırmalar ve yatırımlar yapılmaktadır. Liflerin nano boyutta olması, çok küçük kütle ile çok yüksek yüzey alanının sağlanabilmesi, şekil verme, esneklik, kullanılabilen polimer çeşitliliği gibi özelliklerinden dolayı enkapsülasyonda kullanılan en etkili yöntemdir.

Nano materyaller nanopurus materyaller, nanokristalin materyaller ve nanotakviyeli materyaller olarak adlandırılmaktadır. Nanoteknolojinin gıda alanında uygulamalarına örnek olarak Tayvan'da Chiang Mai Üniversitesinden bilim adamlarının yaptığı bir çalışmayla pirincin hücre duvarları ve zarları boyunca nanoölçek seviyesinde çukurlar açılarak, pirincin DNA'sı yeniden yapılandırılmıştır. İsrail Shemen Industry tarafından üretilen kanola yağı, ABD RBC Life Science tarafından üretilen nanoparçacıklara sahip yağ ve kalorisi düşük, yapay tatlandırıcı

içermeyen çikolota, Çin Shenzhen Become Industry tarafından üretilen nanoçaylar nanoteknolojinin gıda endüstrisine kazandırdığı ürünlerden birkaçı olarak belirtilmektedir [Nanotechproject,[web], 2007]. Nanoteknoloji üreticiye, malzemenin yapısını moleküler ölçüde değiştirerek gerekli malzeme özelliklerini elde etme olanağı sağlamaktadır. Nanoteknolojinin gıda uygulamalarında paketleme yöntemi büyük bir önem taşımaktadır. Birçok gıda malzemesi, nanoyapıyla sağlanan gaz/su buharı geçirgenliğiyle korunmakta ve tüketicinin aradığı özellikleri taşımaktadır. Nanoteknoloji kullanılarak daha fazla ısı ve ışık dirençli, daha kuvvetli mekanik ve ısıl performans özelliğinde ve daha az gaz emilimine sahip ambalaj malzemesi üretilmektedir [Sönmez vd., 2009]. Nanoparçacıklarla güçlendirilmiş polimerler kullanılarak elde edilen paketlemelerde yiyecekler uzun süre tazeliğini korumakta ve son kullanma tarihleri normal süreden daha fazla uzamaktadır [Özer, 2008]. Genel anlamda lifler söz konusu olduğunda 'nano' lif çapının büyüklüğü hakkında bilgi verir. Lif; belirli uzunluk, incelik ve mukavemete sahip yumuşak, sarılmaya, eğilmeye ve bükülmeye uygun en küçük hammadde olarak tanımlanmaktadır. Nanoliflerin çapları genelde 50-300 nanometre arasındadır. Nanolif çapı 0.1-1 nanometre arasında ise lifler angstrom seviyesinde, 1-10 nanometre arasında ise nano seviyesinde, 100-1000 nanometre arasında ise mikron altı seviyede ve 1000-10000 nanometre arasında ise mikron seviyesinde olarak ifade edilmektedirler [Süpüren vd., 2007]. Şekil 2.7'de nanoliflerin morfolojik yapısı gözlenmiştir.

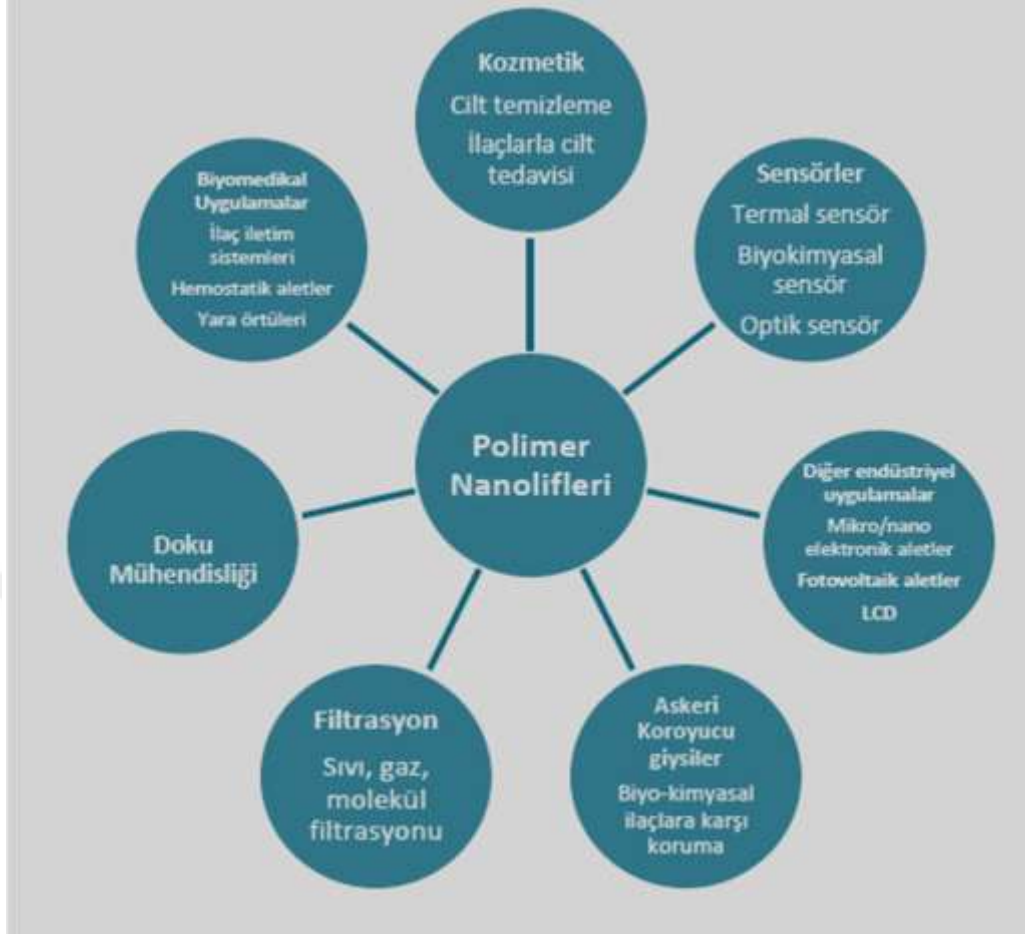


Şekil 2.7. Nanolif morfolojik yapısı [Inovenso]

Nanolifler yüksek moleküler oryantasyona sahip olmakla beraber, küçük boyutları sayesinde daha az yapısal kusur taşınması mekanik özelliklerinin gelişmesine katkıda bulunmaktadır. Nanoliflerin küçük çaplarından ötürü yüzey/hacim oranları veya yüzey/kütle oranları yüksektir ve böylece nanolif yapıları yüksek spesifik yüzey alanlarına sahiptir [Kut ve Güneşoğlu, 2005]. Nanolifler, su geçirmezlik performans özellikliğinde artış, yüksek gözeneklilik, gözenek boyutlarının kontrol imkanı, yumuşak ve iyi bir tutum, çok yüksek spesifik yüzey alanı ve düşük özgül ağırlık göstermesi bakımından pek çok uygulama alanında yarar sağlamaktadır [Kozanoğlu, 2006].

Çeşitli yöntemlerle elde edilen tek boyutlu nanoyapılarla kıyaslandığında, nanolifler genellikle lif çekimi sonrasında bir yüzey üzerinde toplanarak dokusuz yüzey haline getirilmektedirler. Lif çekim yöntemiyle diğer yöntemlere göre daha uzun lif yapıları oluştuğu görülmüştür [Süpüren vd., 2007]. Nanolifler, filtrasyon uygulamaları, tarım uygulamaları, biyomedikal uygulamalar, savunma uygulamaları, elektriksel ve optik uygulamalar, kompozitler ve diğer uygulama alanlarında kullanılmaktadır (Şekil 2.8).

Gıda bileşenleri içeren nanoliflerin kullanım amacı enzim, DNA, vitamin, antioksidan gibi maddelerin taşınması olarak ifade edilmektedir. Kitosan, aljinat, selüloz ve türevleri (selüloz asetat, karboksimetilselüloz, hidroksipropilmetilselüloz, metil selüloz), dekstran, kollajen, jelatin, kazein, buğday gluteni, zein, yumurta kabuğu proteinleri, yumurta albümini, bovin serum albümini, bazı enzimler (lipaz, katalaz, üreaz) ve doğal bileşenler (lesitin, deoksiribonükleik asit) nanolif yapımı için kullanılan bileşenlerdir. Nanolifler gıda enkapsülasyonunda lezzet ve antioksidan bileşenlerinin konsantrasyonu azaltılarak etkinliğinin artırılması amacıyla kullanıldığı gibi, emülsiyonlarda, yağ içeriği yüksek olan bazı gıdalarda ve sineresis (su ayrılması) problemi olan gıdalarda stabilite sağlama amaçlı kullanılmaktadır. Enkapsüle edilmek istenen bileşenin besleme çözeltisiyle birlikte veya bikomponent parça kullanılarak lif içerisinde enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmektedir. Gıda bileşenleri ile nanoparçacık üretimi çalışmalarının fazla olmamasından ötürü nanoteknolojinin gıda uygulamaları sınırlı hale gelmektedir [Okutan vd., 2014].



Şekil 2.8. Polimer nanoliflerin uygulama alanları [Kırıştı, 2011]

2.7. ELEKTRO EĞİRME İLE İLGİLİ YAPILAN ÇALIŞMALAR

Kong ve Ziegler [2014], saf mısır nişastasını liflerinin elektro eğirme tekniği ile üretilmesi üzerine yaptıkları çalışmada %15 (a/a) nişasta örneği %95 dimetil sülfoksit çözeltisi içinde çözdürülerek çözelti hazırlanmıştır. Deney koşullarına uygun olarak voltaj, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe ve akış hızı sırasıyla 7.5 kV, 4 mL/h, 7.5 cm olarak belirlenmiştir. Yüksek voltaj uygulandığında, DMSO/su çözeltisi içindeki yüksek amiloz sürekli jetleri meydana gelmektedir. Pürüzsüz ve düzgün nişasta lifleri gözlenmiştir. Lif çapları belirlenen deney koşullarında mikron düzeyindedir. Araştırmada 40 ve 50°C’de %40 ve % 50 (a/a) etanol çözeltisindeki nişasta liflerinin termal analiziyle nişasta liflerinin kristalizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle bir sonraki eğirme için 65°C uygulanmıştır. Isı uygulaması nişasta

liflerinin kristallliğini artırarak mekanik gücünü iyileştirmede katkı sağlamaktadır. Buhar fazlı glüteraldehit kullanılarak nişasta liflerinin çapraz bağlı yapısı sağlanmıştır. Çapraz bağlı yapıdaki nişasta lifleri nem stabilitesini geliştiren bir özelliğe sahiptir [Kong ve Ziegler, 2014].

Mori vd. [2014], elektro eğirme yöntemiyle gerçekleştirdikleri çalışmada, zein tannin karışımı 1:0; 0.9:0.1; 0.85:0.15; 0.80:0.20 oranlarında kullanılarak elde edilen lif üretiminde homojen lif morfolojisi tespit edilmiştir. Polimer kristalizasyonu gerçekleşmiştir. Tannin eklenmesiyle zein matriks yapısında tanninden kaynaklı antiplastikleştirici etkiden dolayı camsı geçiş sıcaklığı artmıştır. Tannin eklenmesiyle erime sıcaklığı artmıştır. Tannin hidrofobik polimer matris uyumluluğuna sahip olması bakımından termal özellikleri geliştirmiştir [Mori vd., 2014].

Okutan vd. [2014], elektro eğirme prosesi uygulayarak yaptıkları çalışmada, 28-35 kV voltaj koşullarında jelatin konsantrasyonu 7 and 20% (a/h) olan nanolif elde edilmiştir. İğne ile toplayıcı arasındaki mesafe 10 cm olarak uygulanmıştır. Besleme hızı 1-0.1 mL/h olarak uygulanmıştır. Elektro eğirme öncesi besleme çözeltileri için elektrik iletkenliği, yüzey gerilimi ve reolojik özellikler belirlenmiştir. Morfolojik analiz sonucuna göre %20 jelatin çözeltisiyle nano yapıda lif oluşumu gözlenmiştir. %20 jelatin çözeltisi için elektriksel iletkenlik, yüzey gerilimi kıvam indeksi ve akış davranış indeksi sırasıyla 4.77 mS/cm, 34.91 mN/m, 1.37 Pa sn ve 0.93 olarak ifade edilmiştir. Nanolif çap aralığı voltajla birlikte artmaktadır. Zeta potansiyeli ve difüzyon katsayısı dağılımı belirlenmiştir. Zeta potansiyeli ve difüzyon katsayısı dağılımı için sonuçlar voltaj arttıkça düşmektedir [Okutan vd., 2014].

Camerlo vd. [2013], emülsiyon elektro eğirme uygulaması çalışmalarında, yüksek uçucu koku salan maddeler için elektro eğirme tekniği incelenmiştir. Poli(vinil alkol) lif matriks yapısı içinde R-(+)-limonen kimyasalı enkapsüle edilmiştir. Limonen enkapsülasyon etkisi, lif yapısının koloidal özellik yapısı ve emülsiyon formülasyon etkisi tanımlanmıştır. Yüksek uçucu D-Limonen emülsiyon elektro eğirme ile PVA lif yapısı içine enkapsüle edilmiştir. Bir saat boyunca elektro eğirme işlemi uygulanmış örneklerde emülsiyon önemli değişimlere yol açmamıştır. Enkapsülasyon yeterliliği %50'den daha fazla emülsiyonlar için sürekli faz

konsantrasyonu, sulu ve organik faz oranıyla değişime uğrar. Lif morfolojisi emülsiyon vizkozitesine bağlıdır. Limonen için sıcaklık ve bağıl nem koşullarının etkisi tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık olduğunda limonen salınımı artmaktadır. Bu çalışma ara enkapsülasyon matris kullanılmadan etkili enkapsülasyon sağlayan yöntemin uygulanabilirliğini doğrulamaktadır. Emülsiyon elektro eğirme yöntemi gıda paketlenmesinde ve koku salınımında kullanılmaktadır [Camerlo vd., 2013].

Pakravan vd. [2011], elektro üretim üzerine yaptıkları çalışmada, 60-80 nm çap aralığında homojen oluşumu için 25°C'de % 10 polietilen oksit varlığında 50% asetik asit içerisinde kitosan (97.5%) eklenerek çözelti elde edilmiştir. Bu polisakkaritin elektro eğirme işleminde çözeltinin yüzey gerilimi, iletkenlik, vizkozitesi ve asit konsantrasyonu gibi sistematik nicel analizleri yapılmıştır. Polietilen oksitin kitosanın elektro eğirme işlemini nasıl geliştirdiğini açıklamak için kitosan ve polietilen oksit çözeltilerinin reolojik özellikleri araştırılmıştır. Kitosan molekülünde ve sert zincir yapısında bulunan pozitif yükler kitosanın elektro eğirme özelliğini engellemiştir. Çeşitli oranlarda kitosan polietilen oksit karışımından oluşan çözeltiler hazırlanmıştır. Kitosan polietilen oksit karışımının gerilim vizkozitesindeki pozitif sapma değeri belirlenmiştir. Kitosan ve polietilen oksit elektro eğirmesinin oluşmasını sağlayan bu değer kitosan ile polietilen oksit karışımının güçlü bir hidrojen bağı oluşturduğunun kanıtı olarak ileri sürülmüştür. Antibakteriyel film paketlenme ve filtrasyon uygulamalarında gelecek vaat eden yüksek kitosan içeriği kullanılarak elektro eğirme yöntemiyle homojen yapıda düzgün lif üretilmiştir [Pakravan vd., 2011].

Nieuwland vd. [2014], elektro eğirme sistemi üzerine geliştirdikleri çalışmada, etin yerine kullanılması için yapı taşları olarak ince fibriller üretme olasılığı araştırılmıştır. Elektro eğirme yöntemi uygulanarak ince fibriller üretilmiştir. Proteinler için eğirme yöntemi oldukça zor olmaktadır. Birçok protein için eğirme işlemi gıdada kullanılabilir koşullarda olmamaktadır. Eğirme için gıdada kullanılabilir olan iki protein vardır. Bunlar etanolle kullanılan zein ve su ile kullanılan jelatin proteinleridir. %20-25 zein %70-80 etanol içerisinde çözdürülerek çözelti hazırlanmıştır. Sodyum kazein-zein karışımı 65°C'de karıştırılmıştır. Bunun üzerine soğutma işlemi uygulanmıştır. Elektro eğirme koşulları için sıcaklık 30°C,

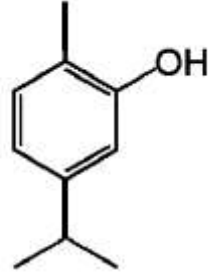
40°C, 50°C ve 60°C olup, zein konsantrasyonu % 7.5 ve %22.5 aralığında, sodyum kazein konsantrasyonu %5 ve % 15 aralığında, etanol konsantrasyonu ise % 22.5 ve % 67.5 (a/a) aralığında olmaktadır. Sodyum kazein, peynir altı suyu, ovalbumin ve soya karışımının su içerisinde hazırlanmasıyla oluşan %20 stok çözeltisine jelatin 75 B % 15 jelatin oluşturacak şekilde ilave edilmiştir. Çözelti karıştırılarak jelatin çözünmesi amacıyla 40°C'ye ısıtılmıştır. Jelatin A 50, jelatin A 150 ve jelatin B 75 için % 10, 12.5 ve 25 oranında çözelti oluşturacak şekilde %15 izole peynir altı suyu proteiniyle birlikte %20 (a/a) izole peynir altı suyu proteininin stok çözeltisine eklenerek hazırlanmaktadır. Oluşan çözelti jelatinin çözünmesi için 40°C'ye ısıtılmıştır. Jelatin 50 A azalan konsantrasyonla birlikte eğilmede azalma göstermiştir. Yapılan çalışmayla %15 jelatin konsantrasyonunda boncuklaşma gözlenmiştir. Jelatin miktarı azaldığında boncuklaşma artmaktadır. Bununla birlikte %10 jelatin kullanılarak gerçekleşen elektro eğirme sürecinde elektro eğirmeden çok püskürtme olduğu ortaya çıkmış fakat 150 A jelatin yapısı kullanıldığında %15 jelatin konsantrasyonu için pürüzsüz fibriler yapı oluşmuştur.. Jelatin globüler proteinler içinde elektro eğirme işlemi için ilk olup gıdada kullanılabilir lif yapısının oluşmasını sağlamıştır. Temel aminoasitleri içeren yüksek kalitedeki proteinlere talep artmaktadır. Fibriler yapı proteinlerin tekstür özelliği üzerinde önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada jelatinin taşıyıcı protein şeklinde kullanılarak globüler proteinlerin elektro eğirme yöntemiyle lif oluşturduğu gözlenmiştir. Taşıyıcı proteinlerin davranış özelliklerini moleküler yapıları belirlemektedir [Nieuwland vd., 2014].

Neo ve ark. [2013], elektro eğirme tekniği kullanarak yaptıkları çalışmada, enkapsülasyon uygulaması gerçekleştirilmiştir. Galik asit %5, %10 ve %20 oranlarında %80 etanol içinde çözdürülmüş ve %25 (a/a) zein çözeltisi oluşturacak şekilde zein eklenmiştir. Elektro eğirme koşulları için akış hızı 0.8 mL /h, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe 13 cm, uygulanan voltaj 16 kV olarak alınmıştır. Üretilen lif çapları 327–387 nm arasında gözlenmiştir. Galik asit için termal ve fiziksel özellikler X ışını kırınımı (XRD) ve diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC) ile tanımlanmıştır. Galik asit zein etkileşimi ATR-FTIR spektroskopisi ile analiz edilerek belirlenmiştir. Termogravimetrik analiz sonucu galik asit eklenmesinden önce ve sonra farklı termal stabilite görülmüştür. Galik asit miktarının artmasıyla

viskozitede hafif bir artış meydana gelmekte ve lif çaplarında artış gözlenmektedir. Galik asit elektro eğirme boyunca fenolik özelliğini korumuştur. Galik asit içeren zein lif yapıları antioksidan özellik kazanmıştır. Elektro eğirme tekniği gıda teknolojisinde kullanılan mikron altındaki yapıların enkapsülasyonu için verimli ve etkili bir yöntem olarak umut verici sonuçlar ortaya çıkarmıştır [Neo vd., 2013].

2.8. ELEKTRO EĞİRME DÜZENEĞİNDE KULLANILAN KARVAKROLÜN ÖZELLİKLERİ VE KİMYASAL YAPISI

Karvakrol antimikrobiyal, antioksidan, antispasmodik, antifungal ve tat verici özelliğe sahip etki gösteren kekik uçucu yağında en fazla bulunan esansiyel yağ bileşenidir. Sıvı timolün kokusuna benzer kokuda olup, renksizden soluk sarıya değişen karvakrol 150 g/mol ($C_{10}H_{14}O$) moleküler ağırlıklı fenolik yapıdaki bileşiktir (Şekil 2.9). Karvakrol, diğer esansiyel yağ bileşenleri ile karşılaştırıldığında spesifik bir antimikrobiyal aktiviteye de sahip esansiyel yağdır. Karvakrol *B. cereus* bakterisi hücre membranında bulunan fosfolipit yapıya etki ederek bu yapıyı ortadan kaldırmaktadır [Ultee vd., 2000]. Karvakrolün fitotoksik bir etki göstererek fitopatogenik mantar gelişmesini engellediği sonucuna ulaşılmıştır [Kordalı vd., 2008].



Şekil 2.9. Karvakrol bileşiminin kimyasal yapısı

Gıdaların raf ömrünü arttırmaya yönelik yapılan çalışmada karvakrolün uygun doz karışımlarının yüksek hidrostatik basınç oluşturduğu ve mikroorganizmaların hücre zarı geçirgenliğini ayrı ayrı kullanılmalarına göre çok daha hızlı şekilde etkilediği sonucu ortaya çıkmıştır [Karatzas vd., 2001].

Karvakrol yüklü zein nanoyapıları karvakrol bulunmayan kontrol grubuyla karşılaştırılmış *E. coli* konsantrasyonunda azalma gözlenmiştir. Sonuçlar 0.8-1.8 log

CFU/ml arasında değişiklik göstermiştir [Wu vd., 2012]. Karvakrolün *E. coli* gelişimi üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu antimikrobiyal etki karvakrolün sitoplazmik membranı depolarize edebilmesi ve geçirgenlik özelliğinden kaynaklanmaktadır. Bununla beraber hücrenin dış duvarında proteinlerin çöktürülmesiyle birlikte çökelti halinde yapılar gözlenmiştir [Xu vd., 2008]. Yüksek karvakrol konsantrasyonuna sahip nano malzemelerin *E. coli* inhibisyonu üzerinde daha etkili olduğu sonucu ifade edilmiştir. Diğer başka bir çalışmada %15 (a/a) karvakrol yüklü buğday gluteni/montmorillonite kaplı nanoyapıda karvakrolün difüzyon olma özelliğinden dolayı *E. coli* üzerinde antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır. [Mascheroni vd., 2011]. Karvakrol yüklü nanoyapılarda karvakrolün *L. monocytogenes* ve *S. aureus* bakterilerinin inhibisyonunda büyük bir etkisi olduğu gözlenmiştir. Karvakrol gram negatif bakterilerinde daha az etki göstermektedir. Gram negatif bakterileri hücre zarında dış lipopolisakkarit tabakaya sahip olduğundan hidrofobik bileşiklerin hücre içi ortama difüzyonunu sınırlanmakta ve bu nedenle karvakrolün antimikrobiyal etkisi azalmaktadır [Da Rosa vd., 2015]. Karvakrol ile yapılan diğer çalışmalarda *E. coli* minimum inhibisyon konsantrasyonu 0.225-5 µL/mL, *S. typhimurium* minimum inhibisyon konsantrasyonu 0.225-0.25 µL/mL, *S. aureus* için minimum inhibisyon konsantrasyonu 0.175-0.450 µL/mL ve *L. monocytogenes* minimum inhibisyon konsantrasyonu 0.375-5 µL/mL aralığındadır [Kim, vd., 1996; Helander vd., 1998; Bakkali vd., 2008]. Karvakrol ve timol ile yüklenmiş zein nanoyapısal örnekleri için *E. coli* inhibisyonu üzerine yapılan çalışmada aynı pH koşullarında 12 saatten daha kısa süredeki inokülasyon sonunda timolün karvakrolden daha etkili olduğu sonucu görülmektedir. Bununla beraber 48 saat inokülasyon sonunda *E. coli* gelişmesini önlemede karvakrolün timolden daha etkili olduğu tespit edilmiştir [Wu, 2013]. Sosislere uygulanan karvakrol yüklü metil selüloz filmlerinde *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri için toplam bakteri sayısı 0.9 ve 0.7 log cfu/mL olarak belirlenmiş olup karvakrolün bu mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu görülmüştür [Tunç ve Duman, 2011]. Yapılan diğer çalışmada ayçiçek yağına karvakrol enkapsüle edilmiş *E. coli* ve *L. delbrueckii* konsantrasyonunda tam bir inaktivasyon sağlanırken *S. cerevisiae* bakteri konsantrasyonunda azalma

görülmüştür. Bu çalışmada 24 saat süre sonunda *S. cerevisiae* bakteri konsantrasyonunda tam bir inaktivasyon gerçekleşmiştir [Donsi vd., 2012].

Karvakrol antimikrobiyal özelliği, fonksiyonel hidroksil grupları ve yüksek redoks potansiyelleri sayesinde göstermektedir. Karvakrol, protonların hücre dışı sıvısına geçişini sağlayarak, patojen mikroorganizmanların stoplazmik zarlarının parçalanıp, ölmelerine neden olur [Çetin ve Yıldız, 2004].

Kekik otu yağının başlıca bileşeni karvakrolün inhibe edici etkisi hücre zarı geçirgenliğinin zarar görmesinden ileri gelir. Böylece pH ve inorganik iyon dengesini etkilemektedir [Lambert v.d., 2001]. Diğer bir çalışma sonucuna göre karvakrolün pH'nın 6.5 olduğu ortama göre pH'nın 5.5 olduğu şartlarda çok daha etkili olduğu belirtilmiştir [Juven v.d., 1994]. Karvakrol antimikrobiyal etkisinin yanı sıra antifungal [Chami vd., 2005; Tampieri v, 2005], antitoksijenik [Ultee vd., 2001], insektisidal [Ahn vd., 1998; Panella vd., 2005] ve antiparasidik [Lindberg vd., 2000] aktiviteye sahiptir. Karvakrol aynı zamanda tat verici ve iştah artırıcı bir bileşiktir. Karvakrol sindirim enzimlerinin aktivitesini artırarak besin maddelerinin sindirilme derecesini yükseltir. Bununla birlikte karvakrolün antibakteriyel ve antifungal etkilerinin yanı sıra antikoksidiyal etkiye de sahip olduğu bildirilmiştir [Aureli v.d., 1992].

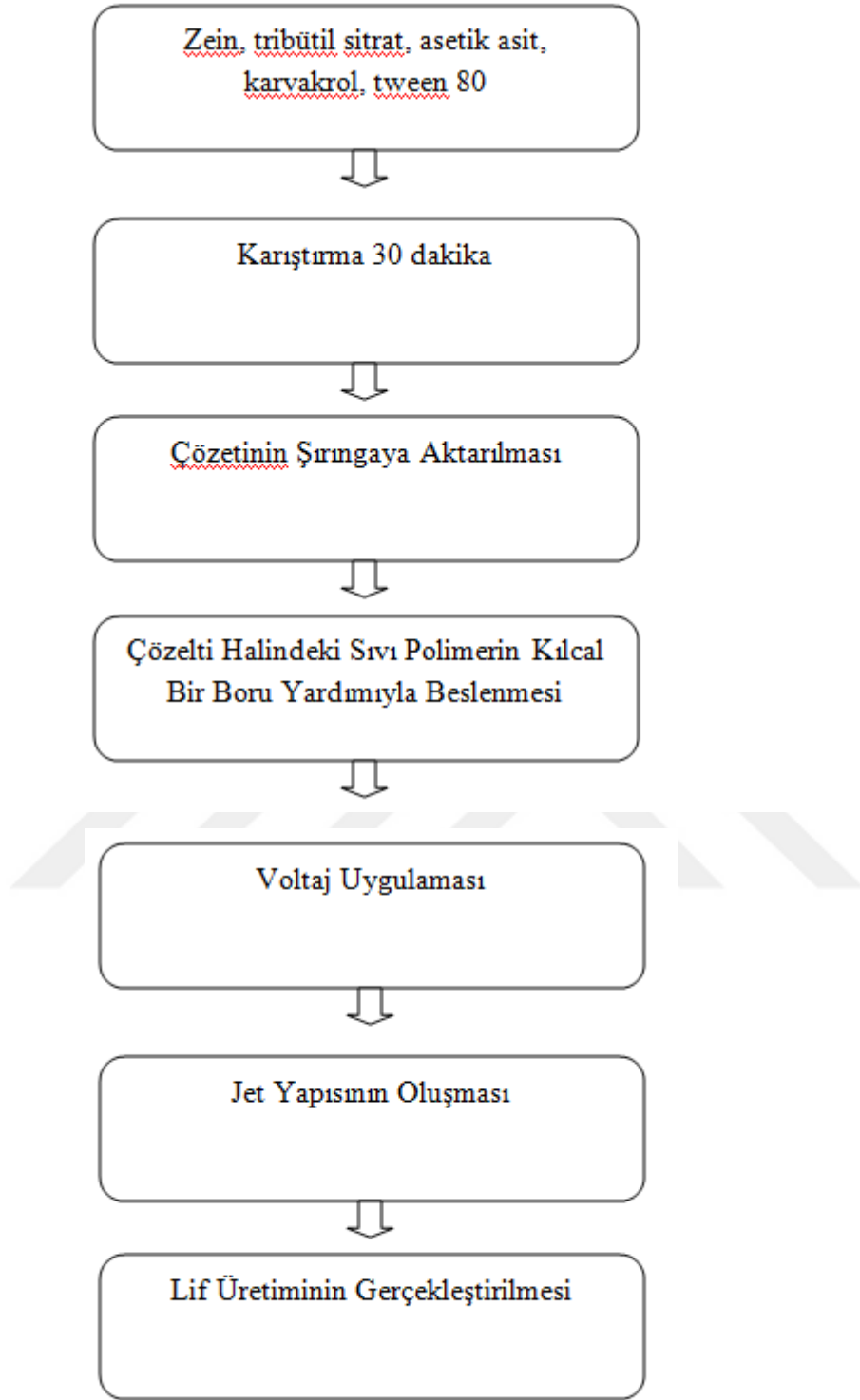
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Nanolif yapılarını üretmek için zein (Sigma, Z3625, 1 kg), karvakrol (Sigma, 282197, 10g), Tween 80 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) ve Tribütül sitrat (Sigma, 27497, 100 ml) kullanılmıştır. Çözücü olarak kullanılan glasiyal asetik asit Carlo Erba (Rodano, Italy) firmasından satın alınmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin için *E. coli* (ATCC 25922) ve *S. aureus* (ATCC 25923) mikroorganizmaları Microbiologics (St. Cloud, MN, USA) firmasından, Mueller-Hinton Agar (B263) ve Triptik Soy Broth (B040) ise Biomark Lab (India)'tan temin edilmiştir.

3.2. ELEKTRO EĞİRME YÖNTEMİ İÇİN ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

Çözücü olarak glasiyal asetik asit kullanılmıştır. Zein nanoliflerinin üretimi için, % 31.7-36.8 (a/h) (Çizelge 3.1) konsantrasyon aralığında zein çözeltileri 10 mL asetik asit içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan zein çözeltilerine %0-8.2 (a/a) oranında karvakrol ilave edilerek oluşan çözelti oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda 30 dakika daha karıştırılma işlemine tabi tutulmuştur. Bunun dışında çözeltiliye 0.65 g tribütül sitrat ve 200 µL Tween 80 eklenmiştir. Yapılan tez çalışması kapsamında merkez konsantrasyon olan %34 (a/h) zein konsantrasyonunda 10 mL asetik asit içerisinde saf zein çözeltisi elektro eğirme prosesi için hazırlanmıştır. Şekil 3.1'de zein karvakrol karışımı polimer çözeltisinin hazırlanışı ve elektro eğirme akış prosesi verilmiştir.



Şekil 3.1 Elektro eğirme işlemi akış şeması

Çizelge 3.1. Elektro eğirme deneyleri için yapılan deney tasarımı

| Deney | Kod değerleri | | Gerçek değerler | |
|-------|----------------|----------------|-----------------------|-------------------------|
| | X ₁ | X ₂ | Karvakrol miktarı (%) | Zein konsantrasyonu (%) |
| 1 | 0 | -1.414 | 4 | 31.2 |
| 2 | 0 | 1 | 4 | 32 |
| 3 | 0 | 1.414 | 4 | 36.8 |
| 4 | 0 | 0 | 4 | 34 |
| 5 | 0 | 0 | 4 | 34 |
| 6 | -1 | -1 | 1 | 32 |
| 7 | -1 | 1 | 1 | 36 |
| 8 | 1.414 | 0 | 8.2 | 34 |
| 9 | 1 | 1 | 7 | 36 |
| 10 | 1 | -1 | 7 | 32 |
| 11 | -1.414 | 0 | 0 | 34 |
| 12 | 0 | 0 | 4 | 34 |
| 13 | 0 | 0 | 4 | 34 |

3.3. ÇÖZELTİ ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Deney tasarımına (Çizelge 3.1) göre hazırlanan polimer çözeltilerinin reolojik davranışlarının ölçülmesi için Haake marka reometre cihazı (Thermoscientific Mars II, Karlsruhe, Germany) ve koaksiyel silindir prob (DIN 53018, R_i=20.71mm, R_o=21.7 mm) kullanılmıştır. Ölçümler 25°C'de yapılmış ve ölçümler sırasında kullanılacak numune miktarı 10 mL olacak şekilde sabit kalması sağlanmıştır. Hazırlanan polimer çözeltilerinin viskozite ve kayma gerilimi değişimleri 0-1000 s⁻¹ aralığındaki kayma hızlarında belirlenmiştir. Kayma hızına karşı elde edilen kayma gerilimi verileri üs yasası (power law) (Eşitlik 3.1) modeli kullanılarak belirlenmiştir.

$$\sigma = K(\dot{\gamma})^n \quad (3.1)$$

Burada n : akış davranış indeksi, K : kıvam katsayısı (Pa s^n), $\dot{\gamma}$: kayma hızı (s^{-1}), σ : kayma gerilimi (Pa) olarak simgelenmektedir. Burada eğer akış davranış indeksi 1'e eşit ise çözeltinin Newtonyen, 1'e eşit değil ise Newtonyen olmayan akış özelliği gösterdiği bilinmektedir. İğnedeki çözelti akışı için maksimum kayma hızı (Eşitlik 3.2) tespit edilerek lif oluşumu sırasındaki görünür viskozite değeri belirlenmiştir [Okutan vd., 2014].

$$\dot{\gamma}_{\max} = \left(\frac{3n+1}{4n} \right) \frac{4Q}{\pi R^3} \quad (3.2)$$

Burada Q : çözeltinin hacimsel akış hızı (m^3/s), R : iğnenin yarıçapıdır (m). Yapılan tez çalışması kapsamında çözeltinin hacimsel akış hızı 1mL/saat ($2.78 \times 10^{-10} \text{m}^3/\text{s}$) ve iğnenin yarıçapı ise $0.4 \times 10^{-3} \text{m}$ olarak bulunmuştur. Bu koşullarda çözeltinin tek iğnedeki kayma hızı 5.6s^{-1} olarak saptanmıştır. Çözeltilerin görünür viskoziteleri η (Pa s) Eşitlik 3.3 kullanılarak tespit edilmiştir.

$$\eta = K\dot{\gamma}^{n-1} \quad (3.3)$$

İletkenlik ölçüm cihazı (Orion 5 Star, Thermo Scientific, UK) kullanılarak çözeltilerin elektrik iletkenliği bulunmuştur. Analiz 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.4. YÖNTEM

3.4.1. Elektro Eğirme Yöntemi

Karvakrol yüklü nanolif malzemeleri NE 100 model elektro eğirme cihazı (Inovenso, Türkiye) ile üretilmiştir. Elektro eğirme cihazının tek iğneli başlığı ile karışım çözeltileri proses edilmiştir (Şekil 3.2). Polimer çözeltisinin debisi bir şırınga pompasıyla (NE-300, New Era Pump Systems Inc., USA) ayarlanabilmektedir. Eğirme işlemine tabi tutulacak olan zein/karvakrol karışımı polimer çözeltisi 10 mL'lik bir şırınga içerisine çekilerek elektro eğirme düzeneğine yerleştirilmiştir.. Besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe 13.5 cm, voltaj 18 kV ve akış hızı 1 mL/saat olarak sabit tutulmuştur. Toplayıcı üzerine sarılan alüminyum tabaka üzerinde nanolif oluşumu meydana gelmiştir. Deney sıcaklığının $21.9 \pm 2.5^\circ\text{C}$ olduğu bir laboratuvar ortamında yapılmıştır.



Şekil 3.2 Elektro eğirme cihazı

Deney cihazı başlıca üç bölümden oluşmaktadır. Bunlar; polimer solüsyonu besleme sistemi, yüksek voltaj güç kaynağı ve silindirik toplayıcıdır. Polimer besleme ünitesi, polimer çözeltisini ayarlanan debide başlığa göndermek; yüksek voltaj kaynağı, başlık ile toplayıcıya yüksek gerilim uygulayarak polimer çözeltisinin

eğrilmesini sağlamak; metal toplayıcı ise üzerine sarılan altlığın yüzeyinde homojen yapıda nanofiber tabakası kaplamak amacıyla kullanılmıştır.

3.4.2. Deney Tasarımı

Tek iğneli elektro eğirme yöntemi için deneme deseni, merkezi karma tasarımı ile iki değişken ve beş düzeyde yapıldı (Çizelge 3.1). Kullanılacak bağımsız değişkenler, çözelti konsantrasyonu (X_1) (zein:% 32-36 a/h) ve karvakrol miktarı (X_2) (%1-7a/a) olarak belirlenmiştir. Deney tasarımında zein konsantrasyonu ve karvakrolün lif özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Besleme hızı, besleme unitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe ve voltaj sabit tutulmuştur. Deneyler Design Expert (versiyon 9.0, Statease Inc., Minneapolis, MN, USA) paket programı ile oluşturulan deney planına göre yapılmıştır. Yanıt yüzey yöntemi (Response Surface Methodology, RSM) kullanılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Her bir bağımlı değişken için çoklu regrasyon analiz metodu ile bir matematiksel model oluşturularak modeldeki önemli terimler varyans analizi (ANOVA) ile tespit edilmiştir.

3.5. NANOLIFLİ YÜZEYLERİN KARAKTERİZASYONU

3.5.1 Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskop (FE-SEM) Analizi

Elektro eğirme tekniği ile üretilmiş nanolifli yüzeylerin incelenmesi, nanolif çaplarının tespit edilmesi ve bağımsız değişkenlerin nanolif yapılarına etkisinin görüntülenebilmesi için Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji ve Araştırma Merkezinde bulunan alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (Supra 55, Zeis marka, Germany) kullanılmıştır. Zein lif örneklerinin elektrik iletkenliğini sağlayabilmek için örnekler platin ile kaplanmıştır ve FE-SEM görüntüleri elde edilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu, görüntü oluşumu elde etmek için 5 kV'da çalıştırılmıştır. Image J (Image J, NIMH, Maryland, USA) görüntü analiz programı kullanılarak nanoliflerin çapları ölçülmüştür. Alınan her bir görüntüde 100 farklı ölçüm yapılarak

ortalama çap bulunmuştur. Bununla beraber nanoliflerin çap dağılım histogram grafikleri çizilmiştir.

3.5.2. FTIR (Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre) Analizi

Saf zein ve karvakrolün biyopolimerin dahil edilmesiyle oluşturulan malzemelerde biyopolimer-karvakrol arasında meydana gelen etkileşimlerinin tespiti için Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji ve Araştırma Laboratuvar'ında bulunan FTIR spektrofotometresi (FT-IR/FIR/NIR Spectrometer Frontier, ATR, Perkin Elmer, UK) kullanılmıştır. Farklı bileşen ve konsantrasyonlarda üretilen zein liflerinin FTIR spektrumları $4000-400\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında 10 cm^{-1} spektral çözünürlüğü ile elde edilmiştir.

3.5.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) İle Zein liflerinin Analizi

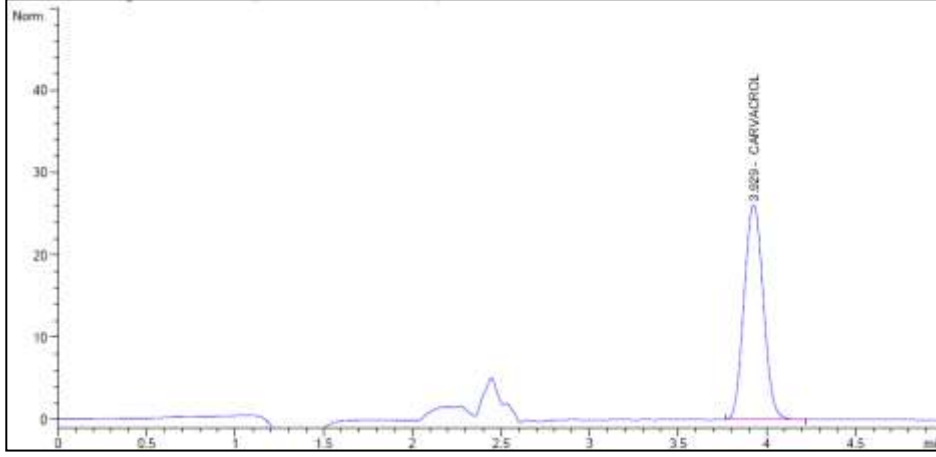
Üretilen malzemelerin camsı geçiş ve bozunma sıcaklıklarının ölçülmesi işlemi Perkin Elmer-Intracooler soğutma sistemine sahip diferansiyel taramalı kalorimetre (DTK) (PYRIS 6 DSC, Perkin Elmer, USA) cihazı ile yapılmıştır. Örnekler 2 mg olacak şekilde $50\text{ }\mu\text{L}$ 'lik numune kabına tartılmış ve numune kabı hava almayacak şekilde kapatılmıştır. Lif örneklerinin olduğu DTK numune kapları saf azot ortamında $10^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$ ısıtma hızıyla -25°C 'den 300°C 'ye ısıtılmıştır. 1 dakika bu sıcaklıkta tutulduktan sonra -25°C 'ye kadar $10^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$ hızla soğutulma işlemi yapılmıştır. Daha sonra örnekler $10^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$ ısıtma hızıyla 300°C 'ye kadar ısıtma işlemine tabi tutulmuştur. Azot gazının akış hızı ise $20\text{ cm}^3/\text{dk}$ 'dir. Zein lif örneklerinin bu analiz sonucunda camsı geçiş, erime ve bozunma sıcaklıkları belirlenmeye çalışılmıştır. Üretilen malzemelerde kristalizasyon ve erime piki belirlenmemiştir [Mori vd., 2014; Neo vd., 2013]. Karvakrol için $10^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$ ısıtma hızıyla 30°C 'den 300°C 'ye kadar ısıtma işlemi gerçekleştirilmiştir. Tribütil sitrat ise $10^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$ ısıtma hızıyla -25°C 'den 300°C 'ye kadar ısıtılmıştır. Analizler her bir numune için üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

3.5.4. Enkapsülasyon Veriminin Belirlenmesi

Liflere yüklenen karvakrol miktarının bulunması için 1 mg lif numunesi 3 mL %80'lik metanol ve 1 mL %1'lik asetik asit çözeltisi içerisinde manyetik karıştırıcıda 24 saat boyunca karıştırılmıştır. Liflerin tamamı çözündürülmüştür. Proteinin çöktürülmesi için 6 mL su eklenmiş ve 4°C'de soğutmalı santrifüjde (3-30K, Sigma Centrifuges, Germany) 13393xg 'de 45 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj tüpündeki berrak kısım 0.45 µm'lik filtreden geçirilerek karvakrol içeriğinin saptanması için yüksek performanslı sıvı kromatografisinde (HPLC) analiz edilmiştir. HPLC (1200 series, Agilent Technology, USA) sistemi; ACE C18 kolonu (250 mm x 4.6 mm i.d., 5µm), dedektör ünitesi (1200 Diode Array Dedector) ve otoenjeksiyon sisteminden (G1329A type, 1100/1200 Themostatted Autosampler) meydana gelmektedir. Hareketli faz tipi izokratik elüsyondur. Hareketli faz için metanol:su:asetik asit (80:20:1) karışımı kullanılmıştır. Akış hızı 1.2 mL/dakika, enjeksiyon hacmi ise 15 µL olarak belirlenmiş olup karvakrolün alıkonma zamanı ~4 dakika olmaktadır (Şekil 3.3). Numunelerin analiz işlemi 30°C kolon sıcaklığında ve 274 nm dalga boyunda yapılmıştır. Kalibrasyon eğrisi için karvakrol 1-100 ppm konsantrasyon aralığında metanol içinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisinin eşitliği $y=9.28x+2.86$, belirlilik katsayısı ise $R^2=0.99927$ olarak hesaplanmıştır.

Nanoliflerin enkapsülasyon verimi (EV) Eşitlik 3.4 kullanılarak belirlenmiştir. Analizler 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

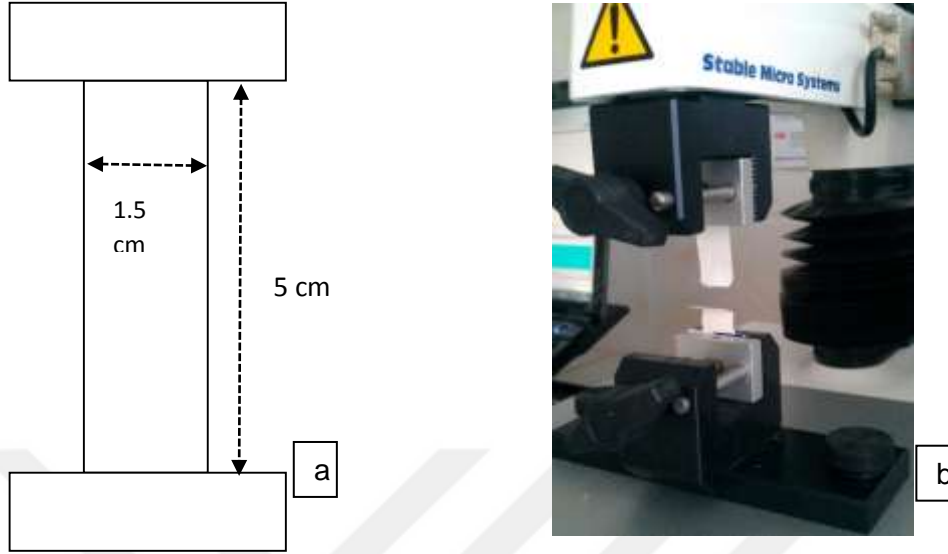
$$EV = \frac{\text{Lifteki karvakrol miktarı (mg)}}{\text{teorik olarak eklenen karvakrol miktarı (mg)}} \times 100 \quad (3.4)$$



Şekil 3.3. Karvakrolün HPLC kromatogramı

3.5.5. Mekanik Özellik Ölçümü

Üretilen nanolif malzemelerinden Şekil 3.4a’da verilen kalıp kullanılarak uzunluğu 5 cm genişlikleri ise 1.5 cm olacak şekilde kesilmiştir. Örneklerin gerilim direnci ve uzamaları TA-XT2i Tekstür Analiz cihazı (Stable Micro Systems, Surrey, England) kullanılarak belirlenmiştir. Cihazın iki çenesi arasına yerleştirilen örnekler 0.5 mm/s çekme hızı ile test edilmiştir. Kopma anında örneğe uygulanan maksimum kuvvet ve kopma anındaki uzama miktarı mekanik test cihazına bağlı bilgisayar programı (Texture Expert Exceed 2.3, Stable Micro System, Surrey, England) yardımıyla hesaplanmıştır. Gerilim direnci MPa cinsinden ifade edilmiş olmakla birlikte kopma anında örneğe uygulanan kuvvetin örneğin başlangıçtaki kesit alanına bölünmesiyle bulunmuştur. Kopma anındaki uzamanın ilk uzunluğa bölünüp 100 ile çarpılması ile uzama yüzdesi hesaplanmıştır [Zivanovic vd., 2007]. Analiz 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.



Şekil 3.4 Mekanik özelliklerin belirlenmesinde kullanılan kalıp (a) ve tekstür analiz probu (b)

3.5.6. Su Buharı Geçirgenliği

Liflerin su buharı geçirme hızlarının belirlenmesi için su buharı geçirgenliği (SBG) ASTM E96-95 (2005) yöntemi kullanılarak 25°C 'de gravimetrik olarak tespit edilmiştir. Kaplar (çap: 3cm, uzunluk: 3 cm) %0 bağıl nemi sağlamak için örnek kapları silika jel ile doldurulmuştur. Hazırlanan kapların ağzı üretilen malzeme ile kapatılmış ve ilk ağırlıkları ölçüldükten sonra doygun magnezyum nitrat çözeltisi (25°C , % 53 ± 2 bağıl nem, BN) içeren desikatöre yerleştirilmiştir. Desikatör 25°C 'ye ayarlanmış inkübatöre yerleştirilmiş ve deney kaplarının ağırlığındaki değişim sabit değere gelene kadar zamana karşı ölçülmüştür. Tartımlar ± 0.0001 g duyarlılığa sahip terazi (Mettler Toledo, Germany) kullanılarak yapılmıştır. Sistemdeki net ağırlık artışı grafiğinin doğrusal olan kesiminin eğimi baz alınarak bu eğimin (g/sa) kabın alanına (m^2) bölünmesi ile liflerin su buharı iletme (SBI) hızları hesaplanmıştır. Daha sonra Eşitlik 3.5 kullanılarak su buharı geçirgenliği ($\text{gmm}/\text{m}^2\text{sakPa}$) hesaplanmıştır. Analizler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Elektro eğirme işleminde elde edilen malzemelerin kalınlığı 0,058-0.147 mm arasında değişmiştir.

Ağırlık-zaman doğrularının eğimleri bulunup Lifler için SBG hesaplanmıştır.

$$SBG = \frac{SB \times d}{\Delta P} \quad (3.5)$$

Burada, Δp : iki taraf arasındaki kısmi basıncını (kPa); d : yüzeyin kalınlığını (mm) simgelemektedir.

3.5.7. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Üretilen malzemelerden düzgün lif yapısındaki %36 zein konsantrasyonu ve %7 karvakrol içeren (deney 9, Çizelge 3.1) nanolifli yüzey ve karvakrol içermeyen %34 zein konsantrasyonundaki (deney 11, Çizelge 3.1) nanolif örnekleri kullanılmıştır. Zein liflerinin antimikrobiyal aktivitesi, NCCLS M2-A8 [63] Agar Disk Difüzyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için test mikroorganizması olarak *E. coli* (ATCC 25922) ve *S. aureus* (ATCC 25923) kullanılmıştır. Stok kültürden öze ile alınan koloniler triptik soy broth besiyerine aşılansmış ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kültür yoğunluğunun McFarland 0.5 standart değerine ulaşması için steril triptik soy broth besiyeri ile kültür absorbansı spektrofotometrede ayarlanmıştır. Yoğunluğu ayarlanmış kültürden 0.1 mL Mueller-Hinton Agar besiyerine ekim yapılmıştır. Antimikrobiyal etkinlik testi için hazırlanmış liflerden 15 mm çaplı kesilen disk şeklindeki lif yapıları, yüzey ekimi yapılmış agar plağı üzerine yerleştirilmiştir. Petriyer sıcaklığı 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda film disklerin etrafında oluşan berrak zon, inhibisyonu göstermektedir. Zon çapı, tam inhibisyonun gözlemlendiği alanın çapı cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Her bir örnek için 3 paralel ölçüm yapılmıştır.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Elde edilen verilere varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve ilgili analizler için SPSS istatistik programı (IBM SPSS Statistics 22.0.0 trial version; IBM, Chicago, USA) kullanılmıştır. Grafikler için Sigma Plot 10 (SigmaPlot for Windows version 10.0, Systat software) paket program kullanılmıştır. Bütün istatistiksel testlerde, anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ baz alınmıştır. İstatistiksel analiz için kullanılan tüm bağımsız değişkenler nümerik faktör olarak tanımlanmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılık Duncan çoklu sıralama testi ile belirlenmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. POLİMER ÇÖZELTİLERİNİN ÖZELLİKLERİ

Karvakrol içeriğindeki zein çözeltilerinin akış eğrileri oluşturularak kayma hızına karşı elde edilen kayma gerilimini tespit etmek için iki parametrelili üslü model (power law) (Eşitlik 3.1) kullanılmıştır. Doğrusal olmayan regrasyon analizi yapılarak kıvamlılık katsayısı K (Pa s^n) ve akış davranış indeksi n değerleri belirlenmiştir. Maksimum kayma hızı hesaplanarak çözeltilerin görünür viskozite değerleri bulunmuştur. Çözeltilerin kıvamlılık katsayısı $0.243-1.22 \text{ Pa s}^n$ arasında değişim gösterirken, akış davranış indeksi ise $0.88-1.00$ arasında değişmektedir (Çizelge 4.1). Saf zeinden (%34) hazırlanan çözeltinin akış davranış indeksi 0.88 olarak Newtonyen olmayan akış özelliği göstermiştir. Zein çözeltisine (%34) tribütil sitratın eklenmesi akış davranış indeksini artırmış, kıvamlılık katsayısını ve görünür viskoziteyi düşürmüştür. Tribütil sitrat sertliği düşürerek polimerin camsı geçiş sıcaklığını düşürmektedir. Tribütil sitrat polimer içinde çözünerek zincirleri birbirinden ayırır ve zincir hareketini kolaylaştırır. Bundan ötürü esnekliği artırır [Santosa ve Padua, 1999]. Çözeltide tribütil sitrat olduğu esnada elastisite modülü viskoz modülüne göre daha fazla etkilenir ve zein çözeltisi viskoelastik olma eğilimindedir [Ghanbarzadeh, 2006].

Zein çözeltilerinde kayma ile incelen (shear thinning) bir davranış görülmüştür. Yapılan tez çalışmasında ortaya çıkan sonuçlar ile uyumlu olan çalışmada asetik asit ile hazırlanan %15'in (a/h) üzerindeki konsantrasyon zein çözeltileri için kayma ile incelen davranış belirlenmiştir [Li vd., 2011]. Araştırmacılar dispers fazdaki α -zein agregatlarının oranının yüksek olmasından dolayı bu kayma ile incelen davranışın görülebileceğini belirtmiştir. Düşük zein konsantrasyonlarında (31.2 zein, %4 karvakrol (deney1) ve %32 zein, %7 karvakrol (deney 10)) karvakrol miktarının artırılması akış davranış indeksini 1 'e yaklaştırmış ve Newtonyen olmayan akış Newtonyen akışa dönüşmüştür. En düşük görünür viskozite ve kıvamlılık katsayısı bu koşullarda belirlenmiştir. Zein helikal yapılarındaki azalışla birlikte zeinin viskoelastik ikincil yapıları değişime uğramaktadır [Zhang vd., 2011]. Bu durumun tersine buğday glutenine karvakrol eklendiğinde Newtonyen olan

reolojik özelliği kayma ile incelen bir davranış göstermeye başlamıştır [Mascheroni vd., 2010]. Düşük zein konsantrasyonlarda eklenen karvakrol zeinin yükünü, agregasyonunu ya da proteinin sarmal kısmındaki açılmayı etkilemiş olabilir. Proteinlerin akış özelliklerinin moleküler şekli, büyüklüğü ve yük dağılımı ve diğer bileşenlerden etkilendiği sonucu ortaya çıkmıştır [Lizarraga vd., 2006]. Sabit karvakrol miktarında (%4) zein konsantrasyonunun %31.2'den %36.8'e artması kıvamlılık katsayısının ve görünür viskozitenin artmasına sebep olmuştur. Zein konsantrasyonlarının % 1-35 (a/a) arasında olduğu araştırmada zein konsantrasyonundaki artış çözelti viskozite değerlerini de artırmaktadır. Çözeltilerin viskoziteleri 2.9-358.1 mPa olarak ifade edilmiştir [Neo vd., 2012]. Yapılan başka bir çalışmada zein konsantrasyonlarındaki azalmayla viskozitede azalma gözlenmiştir [Perez masia vd., 2013].

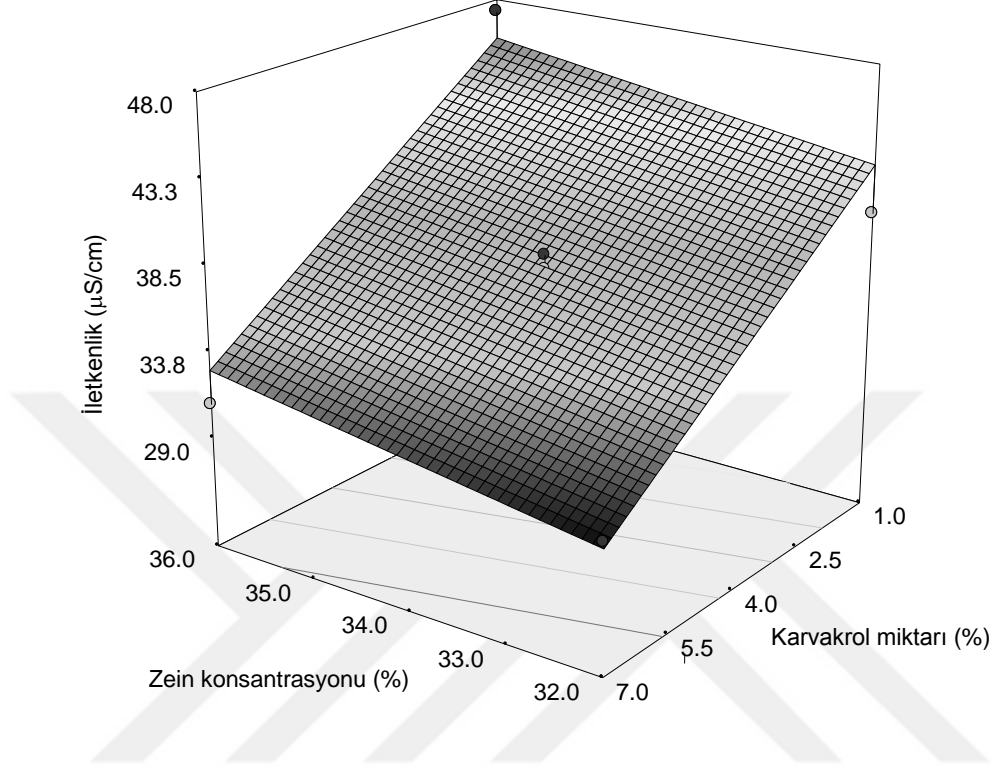
Çizelge 4.1. Polimer çözeltilerinin özellikleri

| Deney | Zein Kons.(%) | Karvakrol miktarı (%) | İletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$) | K (Pa s^n) | n | η (Pa s) |
|----------|---------------|-----------------------|--|-----------------------|------|--------------------------|
| 1 | 31.2 | 4 | 38.6 \pm 0.28 | 0.23 | 1.00 | 0.23 |
| 2* | 34 | 4 | 37.0 \pm 1.88 | 0.28 | 0.95 | 0.26 |
| 3 | 36.8 | 4 | 41.8 \pm 0.42 | 0.50 | 0.92 | 0.44 |
| 6 | 32 | 1 | 39.7 \pm 1.06 | 0.23 | 0.96 | 0.21 |
| 7 | 36 | 1 | 47.3 \pm 1.84 | 0.38 | 0.93 | 0.34 |
| 8 | 34 | 8.2 | 30.3 \pm 0.42 | 0.29 | 0.94 | 0.26 |
| 9 | 36 | 7 | 30.9 \pm 1.13 | 0.43 | 0.95 | 0.39 |
| 10 | 32 | 7 | 29.9 \pm 0.28 | 0.25 | 0.98 | 0.24 |
| 11 | 34 | 0 | 47.8 \pm 0.57 | 0.38 | 0.96 | 0.35 |
| Saf zein | 34 | 0 | 48.7 \pm 0.07 | 1.22 | 0.88 | 0.99 |

*Deney 2, deney tasarımındaki merkez noktalarının ortalamasıdır.

Çizelge 4.1'de zein-karvakrol çözeltilerinin elektrik iletkenlik değerleri belirtilmiş olup çözelti iletkenlik değerleri 29.9 ile 47.8 $\mu\text{S}/\text{cm}$ arasında değişmektedir. Saf zeinden hazırlanan çözeltinin iletkenlik değeri 48.7 $\mu\text{S}/\text{cm}$

şeklinde belirlenmiştir. Çözeltilerde zein konsantrasyonunun ve karvakrol miktarındaki değişimin iletkenlik üzerine etkisi Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Elektro eğirme yöntemi için zein konsantrasyonu ve karvakrol miktarının iletkenlik üzerine etkisinin tepki yüzey grafiği

Çizelge 4.2. Elektrik iletkenliği (Eİ) için elde edilen modelin ANOVA sonucu

| Model Terimi | Elektrik iletkenliği (µS/cm) | |
|--|------------------------------|----------|
| | F-değeri | p-değeri |
| | 32.59 | 0.0001* |
| A | 4.07 | 0.0712 |
| B | 61.11 | 0.0001* |
| Belirleyicilik katsayısı (R^2): | 0.8670 | |
| Düzeltilmiş belirleyicilik katsayısı | 0.8404 | |
| Tahmin edilen belirleyicilik katsayısı | 0.7559 | |
| Uyumluluk düzeyi | 16.032** | |
| Eİ=18.34-2.15B | | |

A, Zein konsantrasyonu (%); B, karvakrol miktarı (%)

*p<0.05’ de önemli, *** Uyumluluk düzeyi 4’den büyük olmalı

Bununla birlikte karvakrol miktarı artışı iletkenliği önemli düzeyde ($p<0.05$) düşürmüştür. Bu durumun tersi olarak zein konsantrasyonu arttığında elektrik iletkenliği artmıştır. Fakat bu artış istatistiksel olarak önemli bir artış değildir ($p>0.05$) (Çizelge 4.2)

4.2. NANOLİF ESASLI YÜZEYLERİN KARAKTERİZASYONU

4.2.1. Morfolojik Analiz

Elektro eğirme yöntemiyle elde edilen liflerin morfolojisi FE-SEM ile incelenmiştir. Deney tasarımında belirlenen zein konsantrasyonu ve karvakrol miktarının liflerin yapısı ve dağılımı üzerine etkisi belirlenmiştir. Elektro eğirme ile üretilen liflerin ortalama çapı 103 ± 35 ile 217 ± 47 nm aralığında değişmiştir. Zein çözeltisinin konsantrasyonu ile karvakrol miktarındaki değişimin ortalama lif çapını önemli derecede ($p<0.05$) etkilediği görülmüştür. ANOVA sonucuna göre ortalama lif çapı için ikinci dereceden model önemli olmuştur (Çizelge 4.3). Ortalama lif çapının zein çözeltisinin konsantrasyonu ve karvakrol miktarı ile değişimi Şekil 4.2’de verilmiştir. Artan zein çözeltisi konsantrasyonu ile ortalama lif çapında artış ortaya çıkmıştır. Lif çapındaki artış, artan polimer konsantrasyonu ile viskozitenin artmasına neden olmaktadır. Bu artış jetin aldığı yolun kısalması ve çözeltinin az gerilmesi sonucundan ortaya çıkmaktadır [Neo vd., 2012].

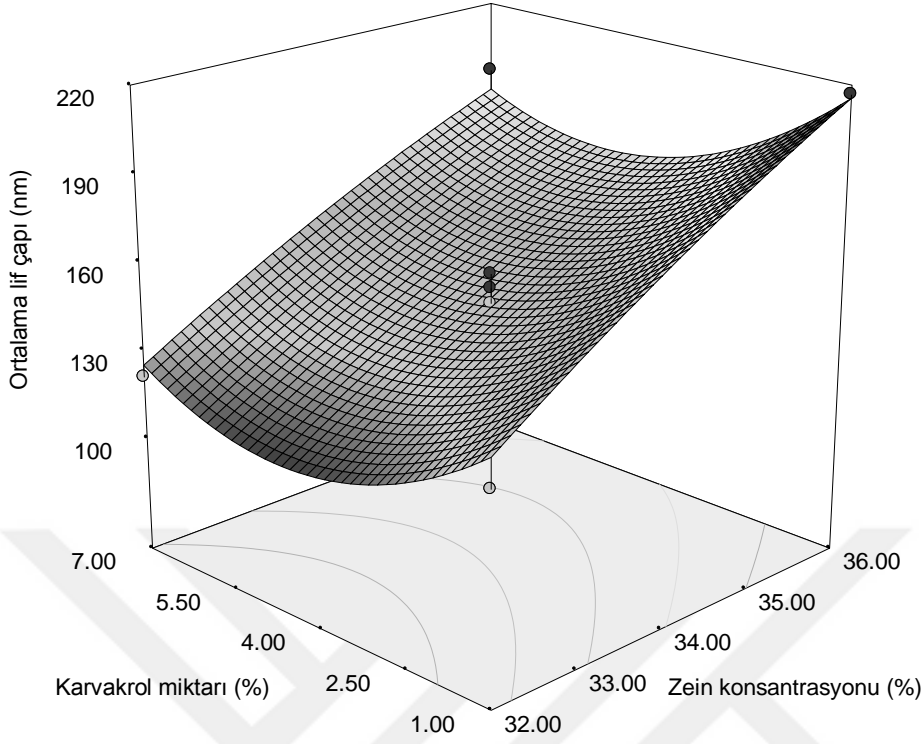
Çizelge 4.3. Ortalama lif çapı (LÇ) için elde edilen modelin ANOVA sonucu

| Model Terimi | Ortalama lif çapı (nm) | |
|--|------------------------|-----------------|
| | <i>F-değeri</i> | <i>p-değeri</i> |
| | 40.07 | 0.0001* |
| A | 139.28 | 0.0001* |
| B | 12.65 | 0.0093* |
| B ² | 46.84 | 0.0002* |
| <i>Belirleyicilik katsayısı (R²):</i> | 0.9662 | |
| <i>Düzeltilmiş belirleyicilik katsayısı</i> | 0.9421 | |
| <i>Tahmin edilen belirleyicilik katsayısı</i> | 0.8117 | |
| <i>Uyumluluk düzeyi</i> | 21.853** | |
| <hr/> | | |
| LÇ=-1473.2+79.4A-6.5B+2.5B ² | | |

A, Zein konsantrasyonu (%); B, karvakrol miktarı (%)

* $p<0.05$ ’ de önemli, *** Uyumluluk düzeyi 4’den büyük olmalı

Yapılan çalışmada FE-SEM görüntüleri incelendiğinde sabit karvakrol miktarında (4%) zein çözeltisinin konsantrasyonun % 31.2'den %36.8'e artması ile lif çapının arttığı ve liflerin daha düzgün bir dağılım gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 4.3). Düşük zein konsantrasyonunda (%31.2) liflerin çapları azalmış boncuklu yapı oluşmuştur. Düşük konsantrasyonda makromoleküller arasındaki dolaşıklığının az olmasının lif çekilebilirliğini olumsuz yönde etkilediği düşünülmekte ve böylece boncuk oluşumuna sebep olduğu bilinmektedir. Eğer konsantrasyon çok düşük olursa, elektro eğirme sırasında nanoliflerde boncuksu yapılar oluştuğu ifade edilmektedir [Gopal vd., 2007; Ding vd., 2002]. Zein konsantrasyonunun %34'e çıkarılmasıyla boncuklu yapı azalmış ve %36.8'de ise boncuklu yapı görülmemiştir. Nanoliflerin morfolojik yapısında konsantrasyon artışıyla birlikte boncuk yapıları tamamen kaybolmuştur (Şekil 4.3c). Boncuk yapılarının kaybolmasında artan konsantrasyonun etkisi görülmektedir. Zein konsantrasyonun artmasıyla artan viskozite lif yapısını iyileştirmektedir. Konsantrasyonun artması ile makromoleküller arasındaki dolaşıklık artmış böylelikle iğne ucunda oluşan çözelti akışının devamlılığı sağlanmıştır. Bu sayede lif çekimi kolaylaşmıştır [Ramakrishna ve ark., 2005]. Daha yüksek konsantrasyonlar kullanıldığında, yüklenmiş jet damlacıklara ayrılmadığı için damlacık yapıları oluşmaz. Bu etkiye neden olarak artan zincir karmaşası ve artmış viskoelastik kuvvet gösterilir. Düşük konsantrasyonlarda, jet oluşumunda rol oynayan viskoelastik kuvvet daha yüksek Kolomb kuvvetlerine karşı gelecek kadar büyük olmadığından, yüklenmiş jet yapısı daha küçük jet yapıları oluşturmaktadır. Bu daha küçük jet yapıları yüzey gerilmesi nedeniyle yuvarlanarak damlacıkları oluşturur [Jahangiri, 2013].

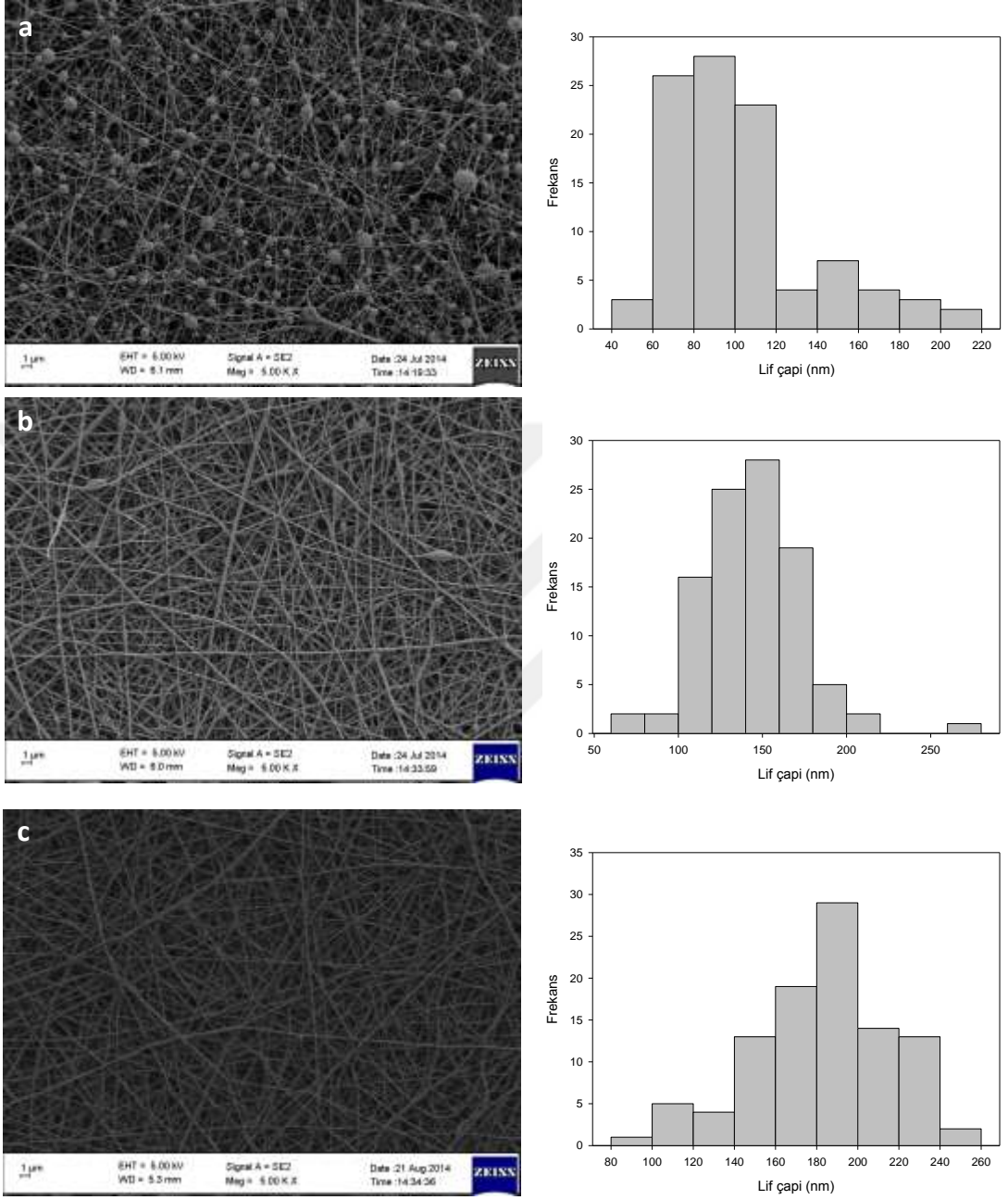


Şekil 4.2. Elektro eğirme ile karvakrol miktarı ve zein konsantrasyonunun ortalama lif çapına etkisinin tepki yüzey grafiği

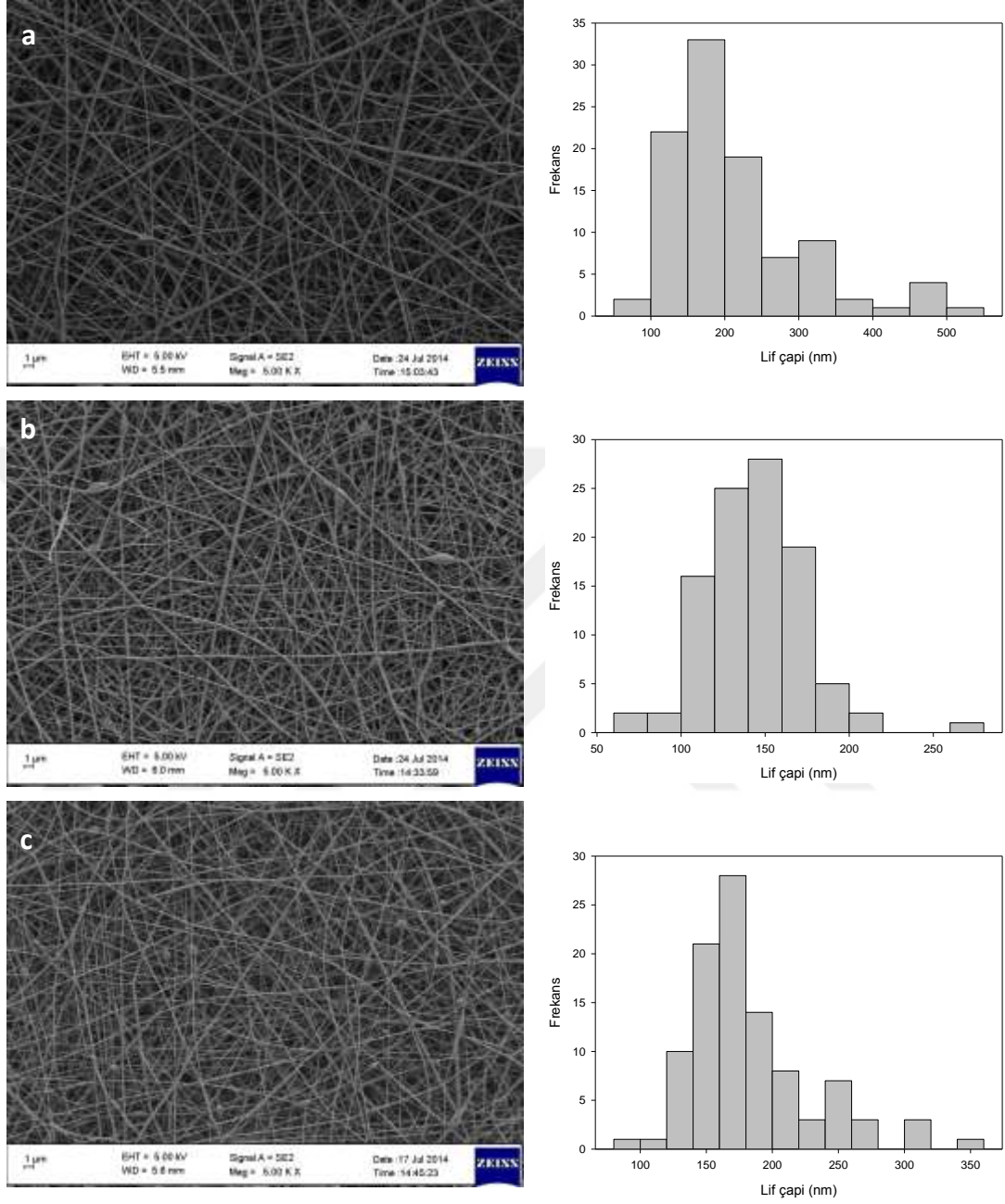
İğne ucundaki görünür viskozite değeri %31.2 zein çözeltisi için 0.23 Pa s, %36.8 için 0.44 Pa s olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Düşük viskozitede daha az zincir dolanması ve yüzey geriliminin baskın olması liflerde boncuklu yapının oluşmasını sağlamıştır. Viskozitedeki artışla daha fazla zincir dolaşıklığı ortaya çıkmış ve bu da sürekli bir jet oluşumu meydana getirmiştir [Üstündağ ve Karaca, 2009]. Yüksek zein konsantrasyonunda liflerin homojen dağıldığı ortaya çıkmakta ve silindirik bir morfolojiye sahip olduğu görülmektedir. Karvakrol miktarı artışıyla lif çapında azalma olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 4.2). Sabit zein konsantrasyonunda (%34) ve farklı karvakrol içeriklerinde elde edilen malzemelerin FE-SEM görüntüsü ve lif çaplarının dağılımı Şekil 4.4'te görülmektedir. Karvakrol artışıyla çözeltideki boncuklu yapı artmaktadır. Karvakrol çözeltinin iletkenliğine ve viskozitesine etki etmektedir. Boncuklu yapı artışı bu durumla ifade edilebilir. Çözeltideki elektrik iletkenliğinin artması jetin daha fazla yüklenerek jetin

daha fazla gerilmesine neden olmaktadır. Bu durum sonunda boncuksuz ince liflerin oluştuğu görülmüştür. Karvakrol miktarının artması çözelti iletkenliği ve viskozitede düşüğe sebep olmuştur. (Tablo 4.1, Şekil 4.1). Zein konsantrasyonu %32’de sabit tutularak karvakrol miktarının %1’den %7’ye arttırılması boncuk sayısının artışına sebep olmuştur (Şekil 4.5). Artan karvakrol miktarında zein konsantrasyonunun %36’ya çıkarılması lif yapısının boncuklu yapıdan düzgün dağılımlı lif yapısını oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5). Artan karvakrol miktarının zein çözeltisinin viskozitesini düşürdüğü sonucu çıkarılabilir. Liflerin toplayıcıya ulaştığında kısmen ıslak olmaları, düzensiz besleme oranı ve aşırı akışkan çözelti boncuklaşmaya neden olarak görülebilir [Kepekçi, 2011].

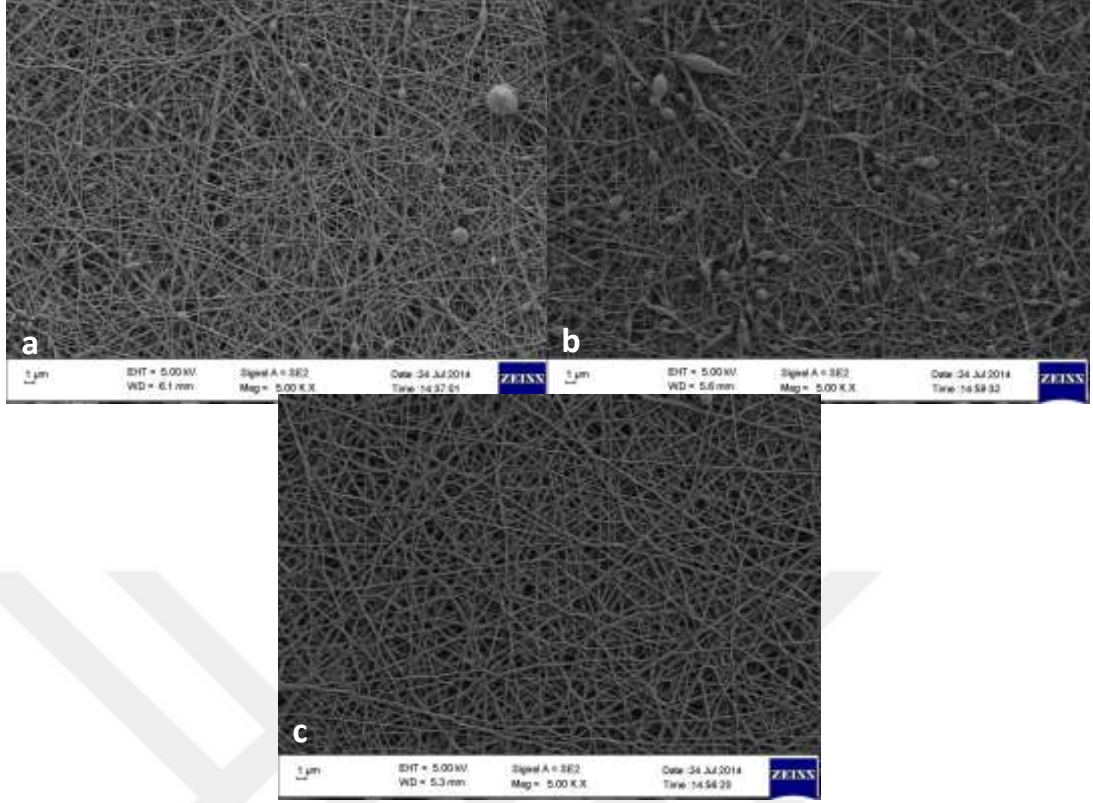




Şekil 4.3. Sabit karvakrol miktarı (%4) ve farklı zein konsantrasyonunda elektro eğirme yöntemiyle elde edilen liflerin SEM görüntüsü ve çap dağılımları a) %31.2 zein b) %34 zein c) %36.8 zein



Şekil 4.4. Sabit zein konsantrasyonunda (%34) ve farklı karvakrol içeriklerinde elektro eğirme yöntemiyle elde edilen liflerin SEM görüntüsü ve çap dağılımları a) %0 karvakrol b) %4 karvakrol c) %8.2 karvakrol



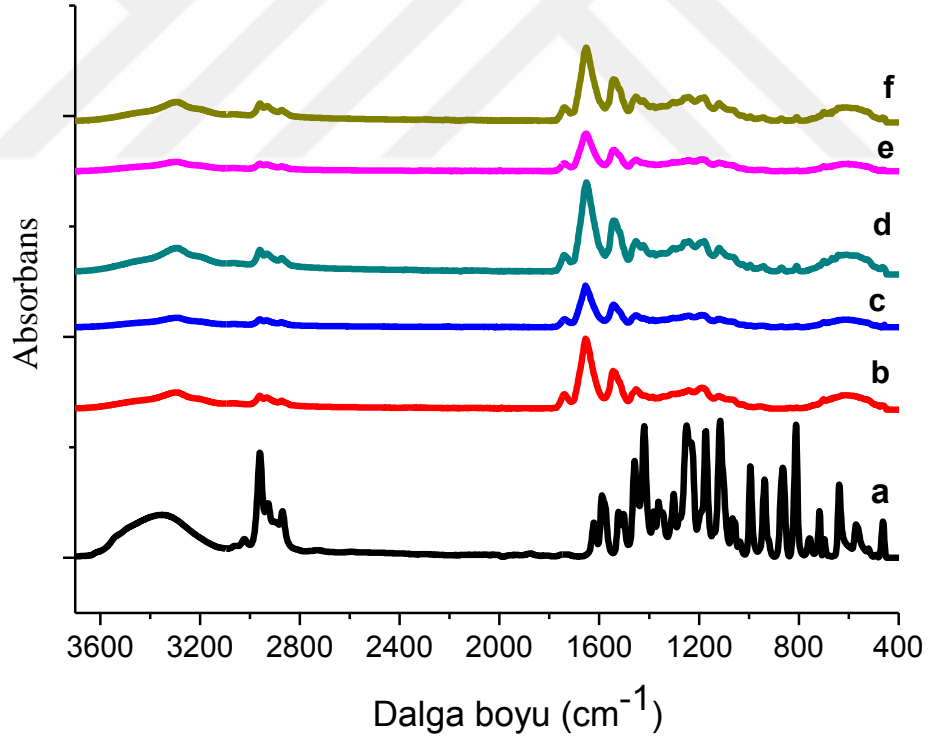
Şekil 4.5. Zein-karvakrol karışımlarından elektro eğirme yöntemiyle elde edilen liflerin SEM görüntüleri a) %32 zein, %1 karvakrol; b) %32 zein, %7 karvakrol; c) %36 zein, %7 karvakrol

Glasiyel asetik asit ve zein kullanılarak oluşturulan lif yapılarında % 25.2 ve 29 zein konsantrasyonlarında yapılan çalışmaya göre %27 zein konsantrasyonundan büyük nanoliflerde daha üstün lif morfolojileri meydana gelmiştir. %25.2 zein konsantrasyonu içeren nanolifler daha küçük çapta belirlenmiştir (0.4-1.2 µm). Çalışmada % 27.2 ve 29.0 protein içeriğine sahip nanolif yapıları daha büyük çapta ortaya çıkmıştır (0.8- 1.8 ve 0.5- 2.0 µm) [Selling vd., 2008]. Etanol ve isopropanol kullanılan çalışmaya göre zein nanolif yapılarının morfolojisi gözlenmiştir. Etanol çözeltisi kullanılan zein nanoliflerinin pürüzsüz yüzeyde olduğu ve daha kalın olduğu ortaya çıkmıştır. Bununla beraber isopropanol kullanılan nanoliflerin ise daha ince olup boncuklaşma meydana getirdiği ifade edilmiştir [Moomand vd., 2014]. Ayrıca gümüş nitrat ve etanol içeren % 25 zein nanolif yapısının homojen özellikte olduğu gözlenmiş, % 15 zein içeren karışımda düşük viskoziteye sahip olduğundan dolayı nanolif oluşumu gerçekleşmemiştir. % 30 zein içeren nanoliflerin çaplarının

daha büyük olduğu, %20 ve % 25 zein içeren nanoliflerin ise daha küçük çapta olduğu tespit edilmiştir [Dashdorj vd., 2015].

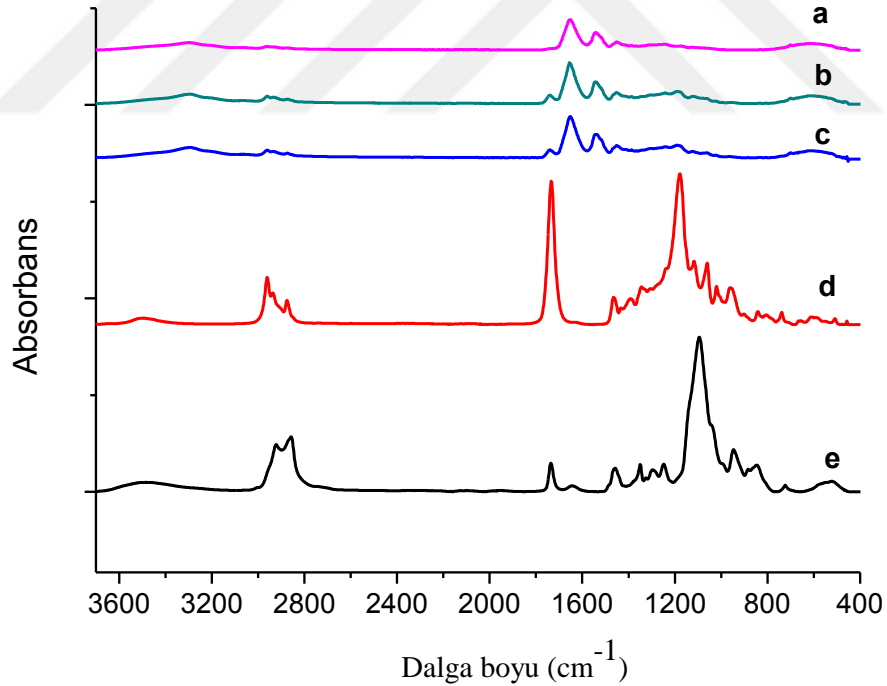
4.2.2. FTIR Analizi

Karvakrol, karvakrol içermeyen zein ve farklı zein konsantrasyonunda karvakrol içeren liflerin FTIR spektrumları şekil 4.6’da verilmiştir. Karvakrol bandı 3351.85 cm^{-1} ’deki pik yapısında OH grubu gerilme titreşimini göstermektedir. Karvakrol bandında meydana gelen $2959, 2927$ ve 2869 cm^{-1} titreşimlerinde keskin pik yapıları gözlenmekle beraber alifatik C-H gerilme titreşimi bulunmuştur [Al-Sheibany vd., 2005]. Karvakrol bandı incelendiğinde $1621.27-1458.18 \text{ cm}^{-1}$ ’de oluşan pik yapısı ise C-C halka gerilmesinden dolayı meydana gelmiştir. Bu sonuçlar literatürdeki karvakrol ile yapılan çalışmalarla uyumlu olmaktadır.



Şekil 4.6. Karvakrol ve elektro eğirme yöntemiyle üretilen liflerin FTIR spektrumları
a) karvakrol; b) %34 zein; c) %34 zein, %4 karvakrol; d) %34 zein, %8.2 karvakrol;
e) %36 zein, %1 karvakrol; f) %36 zein, %7 karvakrol

Bilindiği gibi, karvakrol bandı 3378 cm^{-1} 'de fenolik O-H grubundaki gerilme titreşimini, 2960 cm^{-1} 'de CH gerilmesini, 1459 , 1382 ve 1346 cm^{-1} 'de C-H deformasyonunu gösteren titreşim yapılarına sahiptir. 866 ve 812 cm^{-1} 'de ise aromatik halka pikleri oluşturmaktadır [Keawchaon ve Yoksan, 2011]. Karvakrol bandı yapısında 1386.42 ve 1346.18 cm^{-1} 'de oluşan pikler $-\text{CH}_3$ simetrik gerilme ve bükülme pikleri olarak ifade edilmiştir [Arrieta vd., 2013]. Karvakrol içermeyen %34 zein konsantrasyonunda elde edilen lifin FTIR spektrumunda protein bantları için spesifik olan Amit A, Amit I ve Amit II pikleri, 3300.24 , 1654.43 ve 1543.99 cm^{-1} 'de belirlenmiştir. Bununla birlikte 2960 , 2936 ve 2875 cm^{-1} titreşimlerinde alifatik grup C-H gerilme titreşimi görülmektedir. Zein proteinlerinin aminoasitleri N-H gerilme titreşimi içerir ve bu yapıdaki Zein bandı Amit A olarak bilinmektedir. Zein bandında görülen Amit I piki C=O gerilme , Amit II piki N-H bükülme ve C-N gerilme gruplarından oluşur [Corradini ve ark., 2014].



Şekil 4.7. Karvakrol içermeyen zeinden üretilen lifler ile tribütül sitrat ve yüzey aktif maddesinin FTIR spektrumları a) saf zein (%34); b) saf zein, tribütül sitrat ve tween; c) saf zein and tribütül sitrat; d) tribütül sitrat; e) tween 80

Karvakrol içermeyen zeinin FTIR spektrumunda 1739.94 cm^{-1} 'de pik oluşumu belirlenmiştir (Şekil 4.7b). Tribütil sitratın FTIR spektrumunda 1733 cm^{-1} 'de görülen titreşim karbonil grubu C=O gerilmesinden dolayı meydana gelmektedir. Bu pik ester için karakteristik pik olan C=O gerilme piki olarak tespit edilmiştir [Rao, 2013]. Saf zeinin FTIR spektrumunda aynı noktada pik oluşumu gerçekleşmemiştir (Şekil 4.7a). Karvakrol içeren bazı zein liflerinin FTIR spektrumu sonucunda yeni bir pik oluşumu belirlenmemiştir. Yapılan çalışmaya göre sabit zein konsantrasyonlarında (%34 ve %36) farklı karvakrol içeriğine sahip (%0, %1, %4, %7 ve %8.2) nanoliflerinin FTIR spektrum sonuçlarına göre zein bandında gözlenen 1649 ve 1542 cm^{-1} piklerde Amit I ve Amit II yapılarından dolayı karvakrol bandında bulunan 1621 , 1588 , 1501 , 1522 ve 1458 cm^{-1} 'deki pikler kaybolmuştur. Şekil 4.6'da verilen spektrumlar daha ayrıntılı incelendiğinde, karvakrol içermeyen zeinden elde edilen lifin 3300.24 cm^{-1} 'de görülen pikinin artan karvakrol oranıyla (%4-8.2) 3289 cm^{-1} 'ye kaydığı fakat %1 karvakrol içeren liflerde ise pikin değişmediği ortaya çıkmıştır. Karvakrol içeren zein liflerinin 2959 cm^{-1} 'de elde edilen piki (C-H gerilmesi) karvakrolün 2959.53 cm^{-1} 'deki piki ile birleştiği sonucuna ulaşılmıştır. Meydana gelen bu kimyasal C-H gerilme titreşimleri ile karvakrol bandındaki 2959 cm^{-1} pik yapısında oluşan C-H gerilme titreşimi elde edilen karvakrol zein nanolif yapısında biraraya gelmektedir. Saf zeinde 1654.43 cm^{-1} 'de elde edilen Amit I bandı karvakrolün eklenmesiyle 1651 cm^{-1} 'ye kaymıştır. Bu değişim karvakrol ile zein arasında oluşabilecek H bağından ötürü olabilir [Arcan ve Yemenicioglu, 2013]. Karvakrol miktarının artmasıyla 1119 ve 808 cm^{-1} 'de bulunan piklerin şiddetlerinin arttığı ifade edilmiştir. Elde edilen bu piklerin karvakrole ait olduğu görüşüne varılmıştır. Bununla birlikte 800 cm^{-1} 'deki piki aromatik C=C gerilmesi olarak bulunmuştur [Arrieta vd., 2013].

Yapılan çalışmada tribütil sitrat karakteristik pikleri görülmektedir. 1178 cm^{-1} titreşimi C-O gerilme titreşimini, 1392 cm^{-1} titreşimi CH_3 eğilme titreşimini ve 1465 cm^{-1} titreşimi CH_2 eğilme titreşimini işaret etmektedir. 1733 cm^{-1} 'de görülen titreşim karbonil grubu C=O gerilmesinden dolayı meydana gelmektedir. Ayrıca 2960 , 2936 ve 2875 cm^{-1} 'deki piklerde alifatik karbon hidrojen gerilme pikleri görülmektedir. 3492 cm^{-1} 'deki pik ise hidroksil grubunu göstermektedir. Elde edilen analiz sonuçları baz alındığında tween-80 bandında titreşim grafiği gözlenmiştir.

2922 cm^{-1} [-CH₃ bağ yapısı] ve 2856 cm^{-1} [-CH₂- bağ yapısı] pik yapılarında alifatik karbon hidrojen gerilme titreşimi görülürken, 1735 cm^{-1} pikinde C=O gerilme titreşimi meydana gelmekte, 1644 cm^{-1} 'de elde edilen pik yapısında ise C=O bağ yapısı oluşmaktadır. Bununla beraber 1094 cm^{-1} 'deki titreşimde C-O-C karbonil yapıları saptanmıştır. Zein, tribütil sitrat ve tween-80 blend çözeltisinden elde edilen nanolifte FTIR Spektrum sonuçlarına göre 3300 cm^{-1} pik değerinde O-H bağ yapısı görülürken, 2959, 2933 ve 2873 cm^{-1} pik değerlerinde C-H bağı meydana gelerek, 1739, 1654 ve 1543 cm^{-1} pik yapısında C=O gerilme titreşimleri oluşmaktadır. Tween-80 bandı, tribütil sitrat bandı ve oluşan nanolif yapısındaki band karşılaştırıldığında her üç yapı için hidroksil grupları sırasıyla 3484, 3492 ve 3300 cm^{-1} titreşimlerinde ortaya çıkmıştır. Tween 80 için 2922 ve 2856 cm^{-1} piklerinde görülen C-H gerilme titreşimleri tribütil sitrat bandında 2960, 2936 ve 2875 cm^{-1} piklerinde meydana gelmekte, oluşan lif yapısında ise 2959, 2933 ve 2873 cm^{-1} piklerinde saptanmıştır. Tween-80 ve tribütil yapılarından farklı olarak oluşan lif yapısında elde edilen FTIR Spektrumu için C=O gruplarını simgeleyen 1654 ve 1543 cm^{-1} titreşimler görülmektedir. Tween-80 molekülü içindeki polar olmayan yapılar zein polimerinde bulunan polar olmayan yapıları adsorbe etmektedir. Bundan ötürü zein ve tween-80 etkileşimi gözlenerek tween-80 yapısındaki hidrofilik gruplardan dolayı oluşan hidrofobik özellik azalmaktadır [Hu vd., 2014]. Tribütil sitrat amfifilik özelliğe sahip bir plastikleştirici olup zein ile birleştiğinde hidrofilik adsorpsiyon oluşumunu sağlamaktadır. Tribütil sitrat-zein blendinden elde edilen nanolif yapısıyla zein polimeri içerisinde Amit I bölümünde oluşan ikincil yapıları etkilemektedir [Shi vd., 2012].

4.2.3. Termal Analiz

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) metodu ilaç, polimer ve gıda endüstri uygulamalarında yaygın kullanıma sahip termal analiz tekniklerinden en önemlisidir [Ghanbarzadeh ve Oromiehi, 2009; Chen vd., 2014]. Bu tez çalışmasında zein-karvakrol karışımından oluşan nanolif yapısının camsı geçiş sıcaklık değeri ve bozunma sıcaklıkları diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC) ile belirlenerek termal davranışı incelenmiştir. Camsı geçiş sıcaklığı (T_g) kısaca, maddenin camsı (amorfo)

yani kristal bir yapı buldurmeyen) özelliklerini kaybedip ağdalı (hareketlilik kazanarak daha esnek bir yapıya bürünmeleri) özellikler kazanmaya başladığı sıcaklık sınırıdır [Akay, 2014]. Polimer yapıda camsı geçiş sıcaklığı olarak bilinen T_g değeri moleküler ağırlığa, moleküler yapıda bulunan kovalent ya da kovalent olmayan bağlanmaya, amorf ve kristalin alanların oranına, diğer polimer ve kimyasalların varlığına bağlıdır [Chen vd., 2014]. Üretilen liflerin DSC termogramlarında maksimum 65°C civarında geniş endotermik pik oluşumu bulunmuştur. Elde edilen bu pikin polimer molekülüne ait suya ait olabileceği düşünülmektedir. Benzer sonuç D3 vitamininin zein polimeri ile enkapsülasyonunun yapıldığı çalışmada da bulunmuştur [Luo vd., 2012]. Kayacı ve Uyar (2012) tarafından yapılan çalışmada zein nanoliflerinin DSC termogramında 100°C’de geniş endotermik pik oluşumu görülmüş ve bu pikin örneklerde bulunan suya ait olduğu tespit edilmiştir [Kayacı ve Uyar, 2012].

Saf zeinden elde edilen liflerin camsı geçiş sıcaklığı (T_g) 157.5±1.9°C olarak belirlenmiştir. Bu değer literatürde yapılan çalışmalar ile uyumludur. Yapılan çalışmalarda saf zeinden üretilen lifler için camsı geçiş sıcaklığı 156°C olarak bulunduğu görülmüştür [Neo vd. 2013]. Torres-Giner vd.(2009) zein liflerinin camsı geçiş sıcaklığını 157.2°C olarak bulmuşlardır [Torres-Giner vd., 2009]. DSC termogram grafiklerine göre elde edilen çalışmalarda zein yapısında camsı geçiş sıcaklığı 160°C olarak bulunmuştur [Magoshi vd., 1992]. Saf zein çözeltisine tribütil sitrat eklenmesi liflerin camsı geçiş sıcaklığında belirgin bir değişime neden olmamıştır. Tribütil sitrat eklenerek üretilen zein liflerinin camsı geçiş sıcaklığı 159.5±3.8°C olarak bulunmuştur. Bulunan farklılık istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05). Literatürde yapılan bazı çalışmalarda plastikleştirici olarak eklenen tribütil sitrat ve gliserolün miktara bağlı olarak camsı geçiş sıcaklığını düşürdüğü gözlenmiştir. Rao (2013) zein film çözeltisine %10 oranında tribütil sitrat eklenmiş ve zein filmlerinin camsı geçiş sıcaklığının 162.05°C’den 147.84°C’ye düştüğünü bulmuştur [Rao, 2013]. Wongsasulak vd. (2010) zein çözeltisine ekledikleri %2 gliserol ile elde ettikleri liflerin camsı geçiş sıcaklığı 154.1°C’den 138.9°C’ye düşmüş fakat bu düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır [Wongsasulak vd., 2010]. Araştırmacılar protein bazlı filmlerin camsı geçiş sıcaklığındaki değişimi

moleküllerin molekül içi ve arası çekim kuvvetlere ve molekül ağırlığındaki değişime bağlamışlardır.

Çizelge 4.4. Elektro eğirme yöntemiyle üretilen liflerin camsı geçiş (T_g) ve bozunma sıcaklıkları (T_b)

| Deney | Zein konsantrasyonu (%) | Karvakrol miktarı (%) | T_g (°C) | T_b (°C) |
|-------|-------------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1 | 31.2 | 4 | 161.9±5.5 ^{ab} | 256.4±0.0 ^{bc} |
| 2 | 34 | 4 | 162.9±2.0 ^{ab} | 255.7±1.0 ^{abc} |
| 3 | 36.8 | 4 | 163.3±12.7 ^a | 252.5±1.2 ^{ab} |
| 4 | 34 | 4 | 160.5±9.1 ^{ab} | 261.6±4.3 ^d |
| 6 | 32 | 1 | 158.3±2.6 ^{ab} | 259.0±2.5 ^{cd} |
| 7 | 36 | 1 | 159.2±10.1 ^{ab} | 262.4±2.4 ^d |
| 8 | 34 | 8.2 | 151.9±1.7 ^b | 262.1±3.1 ^d |
| 9 | 36 | 7 | 168.5±1.5 ^a | 262.5±5.4 ^d |
| 10 | 32 | 7 | 166.1±4.4 ^a | 260.0±4.9 ^{cd} |
| 11 | 34 | 0 | 159.6±5.8 ^{ab} | 251.5±0.0 ^a |
| 12 | 34 | 4 | 162.1±4.0 ^{ab} | 258.3±1.5 ^{cd} |

Aynı sütundaki farklı harfler $p<0.05$ de istatistiksel farklılığı göstermektedir.

Zein nanoliflerinin camsı geçiş sıcaklığının karvakrol miktarıyla değişimi Çizelge 4.4'de verilmiştir. Camsı geçiş sıcaklığı 151.9±1.7°C ile 168.5±1.5°C arasında değişmiştir. Düşük karvakrol içeriğinde (%1) camsı geçiş sıcaklığı zein ile karşılaştırıldığında belirgin bir farklılık görülmemiştir. Camsı geçiş sıcaklığı, %32 zein konsantrasyonu ve %1 karvakrol içeriğinde 158.3°C bulunurken %36 zein konsantrasyonunda 159.2°C bulunmuştur. Karvakrol miktarının %4'e artırılmasıyla birlikte liflerin camsı geçiş sıcaklığı 161-163°C'ye artmıştır. Camsı geçiş sıcaklığı, %36 zein konsantrasyonu ve %7 karvakrol içeren karışımdan elde edilen lifler için 168.5°C olarak bulunmuştur. Karvakrol miktarının daha fazla artırılması (%8.2) camsı geçiş sıcaklığını düşürmüştür. Mori vd. (2014) çalışmalarında tannin miktarının artmasıyla zein liflerinin camsı geçiş sıcaklığında artış gözlemlenmiştir.

[Mori vd., 2014]. Bu artışı zein zincirindeki hareketliliğin azalması ile açıklamışlardır. Diğer bir çalışmada ise gallik asit miktarının %5'ten %20'ye arttırılması zein liflerinin camsı geçiş sıcaklığını düşürmüştür [Neo vd., 2013]. Sonuç olarak camsı geçiş sıcaklığındaki düşüş eklenen maddenin plastikleştirici etkisinin sonucu olabilir [Neo vd., 2013; Wongsasulak vd., 2010].

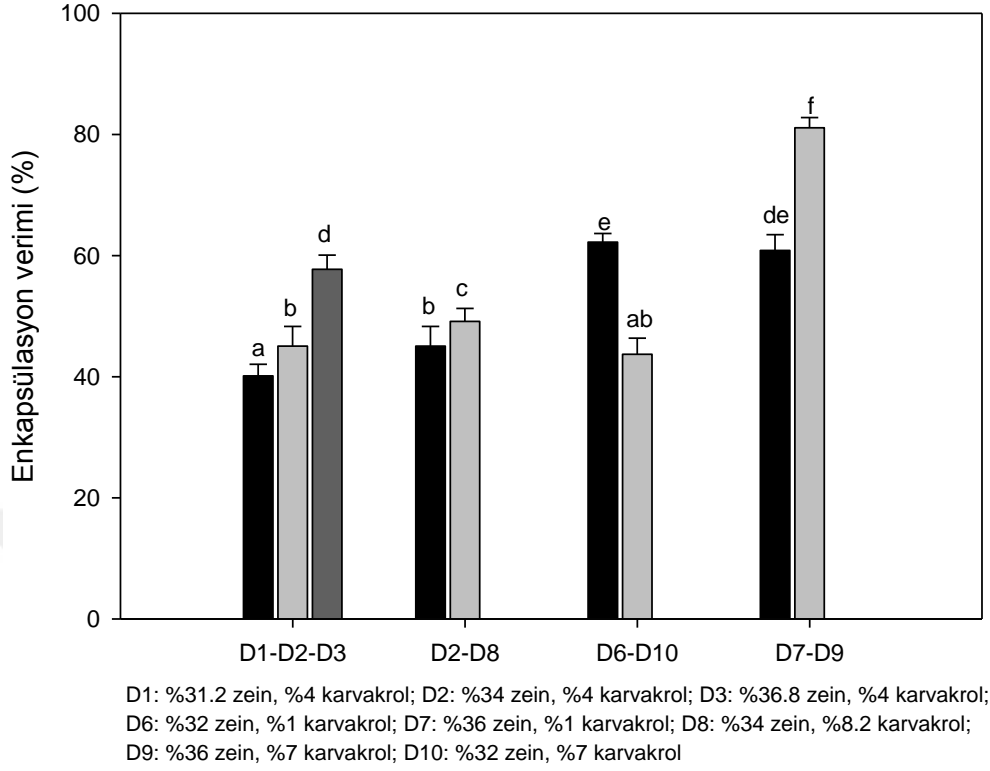
Biyopolimer yapılarında yapılan çalışmalarda daha ince nanolif yapılarında Tg değeri daha yüksektir. Bazı asit çözeltilerindeki nanolifler ve alkol çözeltilerinden elde edilen ince nanoliflerde Tg değeri daha yüksektir. Camsı geçiş sıcaklığı Tg değerinin yüksek olması bu nanolif yapılarının kuvvetlendirici etkisinden kaynaklanmakta böylece oluşan nanoliflerin termal ve boyutsal stabilitesi kuvvetli olmaktadır. Zein molekülü içindeki hidrofobik yapılar protein yapısının düzenli olmasını sağlamakta, hidrojen bağı etkileşimleri sıcaklık arttığında azalmaktadır. Tg değerleri trifloroasetik asit kullanılan zein nanolifi için $157.2 \pm 0.6^\circ\text{C}$, saf etanol içeriğine sahip zein nanoliflerinde $158.9 \pm 2.1^\circ\text{C}$ ve etanol asetik asit karışımı kullanılarak oluşan zein liflerinde $163.3 \pm 2.3^\circ\text{C}$ olarak ifade edilmektedir [Torres-Giner vd., 2008]. Asitlendirilmiş zein çözeltisinden oluşan zein nanolif yapısı etanol sulu çözeltisinden oluşan zein nanoliflerinden daha büyük camsı geçiş sıcaklığına sahiptir [Di Gioia vd., 1999]. Asitlendirilmiş zein karışımından elektro eğirme ile üretilen zein nanoliflerinin lif morfolojileri ve moleküler yapıları camsı geçiş sıcaklığının büyük olmasında etkilidir [Torres-Giner vd., 2008]. Bu nedenle bu nanolif yapıları termal direnci daha yüksek materyaller olarak görülmektedir.

Elektro eğirme ile oluşan zein nanolif yapılarının termal stabilitesi zein filmlerinin termal stabilitesinden daha büyüktür. Zein liflerinde termal bozunma sıcaklığı 226°C 'de başlayıp 280°C 'de yoğunluk kazanırken filmlerde 187°C 'de başlamakta 261°C 'de güçlü olmaktadır. Zein nanoliflerinin termal direnci aynı ortam koşullarında zein filmlerinden daha fazladır. Polimer karışımından elektro eğirme ile elde edilen nanoliflerde termal stabilitenin güçlü olmasının nedeni oluşan nanoliflerin takviye edici materyaller şeklinde kullanılma potansiyelinden kaynaklanmaktadır [Torres-Giner vd., 2008]. Termal bozunmada kütle kayıpları olduğu ifade edilmektedir. Bundan ötürü ilk kütle kaybı biyopolimer ağının bozunması olarak bilinirken ikinci kütle kaybı biyopolimer monomerlerinin iç

kovalent bağlarının bozunmasına karşılık gelmektedir [Li, 1999]. Termal bozunma başlangıç sıcaklığında düzenli yapı kaybolmakta düzenli yapıda hızlı bir azalma görülmektedir. Saf zeinden elde edilen liflerin bozunma başlangıç sıcaklığı Tb 241.7°C bulunmuştur. Bu sonuç literatürde bulunan sonuçlar ile uyum içindedir. Neo vd. (2013) zein ve gallik asit yüklü liflerin bozunma sıcaklığını yaklaşık 210°C civarında bulmuştur [Neo vd., 2013]. Torres-Giner vd. (2008) zein liflerinin 226°C'de bozunmaya başladığını ve bozunmanın yaklaşık 280°C'de daha şiddetli olduğunu gözlemlemişlerdir [Torres-Giner vd., 2008] Karvakrol yüklü zein nanoliflerinin bozunma sıcaklığı 252.5-267.9°C arasında değişmiştir (Çizelge 4.4). Karvakrol içermeyen zein nanoliflerinin bozunma sıcaklığı 251.5°C olarak bulunmuştur. Karvakrol içeren zein nanoliflerinin bozunma sıcaklığının karvakrol içermeyen zeine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Karvakrol yüklü liflerin ısıl dayanıklılığının saf zeinden elde edilen liflere göre daha iyi olduğu saptanmıştır. Karvakrol oranının artması bozunma sıcaklığını arttırmakla beraber oluşan nanoliflerin termal direncini geliştirmiştir. Aradaki sıcaklık farkının karvakrolün zein molekülünde polimer etkileşiminin yanında molekül içi H bağı yapması ve molekül yapısındaki zincir çevresindeki serbest hacim oranını azaltmasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Bu nedenle zein karvakrol karışımının molekül içi etkileşimi (H bağı) fazla olduğundan dolayı bozunma sıcaklıkları yüksek çıkmış olabilir [Guichard, 2006; Lu ve Wang, 2014].

4.2.4. Enkapsülasyon Verimi

Enkapsülasyon metodu nano parçacıkların depolanma olasılığını arttırması ve gıda ürünlerine kolay uygulanabilir olması bakımından büyük bir öneme sahiptir. Enkapsülasyon verimi polimer matriks içindeki hapsedilmiş madde miktarı ile serbest aktif madde miktarı arasındaki fark olarak tanımlanır [De Carvalho vd., 2013].



Şekil 4.8. Elektro eğirme yöntemiyle üretilmiş liflerde karvakrolün enkapsülasyon verimi (Farklı harfler değerler arasında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak farklılık olduğunu göstermektedir.)

Şekil 4.8’de gösterilen zein-karvakrol karışımından elde edilen liflerdeki karvakrolün enkapsülasyon verimi 40 ± 1.9 ile 81 ± 1.7 arasında değişmektedir. En düşük enkapsülasyon verimi %31.2 zein%4 karvakrol karışımından üretilen liflerde görülmektedir. En yüksek enkapsülasyon verimi ise %36 zein-%7 karvakrol karışımından elde edilen liflerde tespit edilmiştir. Sabit karvakrol miktarında (%4) zein konsantrasyonu artışıyla enkapsülasyon verimi artmıştır. Zein nano parçacıklarının üzerine yapıldığı çalışmada artan zein konsantrasyonu ile enkapsülasyon verimi de artmış [Muthuselvi ve Dhathathreyan, 2006]. Sabit zein konsantrasyonu (%34) içeriğindeki nanoliflerde karvakrol konsantrasyonunu arttırdığında enkapsülasyon veriminde artış görülmüştür. Karvakrol enkapsüle edilmiş kitosan nanoyapılarında karvakrol miktarı arttıkça enkapsülasyon verimi 13.6-31.4

aralığında artmaktadır. Enkapsülasyon değeri % 31.4 iken daha sonra azalmaya başlamış bu da enkapsülasyonun sınırlandığı anlamına gelmekte ve maksimum enkapsülasyon verimi % 31.4 olarak belirlenmiştir [Keawchaoon ve Yoksan, 2011].

Zein konsantrasyonu %32 olan liflerde enkapsülasyon veriminin karvakrol miktarının artmasıyla düştüğü gözlenmiştir. Üç farklı kekik otu esansiyel yağı ile yapılan püskürtmeli kurutma çalışmasında yağ örneklerinde karvakrol miktarı arttıkça daha düşük enkapsülasyon verimi saptanmıştır [Arana-Sanchez vd., 2010]. Düşük zein konsantrasyonunda karvakrol miktarının artması çözeltinin viskozitesinde ve elektrik iletkenliğinde azalmaya sebep olmuştur. Böylece düzenli lif oluşumu gerçekleştirilememiş olmakla beraber, boncuklu yapı oluşumu gözlenmiştir Buna benzer olan %31.2 zein konsantrasyonunda yapı düzensiz olup çok sayıda boncuk olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda düşük karvakrol konsantrasyonu ile karvakrolün uçucu özelliğe sahip olması nedeniyle elektro eğirme esnasında çözücüyle birlikte karvakrol buharlaşmış olabilir. Karvakrol yüklü zein nano parçacıklarında sıvı sıvı dispersiyon yöntemiyle (4, 6.5 ve 10) farklı pH koşullarında enkapsülasyon etkisi incelenmiştir. Çalışmada 4 ve 6.5 pH koşullarında elde edilen enkapsülasyon verimi %60 olarak belirlenmiştir. pH 10 olduğunda enkapsülasyon verimi %70'ten daha fazla olmaktadır [Wu, 2013].

Enkapsülasyon verimindeki farklılık esansiyel yağların molekül büyüklüğü ve kompozisyonu gibi fizikokimyasal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Parçacık büyüklüğü enkapsülasyon verimini etkileyen önemli bir faktördür [Arana-Sanchez vd., 2010].

4.2.5. Mekanik Özelliklerin Belirlenmesi

Elektro eğirme yöntemiyle üretilen zein nanoliflerinin mekanik özellikleri gerilim direnci ve uzama miktarı belirlenerek değerlendirilmiştir. Saf zeinden (%34) oluşan liflerin gerilim direnci 0.86 ± 0.13 MPa ve uzama miktarı 5.09 ± 0.69 ; tribütül sitrat (~%4, a/a) eklenerek elde edilen nanoliflerde (deney 11) gerilim direnci 1.25 ± 0.15 MPa, uzama miktarı ise 4.91 ± 0.60 olarak tespit edilmiştir. Tribütül sitratın eklenmesi gerilim direncinde önemli derecede ($p < 0.05$) artışa neden

olmuştur. Ancak tribütil sitrat ilave edilmesi uzama miktarında iyileşme sağlamamıştır. Shi vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada asetik asit içinde hazırlanan zein çözeltisine %10 oranında tribütil sitrat eklenen filmlerin gerilim direncinin saf zeinden elde edilen filmlere göre arttığı bulunmuştur [Shi vd., 2012]. Wongsasulak vd. (2010) gliserolün zein liflerinin mekanik özellikleri üzerine etkisi araştırmıştır. Yapılan çalışmada zein %40 (a/h) konsantrasyonda %90'lık etanol içinde hazırlanmıştır. Gliserol içermeyen liflerin gerilme direnci 0.332 ± 0.1 MPa, uzama miktarı ise 1.642 ± 0.287 bulunmuştur. Artan gliserol miktarı (%8) gerilim direncini artırırken uzama miktarında istatistiksel olarak önemli bir değişikliğe sebep olmamıştır [Wongsasulak vd., 2010]. Gliserol (%22, %30 ve %40) içeren zein filmlerinde yapılan başka bir çalışmada da artan gliserol miktarıyla uzama miktarı sabit kalmıştır [Corradini vd., 2006]. Oleik asit (%0.25, %0.05 ve %1) içeren zein liflerinde artan oleik asit miktarıyla maksimum gerilme kuvveti artarken elastisite modülü azalmaktadır [Britto vd., 2008]. Oleik asit ve linoleik asit ilave edilen zein yapılarında uzama miktarında ve polimer esnekliğinde artış görülmektedir [Santosa ve Padua, 1999]. Zein bazlı sistemlerde plastikleştiriciler polimer esnekliğini artırıcı özelliğe sahiptir [Banker, 1966]. Hidrofilik plastikleştirici yerine hidrofobik plastikleştirici kullanılarak sistemin gerilme özelliklerinin daha çok arttığı ve elde edilen nanoyapıların daha sağlam olduğu belirlenmiştir [Lawton, 2004]. Bu yardımcı materyaller ile proteinlerin etkileşimi sistemin elastikliğini arttırmaktadır [Mejia vd., 2012; Fevzioglu vd., 2012].

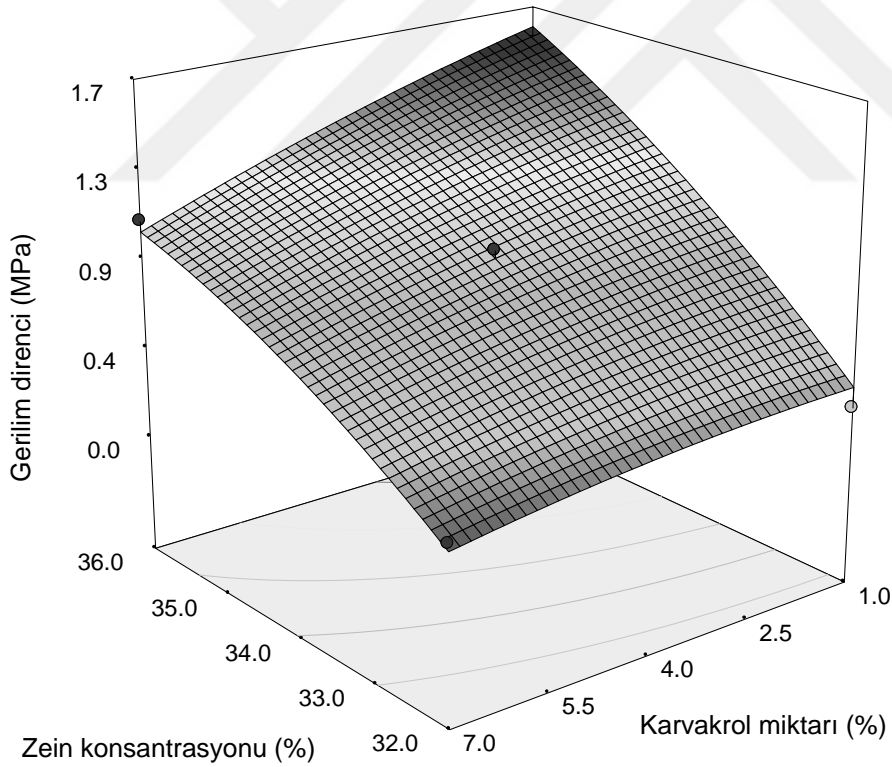
Elde edilen nanolifli yüzeylerin gerilim direnci, zein konsantrasyonu, karvakrol miktarı ve bu değişkenlerin interaksiyonundan önemli derecede ($p < 0.05$) etkilenmiştir (Çizelge 4.5). Gerilim direncinin zein konsantrasyonu ve karvakrol miktarıyla değişimi Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Zein konsantrasyonundaki artış gerilim direncinin artmasını sağlamıştır. Zein konsantrasyonunun artmasıyla viskozite artmaktadır. Bu durum boncuksuz yapı oluşumuna neden olmaktadır. Bunun sonucunda gerilim direnci artmıştır.

Çizelge 4.5. Gerilim direnci (GD) için elde edilen modelin ANOVA sonucu

| Model Terimi | Ortalama lif çapı (nm) | |
|---|------------------------|----------|
| | F-değeri | p-değeri |
| | 59.59 | 0.0001* |
| A | 247.41 | 0.0001* |
| B | 35.94 | 0.0005* |
| B ² | 46.84 | 0.0002* |
| AB | 6.41 | 0.0391* |
| A ² | 6.90 | 0.0341* |
| Belirleyicilik katsayısı (R ²): | 0.9770 | |
| Düzeltilmiş belirleyicilik katsayısı | 0.9606 | |
| Tahmin edilen belirleyicilik katsayısı | 0.8701 | |
| Uyumluluk düzeyi | 25.627** | |
| $GD = -35.4 + 1.83A - 0.61B - 0.018AB - 0.022A^2$ | | |

A, Zein konsantrasyonu (%); B, karvakrol miktarı (%)

*p<0.05' de önemli, *** Uyumluluk düzeyi 4'den büyük olmalı



Şekil 4.9. Zein konsantrasyonu ve karvakrol miktarının gerilim direnci üzerine etkisinin tepki yüzey grafiği

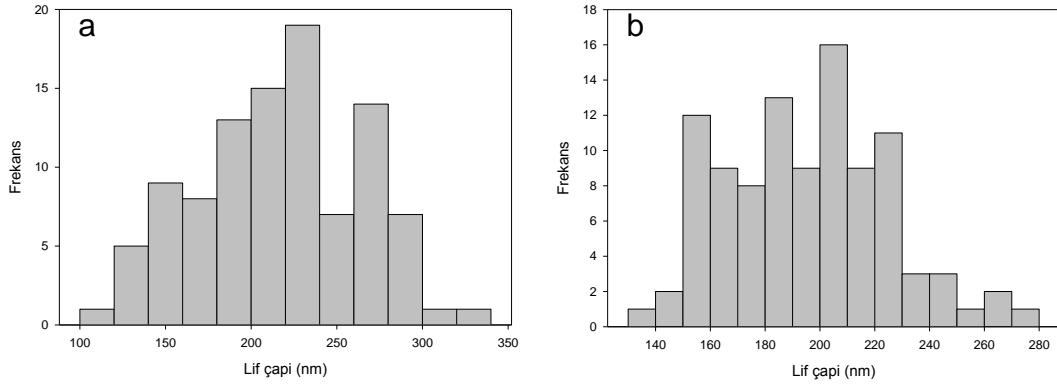
Karvakrol miktarının artması üretilen malzemelerin gerilim direncinin düşmesine sebep olmuştur. Gerilim direncindeki azalma düşük zein konsantrasyonlarında artan karvakrol miktarında daha fazla olmuştur. Düşük zein konsantrasyonuyla karvakrol miktarı arttırıldığında viskozite değeri düşmektedir. Bu da boncuklu yapının oluşmasına (Şekil 4.5) yol açmakta ve oluşan boncuklu yapı gerilim direncinin düşmesine sebep olmaktadır. Boncuklu yapı ile lifler arasındaki çekim kuvvetinin azaldığı belirtilmiştir. Bu nedenle zayıf mekanik performans elde edildiği yapılan çalışmalarda ifade edilmiştir [Huang vd., 2006].

Çizelge 4.6'da zein-karvakrol karışımlarından elde edilen nanolifli yüzeylerin uzama miktarları verilmiştir. Yapılan analiz sonuçlarına göre üretilen malzemelerin uzama miktarları %0.5 ile 5.7 arasında değişmiştir. Sabit %34 zein konsantrasyonuna sahip nanoliflerde karvakrol içermeyen nanolifin uzama miktarı 4.91 ± 0.60 olup, % 4 ve % 8.2 karvakrol içeren nanoliflerde uzama miktarları sırasıyla 3.51 ± 0.15 ve 2.32 ± 0.32 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Zein konsantrasyonu %34 olduğunda karvakrol miktarının %8.2'ye artması uzama miktarını önemli ölçüde ($p < 0.05$) azaltmıştır. Sabit karvakrol oranında (%4) uzama miktarının zein konsantrasyonunun artmasıyla istatistiksel olarak önemli derecede ($p < 0.05$) artmakta olduğu gözlenmiştir. FE-SEM görüntüsü incelendiğinde (Şekil 4.3) zein konsantrasyonunun %31.2'den %36.8'e artmasıyla beraber düzgün lif dağılımı oluşmuş, uzama miktarının arttığı sonucu elde edilmiştir. Düşük zein konsantrasyonunda (%32) karvakrolün %1'den %7'ye çıkarılması uzama miktarını azaltmaktayken, %36 zein konsantrasyonunda karvakrolün %1'den %7'ye artması uzama miktarını artırmıştır. Karvakrol miktarı lif çapının azalmasına sebep olmuş lif dağılımının daha homojen olarak dağılımını sağlamıştır (Şekil 4.2, Şekil 4.10). Ayrıca eklenen karvakrol miktarının artması ile polimer yapısında plastikleştirici etki sağlamış olabileceğinden uzama miktarında pozitif etkiye sebep olduğu sonucu ortaya çıkmıştır [Quintero vd., 2013]. Oluşan nanoliflerin uzama miktarının artması esneklik özelliğinin gelişmesine katkı sağlamaktadır. Düşük yoğunluktaki polietilen ilave edilmiş zein/karvakrol nanoliflerinde gerilme kuvveti ve uzama miktarlarının artan karvakrol miktarına bağlı arttığı gözlenmiştir. Antioksidanlar biyopolimer esaslı paketlenme materyallerinin mekanik özelliklerinin gelişmesine yardımcı olmaktadır [Park vd., 2012].

Çizelge 4.6. Elektro eğirme yöntemiyle üretilen liflerin uzama miktarı ve su buharı geçirgenlikleri (SBG)

| Deney | Zein konsantrasyonu (%) | Karvakrol miktarı (%) | Uzama miktarı (%) | SBG (g.mm/m ² sa.kPa) |
|-------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------------------|
| 1 | 31.2 | 4 | 0.50±0.11 ^b | 0.365±0.053 ^{ab} |
| 2 | 34 | 4 | 3.24±0.95 ^{cd} | 0.375±0.042 ^{ab} |
| 3 | 36.8 | 4 | 4.56±0.90 ^{ef} | 0.556±0.008 ^{cd} |
| 4 | 34 | 4 | 3.32±0.99 ^{cd} | 0.474±0.004 ^{bc} |
| 6 | 32 | 1 | 1.47±0.02 ^{ab} | 0.436±0.068 ^{bc} |
| 7 | 36 | 1 | 3.01±0.68 ^{cd} | 0.239±0.043 ^a |
| 8 | 34 | 8.2 | 2.32±0.34 ^{bc} | 0.300±0.020 ^{ab} |
| 9 | 36 | 7 | 5.70±0.64 ^g | 0.653±0.177 ^d |
| 10 | 32 | 7 | 1.31±0.53 ^{ab} | 0.387±0.067 ^{ab} |
| 11 | 34 | 0 | 4.91±0.60 ^{fg} | 0.358±0.031 ^{ab} |
| 12 | 34 | 4 | 3.51±0.15 ^{de} | 0.397±0.186 ^{ab} |

Aynı sütundaki farklı harfler $p<0.05$ de istatistiksel farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.10. Elektro eğirme yöntemiyle %36 zein konsantrasyonunda ve farklı karvakrol içeriklerinde elde edilen liflerin çap dağılımları a) %1 karvakrol b) %7 karvakrol

4.2.6. Su Buharı Geçirgenliği

Çizelge 4.6'da üretilen zein/karvakrol nanolif yapılarının su buharı (SBG) değerleri verilmiştir. Üretilen malzemelerin SBG değerleri 0.239 ± 0.043 - 0.653 ± 0.177 g.mm/m²sa.kPa aralığında değişmektedir. Deney tasarımında merkez zein konsantrasyonu %34'de üretilen saf zeinden elde edilen malzemenin SBG değeri 0.302 ± 0.016 g.mm/m²sa.kPa olarak tespit edilmiştir. Aynı zein konsantrasyonunda tribütil sitrat eklendiğinde (deney 11, Çizelge 4.6) SBG (0.358 ± 0.031) az miktarda artış göstermekte fakat bu artış istatistiksel olarak önemli değildir. Asetik asit içinde hazırlanan zein filminin su buharı geçirgenliği 0.542 g.mm/m²sa.kPa olarak belirtilmiştir [Rao, 2013]. Yapılan diğer bir çalışmada %10 oranında tribütil sitrat ilave edilerek asetik asit içinde hazırlanan zein filmlerinin SBG'ni etkilemediği sonucuna ulaşılmıştır [Shi vd., 2012]. Sabit %32 zein konsantrasyonuna sahip %1 ve %7 karvakrol içeren nanoliflerde SBG değerleri 0.436 ve 0.387 g.mm/m²sa.kPa'dır. %32 zein nanoliflerinde karvakrol oranı artmasıyla SBG değeri azalmaktadır. Sabit %34 zein nanoliflerinde SBG değeri 0.358 g.mm/m²sa.kPa olup %4 karvakrol içeren nanolifte SBG değeri 0.375 g.mm/m²sa.kPa ve %8.2 içeren nanolif için SBG değeri 0.300 g.mm/m²sa.kPa olarak belirlenmiştir. Karvakrol artışıyla bariyer özelliklerinde lineer olmayan bir etki meydana gelmektedir. Karvakrol miktarında artma SBG değerini azaltmıştır fakat bu düşüş istatistiksel olarak önemli ($p > 0.05$) değildir. Bu nedenle karvakrolün SBG'ini olumlu yönde etkilediği şeklinde görüş ileri sürülebilir. Antioksidan içeren nanoyapıların su buharı bariyer özellikleri gelişmiştir. Antioksidanların güçlü hidrofobik özelliklerinden dolayı su moleküllerinin geçirgenliği engellenmektedir. Hidrofobik antioksidan madde konsantrasyonu arttığında su buharı geçirgenliği değerleri azalmaktadır [Park vd., 2012].

Sabit %36 zein konsantrasyonuna sahip %1 ve %7 (v/v)'lik karvakrol içeren nanoliflerde SBG değerleri 0.239 ve 0.653 mm/m²sa.kPa olarak gözlenmiştir. %36 zein konsantrasyonunda karvakrol miktarlarının artmasıyla birlikte SBG değerlerinde artma gözlenmiştir. Zein molekülünde bulunan aminoasitlerden oluşan hidrofilik gruplar su geçirgenliği bariyer özelliklerinin zayıflamasına neden olmaktadır [Park vd., 2012].

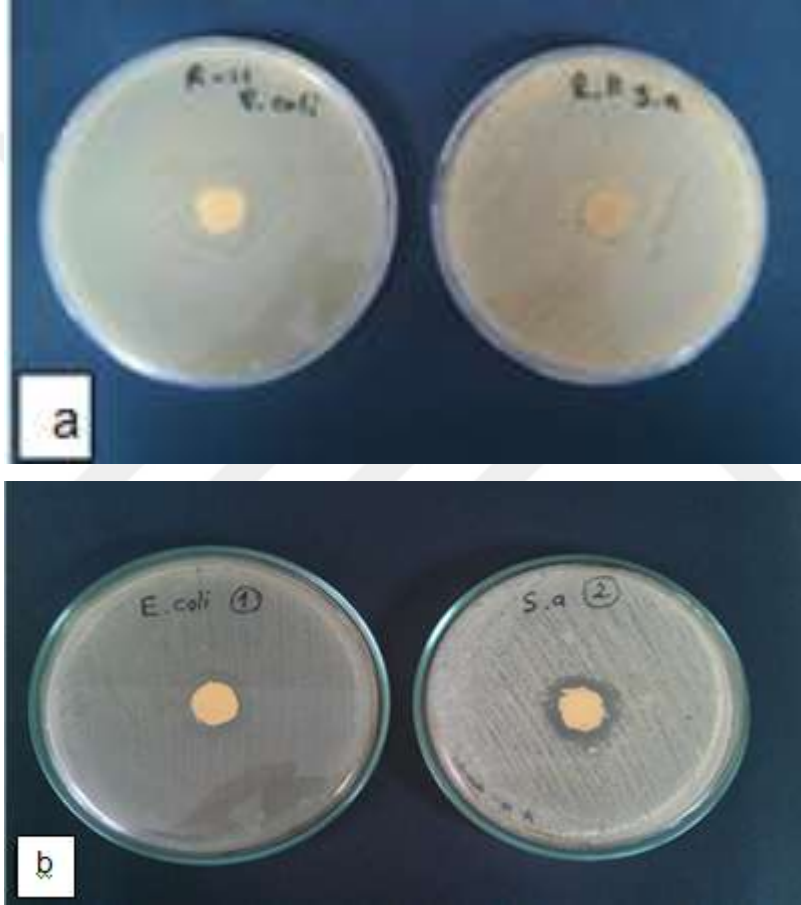
Fabra ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada zein içermeyen PHB ve PHBV filmlerinde SBG değerleri için istatistiksel olarak bir farklılık görülmemiştir. Zein nanolifi Poli- β -hidroksibütirat ve Polihidroksi bütirat-co- β -hidroksi valerit filmleri üzerine toplanarak elde edilen nanoyapıda SBG değerinde azalma meydana gelmiştir. Elde edilen nanoyapıda bariyer özelliklerinin daha iyi olduğu belirlenmiştir. Çok katmanlı nano yapılara zein ilave edilmesi daha iyi su buharı bariyer özelliği görülmesini sağlamıştır [Fabra vd., 2014]. Bunun dışında kuru ortamlarda zein daha iyi bariyer özelliklerine sahiptir [Cho vd., 2002].

4.2.7. Antimikrobiyal Aktivite

Karvakrol içeren ve içermeyen elektro eğirme ile üretilmiş lif yapılarında antimikrobiyal aktivite tespiti iki test mikroorganizması *E. coli* (gram-negatif) ve *S. aureus* (gram-pozitif) kullanılarak agar disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Mikroorganizma ekimi yapılmış Mueller-Hinton Agar plağı üzerine yerleştirilen karvakrol içeren disklerin çevresinde berrak zon oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.11). Ortalama zon çapının değişimi Çizelge 4.7’de verilmiştir. Karvakrolün *E. coli* gelişimi üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu antimikrobiyal etki karvakrolün sitoplazmik membranı depolarize edebilmesi ve geçirgenlik özelliğinden ötürü meydana gelmektedir. Yapılan çalışmalarda proteinlerin çöktürülmesiyle beraber hücrenin dış duvarında koagule olmuş materyal gözlemlenmiştir. [Xu vd., 2008].

Karvakrolün *S. aureus* bakterilerinin inhibisyonunda önemli ölçüde etkili olduğu ortaya çıkmıştır. Karvakrol gram negatif bakterilerinde daha az etki gösterdiği belirlenmiştir. Gram negatif bakterileri hücre zarında dış lipopolisakkarit tabakaya sahip olduğundan hidrofobik bileşiklerin hücre içi ortama difüzyonunu sınırlandırmakta ve bu nedenle karvakrolün antimikrobiyal etkisi azalmaktadır [Rosa vd., 2015]. Karvakrol gram negatif bakterilerinin dış zarlarını parçalama özelliğinde olup sitoplazmik zar boyunca ATP geçişini arttırarak hücrenin pasif geçirgenliğini değiştirmektedir [Smith-Palmer vd., 1998]. Lipofilik karvakrol yapısı mikroorganizmanın fosfolipit zar bileşenleri ile etkileşim gösterir ve zar yapısında

değişim oluşur [Ultee vd., 2000]. Karvakrol delokalize olmuş elektron yapısı ve hidroksil gruplarından dolayı antimikrobiyal aktivite gösterir [Lambert vd., 2001]. Karvakrol geçirgen zar yapısında olmakla beraber katyon taşıyıcı şeklinde hareket etmektedir ve sitoplazmik zar boyunca difüze olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Karvakrol sitoplazmaya hidroksil protonu vermekte hidroksil iyonunu dış ortama taşımaktadır [Ultee vd., 2002].



Şekil 4.11. Karvakrol içermeyen (a, deney 11) ve içeren (b, deney 9) nanolif yapısının *E. coli* ve *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etkisi

Çizelge 4.7. Elektro eğirme yöntemiyle üretilen nanolifli yüzeylerin mikroorganizmalara göre oluşturdukları zon çapları

| Zein konsantrasyonu (%) | Karvakrol miktarı (%) | Zon çapı (mm) | |
|-------------------------|-----------------------|-----------------|---------------|
| | | <i>S.aureus</i> | <i>E.coli</i> |
| 36 | 7 | 64 | 43 |
| 34 | 0 | 0 | 0 |

Karvakrol yüklü zein nanoyapıları karvakrol bulunmayan kontrol grubuyla karşılaştırılmış *E. coli* konsantrasyonunda azalma olduğu elde edilen analiz değerlerinde *E. coli* konsantrasyonu 0.8-1.8 log CFU/ml arasında değişiklik göstermiştir [Wu vd., 2012, Mastromatteo vd., 2009]. Araştırmacılar kitosan hidroksi propil siklodekstrin filmlerine karvakrol ekleyerek yaptıkları çalışmada *E. coli* ve *S. aureus* zon çaplarının 67-85 mm arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Sekiz günlük süre sonunda filmlerdeki % 93 karvakrol azalmasıyla *S. aureus* ve *E. coli* zon çaplarının sırasıyla 64 ve 66 mm olduğu belirtilmiştir [Higueras vd., 2015]. Ortalama zon çapının değişimi ve liflerdeki karvakrol miktarı Çizelge 4.7'de görülmektedir. Liflerin antimikrobiyal özelliğinin *S. aureus* üzerinde daha etkili olduğu belirlenmiştir. Gram negatif bakterilerinin daha yüksek dirence sahip olmasından dolayı karvakrol *E. coli* üzerinde daha düşük antimikrobiyal aktivite gösterir. Filmlerde kullanılan yüksek karvakrol konsantrasyonlarının *E. coli* inhibisyonu üzerinde büyük etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir [Becerril vd., 2007].

Yapılan başka bir çalışmada % 8 karvakrol yüklü polipropilen filmlerinin *S. aureus* ve *E. coli* üzerine etkisi agar disk difüzyon yöntemi uygulanarak belirlenmiştir. Araştırma sonucuna göre % 8 karvakrol içeren polipropilen filmleri %4 ve 6 karvakrol içeren polipropilen filmlerine göre *S. aureus* inhibisyonu üzerinde daha fazla etkilidir, % 8 karvakrol içeren filmlerin *E. coli* üzerinde *S. aureus* göre daha az etkili olduğu bulunmuştur [Ramos vd., 2012]. Karvakrolün gram negatif bakterileri üzerinde gram pozitif bakterilerine göre daha az etki gösterdiği belirlenmiştir. Karvakrol yüklü kitosan nano parçacıklarının *S. aureus* ve *E. coli* için minimum inhibisyon konsantrasyonu 0.257 mg/mL olarak ifade edilmiştir. Ayrıca bununla beraber *S. aureus* ve *E. coli* bakterileri için minimum

bakterisidal konsantrasyonu 4,113 ve 8,225 mg/mL olarak bulunmuştur [Keawchaon ve Yoksan, 2011]. Araştırmacılar %7 karvakrol içeren polietilen ko-vinil asetat filmlerinde *E. coli* ve *S. aureus* konsantrasyonunu 4 ve 2 log CFU/ml olarak hesaplanmıştır. Bu nano taneciklerde *E. coli* ve *S. aureus* için zon çapları 12 ve 17 mm olarak tespit edilmiştir [Nostro vd., 2012]. Yapılan araştırmalarda %10 karvakrol kullanılan çift taraflı gerdirilmiş polipropilen filmlerinin *E. coli* ve *S. aureus* üzerine etkisi incelenerek zon çapları sırasıyla 9 ± 0.8 ve 11.3 ± 1.3 mm olarak bulunmuştur [Guarda vd., 2011].



5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada tek iğneli elektro eğirme yöntemi kullanılarak zeinden karvakrol yüklü nanolifler üretilmiştir. Proses parametreleri sabit tutularak zein ve karvakrol konsantrasyonunun nanolif yapıları üzerine etkisi araştırılmıştır. Üretilen nanoliflerin morfolojik, enkapsülasyon verimi, termal ve mekanik özellikleri, su buharı geçirgenliği ve antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir.

Liflerin morfolojik yapılarının polimer konsantrasyonu ve karvakrol miktarından önemli derecede etkilendiği belirlenmiştir. Çözeltilerin reolojik özelliğinin liflerin morfolojik özelliklerini kontrol edilebildiği sonucu ortaya çıkmaktadır. Tez çalışması sonuçlarında %36 zein konsantrasyonu ve %7 karvakrol içeren çözeltiden oluşan nanoliflerin homojen yapıda ve boncuksuz olduğu gözlenmiştir.

En yüksek enkapsülasyon verimi ise %36 zein-%7 karvakrol karışımından üretilen liflerde elde edilmiştir. Karvakrol yüklü liflerin termal özelliklerinin saf zeinden elde edilen liflerin termal özelliğinden daha iyi olduğu belirlenmiştir. Zein konsantrasyonu ile karvakrol miktarı arasındaki interaksiyonun gerilim direnci üzerine etkisi önemlidir. Karvakrol ilavesi su buharı geçirgenlik özelliğinin gelişmesini sağlamıştır. Liflerin antimikrobiyal özelliğinin *E.coli* ile karşılaştırıldığında *S.aureus* üzerinde daha etkili olduğu bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlar üretilen malzemelerin gıda endüstrisinde aktif paketleme için umut verici olduğunu göstermektedir. Üretilen malzemeler belli süre depolanarak elektro eğirme nanolifleri ile enkapsüle edilen zein nanoliflerinin karvakrolü ne kadar koruduğu incelenebilir. Ayrıca üretilen malzemelerin paketleme sistemlerinde malzemenin mekanik ve fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek için ara katman olarak kullanılabilirliği araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Ahn, Y. J., Lee, S. B., Lee, H. S. and Kim, G. H. "Insecticidal and acaricidal activity of carvacrol and β -thujaplicine derived from *Thujopsis dolabrata* var. *hondai* sawdust", *Journal of Chemical Ecology*, 24(1): 81-90, (1998).
- Akay A., 2014, "Her devrin malzemesi : Akıllı polimerler", Açık Bilim, <http://www.acikbilim.com/2014/03/dosyalar/her-dervrin-malzemesi-akilli-polimerler.html> (30.12.2014)
- Akbaba G., "Yenebilir ambalajlar", *Bilim ve Teknik-Aralık*, 31-33, (2006).
- Aktas, N. and Kılıç, B. "Effect of microbial transglutaminase on thermal and electrophoretic properties of ground beef", *Food Science and Technology*, 38: 815-819, (2005).
- Aloğlu, H. Ş. and Öner, Z. "Peyniraltı suyu proteinlerinin mikroenkapsülasyon teknolojisinde kaplama materyali olarak kullanım olanakları", *Akademik Gıda*, 8(3): 38-42, (2010).
- Al-Sheibany, I. S., Kadhim, K. H. and Abdullah, A. S. "Qualitative and quantitative evaluation of some organic compounds in Iraqi thyme", *National Journal of Chemistry*, 19: 366-379, (2005).
- Altun, B. and Özcan, T. "Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu II: Kaplama materyalleri ve süt ürünlerinde uygulamalar", (2013).
- Andrady, A.L., "Science and Technology of Polymer Nanofibers", Wiley Pres., New Jersey, 403 s., (2008).
- Anonim, <http://www.nanotechproject.org/cpi-html> (2 Ocak 2015)
- Anonim, <http://inovenso.com/tr-html> (7 Şubat 2015)
- Anton, F., "Process and apparatus for preparing artificial threads". U.S.Patent No. 1, 975, 504, (1934).
- Arana-Sánchez, A., Estarrón-Espinosa, M., Obledo-Vázquez, E. N., Padilla-Camberos, E., Silva-Vázquez, R., and Lugo-Cervantes, E. "Antimicrobial and antioxidant activities of mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* HBK) with different composition when microencapsulated in β -cyclodextrin", *Letters in Applied Microbiology*, 50(6): 585-590, (2010).
- Arcan, I. and Yemenicioğlu, A. "Development of flexible zein-wax composite and zein-fatty acid blend films for controlled release of lysozyme", *Food Research International*, 51(1): 208-216, (2013).
- Arrieta, M. P., Peltzer, M. A., del Carmen Garrigós, M. and Jiménez, A. "Structure and mechanical properties of sodium and calcium caseinate edible active films with carvacrol", *Journal of Food Engineering*, 114(4): 486-494, (2013).
- Ayutsede, J., Gandhi, M., Sukigara, S., Micklus, M., Chen, H. E. and Ko, F. "Regeneration of bombyx mori silk by electrospinning. Part 3: Characterization of electrospun nonwoven mat", *Polymer*, 46(5): 1625-1634, (2005).
- Bai, J., Li, Y., Li, M., Wang, S., Zhang C. and Yang Q. "Electrospinning method for the preparation of silver chloride nanoparticles in PVP nanofiber", *Applied Surface Science*, 254(15): 4520-4523, (2008).

- Banker, G. S. "Film coating theory and practice", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(1): 81-89, (1966).
- Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D. and Idaomar, M. "Biological effects of essential oils—a review", *Food and Chemical Toxicology*, 46(2): 446-475, (2008).
- Barbosa-Cánovas, G. V. and Vega-Mercado, H. "Dehydration of foods", Springer Science and Business Media, (1996).
- Becerril, R., Gomez-Lus, R., Goni, P., Lopez, P. and Nerin, C. "Combination of analytical and microbiological techniques to study the antimicrobial activity of a new active food packaging containing cinnamon or against *E. coli* and *S. aureus*", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388(5): 1003-1011, (2007).
- Bhardwaj, N. and Kundu, S. C. "Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique ", *Biotechnology Advances*, 28: 325–347, (2010).
- Bhushani, J. A. and Anandharamakrishnan, C. "Electrospinning and electrospraying techniques: Potential food based applications", *Trends in Food Science and Technology*, 38(1): 21-33, (2014).
- Brahatheeswaran, D., Mathew, A., Aswathy, R. G., Nagaoka, Y., Venugopal, K., Yoshida, Y., Maekawa, T. and Sakthikumar, D. "Hybrid fluorescent curcumin loaded zein electrospun nanofibrous scaffold for biomedical applications", *Biomedical Materials*, 7(4): 045001, (2012).
- Britto, D., Scramin, J., Forato, L. and Assis, O., "Dynamic mechanical analysis of zein thin films", *SBPMat, Brezilya MRS Toplantısı/Rio de Janerio*, 7, (2008).
- Budi Santosa, F. X. and Padua, G. W. "Tensile properties and water absorption of zein sheets plasticized with oleic and linoleic acids", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5): 2070-2074, (1999).
- Camerlo, A., Vebert-Nardin, C., Rossi, R. M. and Popa, A. M. "Fragrance encapsulation in polymeric matrices by emulsion electrospinning", *European Polymer Journal*, 49(12): 3806-3813, (2013).
- Can, Ö. P. and Çoban, Ö. E. "Vakum Paketlemenin ve zein ile kaplamanın balık filetoalarının kalite kriterleri üzerine etkilerinin karşılaştırılması", *BİBAD, Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5(1): 87-91, (2012).
- Chami, N., Bennis, S., Chami, F., Aboussekhra, A. and Remmal, A. "Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol in vitro and in vivo", *Oral Microbiology and Immunology*, 20(2): 106-111, (2005).
- Chen, M. J. and Chen, K. N. "Applications of probiotic encapsulation in dairy products", *Encapsulation and Controlled Release Technologies In Food Systems*, 83-112, (2007).
- Chen, Y., Ye, R. and Liu, J. "Effects of different concentrations of ethanol and isopropanol on physicochemical properties of zein-based films", *Industrial Crops and Products*, 53: 140-147, (2014).
- Cho, S. Y., Park, J. W., and Rhee, C. "Properties of laminated films from whey powder and sodium caseinate mixtures and zein layers", *Food Science and Technology*, 35(2): 135-139, (2002).
- Corradini, E., de Medeiros, E. S., Carvalho, A. J. F., Curvelo, A. A. S. and Mattoso, L. H. C. "Mechanical and morphological characterization of starch/zein

- blends plasticized with glycerol", *Journal of Applied Polymer Science*, 101:4133-4139, (2006).
- Corradini, E., Curti, P. S., Meniqueti, A. B., Martins, A. F., Rubira, A. F. and Muniz, E. C. "Recent advances in food-packing, pharmaceutical and biomedical applications of zein and zein-based materials", *International Journal of Molecular Sciences*, 15(12): 22438-22470, (2014).
- Çakmakçı, E., "Elektrospinning Yöntemiyle Yeni Polimerik Malzemelerin Sentezi ve Karakterizasyonu", *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, (2009).
- Çetin, T. and Yıldız, G. "Esansiyel yağların yem katkı maddesi olarak kullanımı", *Yem Magazin*, 38: 41-47, (2004).
- Da Rosa, C. G., Maciel, M. V. D. O. B., de Carvalho, S. M., de Melo, A. P. Z., Jummes, B., da Silva, T. Martelli, Bertoldi, F. C., S. M., Villetti, M. A. and Barreto, P. L. M. "Characterization and evaluation of physicochemical and antimicrobial properties of zein nanoparticles loaded with phenolics monoterpenes", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 481: 337-344, (2015).
- Dashdorj, U., Reyes, M. K., Unnithan, A. R., Tiwari, A. P., Tumurbaatar, B., Park, C. H., and Kim, C. S. "Fabrication and characterization of electrospun zein/Ag nanocomposite mats for wound dressing applications", *International Journal of Biological Macromolecules*, 80: 1-7, (2015).
- De Carvalho, S. M., Noronha, C. M., Floriani, C. L., Lino, R. C., Rocha, G., Bellettini, I. C., Ogliari, P. J., and Barreto, P. L. M. "Optimization of α -tocopherol loaded solid lipid nanoparticles by central composite design", *Industrial Crops and Products*, 49: 278-285, (2013).
- De Oliveira Mori, C. L., Dos Passos, N. A., Oliveira, J. E., Mattoso, L. H. C., Mori, F. A., Carvalho, A. G., de Souza Fonseca, A. and Tonoli, G. H. D. "Electrospinning of zein/tannin bio-nanofibers", *Industrial Crops and Products*, 52: 298-304, (2014).
- Deitzel, J. M., Kleinmeyer, J., Haris, D. E. A. and Tan, N. B. "The effects of processing variables on the morphology of elektrospun nanofibers and textiles", *Polymer*, 42(1): 261-272, (2001).
- Demir, M. M., Yılgör, İ., Yılgör, E. E. A. and Erman, B. "Electrospinning of polyurethane fibers", *Polymer*, 43(11): 3303-3309, (2002).
- Demirel, N., "Elektro Çekim Yöntemiyle Elektromanyetik Kalkanlama Özelliğine Sahip Nanolif Üretimi", *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, (2012).
- Dickinson, E. and Yamamoto, Y. "Rheology of milk protein gels and protein-stabilized emulsion gels cross-linked with transglutaminase", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 1371-1377, (1996).
- Di Gioia, L., Cuq, B. and Guilbert, S. "Thermal properties of corn gluten meal and its proteic components", *International Journal of Biological Macromolecules*, 24(4): 341-350, (1999).
- Ding, B., Kim, H. Y., Lee, S. C., Lee, D. R. and Choi, K. J. "Preparation and characterization of nanoscaled poly(vinyl alcohol) fibers via electrospinning", *Fiber Polym*, 3: 73-79, (2002).

- Dinç H., "Polivinil Borat Sentezi: Elektrospin Yöntemiyle Nanofiber Hazırlanması ve Karakterizasyonu", Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, (2013).
- Dong, Z.J., Xia, S.Q., Hua, S., Hayat, K., Zhang, X.M. and Xu, S.Y. "Optimization of cross-linking parameters during production of transglutaminase-hardened spherical multinuclear microcapsules by complex coacervation", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 63: 41–47, (2008).
- Dong, Z., Kennedy, S. J. and Wu, Y. "Electrospinning materials for energy-related applications and devices", *Journal of Power Sources*, 196(11): 4886–4904, (2011).
- Donsi, F., Annunziata, M., Vincensi, M. and Ferrari, G. "Design of nanoemulsion-based delivery systems of natural antimicrobials: Effect of the emulsifier", *Journal of Biotechnology*, 159(4): 342-350, (2012).
- Doshi, J. and Reneker, D. H. "Electrospinning process and applications of electrospun fiber", *Journal of Electrostatics*, 35: 151–160, (1995).
- Duan, B., Wu, L. L., Yuan, X. Y. and Yao, K. D "Electrospinning of chitosan solutions in acetic acid with poly(ethylene oxide)", *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition*, 15(6): 797, (2004).
- Dursun, S., Erkan, N. and Yeşiltaş, M. "Doğal Biyopolimer Bazlı (Biyobozunur) Nanokompozit Filmler ve Su Ürünlerindeki Uygulamaları", *Journal of Fisheries Sciences*, 4(1): 50-77, (2010).
- Duvick, D. N. "Protein granules of maize endosperm cells", *Cereal Chem.*, 38(3): 4-385, (1961).
- Erdal M. O., "Elektrospin Yöntemiyle Termoelektrik Nanoyapılar Üretimi ve Karakterizasyonu", Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, (2013).
- Fabra, M. J., Lopez-Rubio, A. and Lagaron, J. M. "Nanostructured interlayers of zein to improve the barrier properties of high barrier polyhydroxyalkanoates and other polyesters", *Journal of Food Engineering*, 127: 1-9, (2014).
- Feynman, R. P. "There's plenty of room at the bottom", *Engineering and Science*, 23(5): 22-36, (1960).
- Fevzioglu, M., Hamaker, B. R. and Campanella, O. H. "Gliadin and zein show similar and improved rheological behavior when mixed with high molecular weight glutenin", *Journal of Cereal Science*, 55(3): 265-271, (2012).
- Garg, K., and Bowlin, G.L. "Electrospinning jets and nanofibrous structures", *Biomicrofluidics*, 5(1): 013403, (2011).
- Ghanbarzadeh, B., Oromiehie, A. R., Musavi, M., D-Jomeh, Z. Rad, E. R. and Milani, J. "Effect of plasticizing sugars on rheological and thermal properties of zein resins and mechanical properties of zein films", *Food Research International*, 39(8): 882-890, (2006).
- Ghanbarzadeh, B. And Oromiehi, A. R. "Thermal and mechanical behavior of laminated protein films", *Journal of Food Engineering*, 90: 517-524, (2009).
- Gopal, R., Zuwei, M., Kaur, S. and Ramakrishna, S. "Surface Modification and Application of Functionalized Polymer Nanofibers", *Molecular Building Blocks for Nanotechnology*, Springer New York, 72-91, (2007).
- Gorham, J., "Analysis of Indian corn", *Q. J. Sci. Lit. Arts*, 11: 206-208, (1821).

- Gökmen, S., Palamutoğlu, R. and Sarıçoban, C. "Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları", *Electronic Journal of Food Technologies*, 7(1): 36-50, (2012).
- Guarda, A., Rubilar, J. F., Miltz, J. and Galotto, M. J. "The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol", *International Journal of Food Microbiology*, 146(2): 144-150, (2011).
- Guichard, E. "Flavour retention and release from protein solutions", *Biotechnol. Adv*, 24: 226–229, (2006).
- Gülmez M., "Elektro eğirme (Elektrospinning) Makinası Tasarımı ve Kontrolü", *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Mekatronik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, (2013).
- Gündüz A., "Elektrospinning Yöntemiyle Biyobozunur PCL Polimeri Kullanılarak Nanolif Tekstil Yüzeylerinin Üretilmesi ve Üretim Parametrelerinin Araştırılması", *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, (2014).
- Haghi, A.K. and Akbari M. "Trends in electrospinning of natural nanofibers", *Physica Status Solidi (a)*, 204(6): 1830-1834, (2007).
- Hayati, I., Bailey, A. I. and Tadros T. F. "Mechanism of stable jet formation in electrohydrodynamic atomization", *Nature*, 319(6048): 41-43 (1986).
- He, W., Yong, T., Teo, W. E., Ma, Z. W. and Ramakrishna, S. "Fabrication and endothelialization of collagen-blended biodegradable polymer nanofibers: Potential vascular graft for blood vessel tissue engineering", *Tissue Engineering*, 11(9-10): 1574, (2005).
- Heidebach, T., Först, P. and Kulozik, U. "Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microencapsulation of probiotic cells", *International Dairy Journal*, 19: 77–84, (2009).
- Helander, I. M., Alakomi, H. L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M. and von Wright, A. "Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9): 3590-3595, (1998).
- Higueras, L., López-Carballo, G., Gavara, R. and Hernández-Muñoz, P. "Incorporation of hydroxypropyl- β -cyclodextrins into chitosan films to tailor loading capacity for active aroma compound carvacrol", *Food Hydrocolloids*, 43: 603-611, (2015).
- Hu, K. and McClements, D. J. "Fabrication of surfactant-stabilized zein nanoparticles: a pH modulated antisolvent precipitation method", *Food Research International*, 64: 329-335, (2014).
- Huang, Z. M., He, C. L., Yang, A., Zhang, Y., Han, X. J. and Yin, J. "Encapsulating drugs in biodegradable ultrafine fibers through co-axial electrospinning", *Journal of Biomedical Materials Research A*, 77: 169-179, (2006).
- İçoğlu H.İ., "Elektrospin Yönteminde Çevresel Parametrelerin Nanolif Özellikleri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi", *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, (2014).
- Islam, M. S. and Karim, M. R. "Fabrication and characterization of poly(vinyl alcohol)/alginate blend nanofibers by electrospinning method", *Colloids Surf. A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 366(1): 135-140, (2010).

- Jahangiri, S., "Investigation of The Effect of Electrospinning Parameters on Polyurethane Nanofiber Diameter and Fiber Morphology", İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, (2013).
- Juven, B. J., Kanner, J., Schved, F. and Weisslowicz, H. "Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents", Journal of Applied Bacteriology, 76(6): 626-631, (1994).
- Karatzas, A. K., Kets, E. P. W., Smid, E. J. and Bennik, M. H. J. "The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes* Scott A", Journal of Applied Microbiology, 90(3): 463-469, (2001).
- Kayaci, F. and Uyar, T. "Electrospun zein nanofibers incorporating cyclodextrins", Carbohydrate polymers, 90(1): 558-568, (2012).
- Kazaroğlu N.M., "Yara Örtüleri İçin Alternatif Doku İskeleleri", Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, (2009).
- Keawchaon, L. and Yoksan, R. . "Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 84(1): 163-171, (2011).
- Kepekçi D.B., "Elektro eğirme Yöntemiyle Lnp Nanoliflerin Üretimi ve Karakterizasyonu", Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, (2011).
- Kırıştı M., "Plazma Muamele Edilmiş Kitosan/İletken Polimer Kompozit Nanoliflerinin Elektro eğirme Yöntemi İle Hazırlanması ve Özelliklerinin İncelenmesi", Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, (2011).
- Ki, C. S., Baek, D. H., Gang, K. D., Lee, K. H., Um, I. C. and Park, Y. H. "Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution", Polymer, 46(14): 5094-5102 (2005).
- Kim, J., Marshall, M. R. and Wei, C. I. "Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43(11): 2839-2845, (1995).
- Kirecci, A., Özkoç, Ü. and İçoğlu, H. İ. "Determination of optimal production parameters for polyacrylonitrile nanofibers". Journal of Applied Polymer Science, 124(6): 4961-4968, (2012).
- Koç, M., Met, A., Sakin, M. and Kaymak, F. "Balık Yağının Dondurarak Kurutma Yöntemiyle Mikroenkapsüle Edilmesi", Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, Erzurum, Türkiye, 643-646, (2008).
- Koç, M., Sakin, M. and Ertekin, F. K. "Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı", Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16(1): 77-86, (2010).
- Kong, L. and Ziegler, G. R. "Fabrication of pure starch fibers by electrospinning", Food Hydrocolloids, 36: 20-25, (2014).
- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M. and Mete, E. "Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene", Bioresource Technology, 99(18): 8788-8795, (2008).

- Kozanoğlu, S. G., "Elektrospinning Yöntemiyle Nanolif Üretim Teknolojisi", İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, (2006).
- Kriegel, C., Arrechi, A., Kit, K., McClements, D. J. and Weiss, J. "Fabrication, functionalization, and application of electrospun biopolymer nanofibers", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(8): 775–797, (2008).
- Krochta, J. M. and De Mulder-Johnston, D. E. "Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities", *Food Technology*, 51: 61–74 (1997).
- Kurtalan S., "İyon İmplantasyonu ile Modifiye Edilmiş Elektro eğirme Yöntemiyle Elde Edilen Doku İskelelerinin Hücre Çoğalmasına Etkilerinin Araştırılması", Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, (2013).
- Kut, D. and Güneşoğlu, C. "Nanoteknoloji ve tekstil sektöründeki uygulamaları". *Tekstil ve Teknik Dergisi*, Şubat, İstanbul, 224-230, (2005).
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J. and Nychas, G. J. "A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol", *Journal of Applied Microbiology*, 91(3): 453-462, (2001).
- Lawton, J. W. "Plasticizers for zein: Their effect on tensile properties and water absorption of zein films", *Cereal Chemistry*, 81(1): 1-5, (2004).
- Li, D. and Xia, Y. "Electrospinning of nanofibers reinventing the wheel", *Advanced Materials*, 16(14): 1151-1170 (2004).
- Li, X.-G. "Reaction Function Polymer", 42:53, (1999).
- Li, Y., Lim L. T. and Kakuda Y. "Electrospun zein fibers as carriers to stabilize (-)-epigallocatechin gallate", *Journal of Food Science*, 74(3): C233-C240, (2009).
- Li, Y., Xia, Q., Shi, K. and Huang, Q. "Scaling behaviors of α -zein in acetic acid solutions", *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(32): 9695-9702,(2011).
- Lindberg, C. M., Melathopoulos, A. P. and Winston, M. L. "Laboratory evaluation of miticides to control *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae), a honey bee (Hymenoptera: Apidae) parasite", *Journal of Economic Entomology*, 93(2): 189-198, (2000).
- Lizarraga, M. S., Vicin, D. D. P., Gonzalez, R., Rubiolo, A. and Santiago, L. G. "Rheological behaviour of whey protein concentrate and λ -carrageenan aqueous mixtures", *Food Hydrocolloids*, 20(5): 740-748, (2006).
- Lorenzen, P.C., Neve, H., Mautner, A. and Schlimme, E. "Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt", *International of Dairy Technology*, 55(3): 152-157, (2002).
- Lu, J., Zhu, Y., Guo, Z., Hu, P., and Yu, J. "Electrospinning of sodium alginate with poly(ethylene oxide) ", *Polymer*, 47: 8026-8031, (2006).
- Luo, Y., Teng, Z. and Wang, Q. "Development of zein nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(3): 836-843, (2012).
- Luo, Y. and Wang, Q. "Zein-based micro-and nano-particles for drug and nutrient delivery: A review", *Journal of Applied Polymer Science*, 131: (16), (2014).

- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. and Desobry, S. "Flavour encapsulation and controlled release—a review", *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1): 1-21, (2006).
- Magee, E. L. and Olson, N. F. "Microencapsulation of cheese ripening systems: formation of microcapsules", *Journal of Dairy Science*, 64(4): 600-610, (1981).
- Magoshi, J., Nakamura, S. and Murakami, K. I. "Structure and physical properties of seed proteins. I. glass transition and crystallization of zein protein from corn", *Journal of Applied Polymer Science*, 45(11): 2043-2048, (1992).
- Mascheroni, E., Chalier, P., Gontard, N. and Gastaldi, E. "Designing of a wheat gluten/montmorillonite based system as carvacrol carrier: Rheological and structural properties", *Food Hydrocolloids*, 24(4): 406-413, (2010).
- Mascheroni, E., Guillard, V., Gastaldi, E., Gontard, N. and Chalier, P. "Anti-microbial effectiveness of relative humidity-controlled carvacrol release from wheat gluten/montmorillonite coated papers", *Food Control*, 22(10): 1582-1591, (2011).
- Mastromatteo, M., Barbuzzi, G., Conte, A. and Del Nobile, M. A. "Controlled release of thymol from zein based film", *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(2): 222-227, (2009).
- Mejia, C. D., Gonzalez, D. C., Mauer, L. J., Campanella, O. H. and Hamaker, B. R. "Increasing and stabilizing β -sheet structure of maize zein causes improvement in its rheological properties", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(9): 2316-2321, (2012).
- Mit-uppatham, C., Nithitanakul, M. and Supaphol, P., "Ultrafine Electrospun Polyamide-6 Fibers: Effect of Solution Conditions on Morphology and Average Fiber Diameter", *Macromolecular Chemistry and Physics*, 205(17): 2327-2338, (2004).
- Miyoshi, T., Toyohara, K. and Minematsu, H. "Preparation of ultrafine fibrous zein membranes via electrospinning", *Polymer International*, 54(8): 1187-1190, (2005).
- Moomand K. and, Lim L. T. " Oxidative stability of encapsulated fish oil in electrospun zein fibres", *Food Research Interntional*, 62: 523-532, (2014).
- Moon, S. and Farris, R.J. "Electrospinning of Heated Gelatin-Sodium Alginate-Water Solutions", *Polymer Engineering and Science*. 49(8): 1616-1620, (2009).
- Moreau, D. L. and Rosenberg, M. "Oxidative stability of anhydrous milkfat microencapsulated in whey proteins", *Journal of Food Science*, 61(1): 39-43, (1996).
- Mori, C.O., Passos, N.A., Oliveira, J.E., Mattoso, L.H.C., Mori, F.A. "Electrospinning of zein/tannin bio-nanofibers", *Industrial Crops and Products*, 52:298-304, (2014).
- Muthuselvi, L. and Dhathathreyan, A. "Simple coacervates of zein to encapsulate Gitoxin", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 51(1): 39-43, (2006).
- Neo, Y. P., Ray, S., Easteal, A. J., Nikolaidis, M. G. and Quek, S. Y. "Influence of solution and processing parameters towards the fabrication of electrospun zein fibers with sub-micron diameter", *Journal of Food Engineering*, 109(4): 645-651, (2012).

- Neo, Y. P., Ray, S., Jin, J., Gizdavic-Nikolaidis, M., Nieuwoudt, M. K., Liu, D. and Quek, S. Y. "Encapsulation of food grade antioxidant in natural biopolymer by electrospinning technique: A physicochemical study based on zein-gallic acid system", *Food chemistry*, 136(2): 1013-1021, (2013).
- Nieuwland, M., Geerdink, P., Brier, P., van den Eijnden, P., Henket, J. T., Langelaan, M. L., Stroeks, N., van Deventer, H. C. and Martin, A. H. "Reprint of food-grade electrospinning of proteins", *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 24: 138-144, (2014).
- Nostro, A., Scaffaro, R., Arrigo, M. D., Botta, L., Filocamo, A., Marino, A. and Bisignano, G. "Study on carvacrol and cinnamaldehyde polymeric films: Mechanical properties, release kinetics and antibacterial and antibiofilm activities", *Applied Microbial and Cell Physiology*, 96: 1029-1038, (2012).
- Okutan, N., Terzi, P. and Altay, F. "Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers", *Food Hydrocolloids*, 39: 19-26, (2014).
- Özer, Y., "Nanobilim ve Nanoteknoloji: Ülke Güvenliği/Etkinliği Açısından Doğru Modelin Belirlenmesi", T. C. Kara Harp Okulu Savunma Bilimleri Enstitüsü Teknoloji Yönetimi Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, (2008).
- Paipitak, K., Pornpra, T., Mongkontalang, P., Techitdheer, W. and Pecharapa, W. "Characterization of PVA-chitosan nanofibers prepared by electrospinning", *Procedia Engineering*, 8: 101–105, (2011).
- Pakravan, M., Heuzey, M. C. and Aji, A. "A fundamental study of chitosan/PEO electrospinning", *Polymer*, 52(21): 4813-4824, (2011).
- Panella, N. A., Dolan, M. C., Karchesy, J. J., Xiong, Y., Peralta-Cruz, J., Khasawneh, M., Monteneri, J. A. and Maupin, G. O. "Use of novel compounds for pest control: Insecticidal and acaricidal activity of essential oil components from heartwood of Alaska yellow cedar", *Journal of Medical Entomology*, 42(3): 352-358,(2005).
- Park, H. Y., Kim, S. J., Kim, K. M., You, Y. S., Kim, S. Y. and Han, J. "Development of antioxidant packaging material by applying corn-zein to LLDPE film in combination with phenolic compounds", *Journal of Food Science*, 77(10): E273-E279, (2012).
- Pérez-Masiá, R., López-Rubio, A. and Lagarón, J. M. "Development of zein-based heat-management structures for smart food packaging", *Food Hydrocolloids*, 30(1): 182-191, (2013).
- Quintero R. I., Rodriguez F., Bruna J., Guarda A. and Galotto M. J. 2013. "Cellulose acetate butyrate nanocomposites with antimicrobial properties for food packaging", *Packaging Technology and Science*, 26: 249–265, (2013).
- Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W. E., Lim, T. C. and Ma, Z. "An Introduction to Electrospinning and Nanofibers", World Scientific Publishing Company, Singapore, 135-137, (2005).
- Ramos, M., Jimenez, A., Peltzer, M. and Garrigos, M. C. "Characterization and antimicrobial activity studies of polypropylene films with carvacrol and thymol for active packaging", *Journal of Food Engineering*, 109:513-519, (2012).
- Rao, S.L. "Development of Novel Zein-Cellulose Nanocomposite Films", M.Sc. Thesis, Graduate School-New Brunswick Rutgers, The State University of New Jersey, (2013).

- Reneker, D. H., and Yarin A. L. "Electrospinning jets and polymer nanofibers", *Polymer*, 49(10): 2387-2425, (2008).
- Rhim, J. W., Hong, S. I., Park, H. M. and Ng, K. W. "Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(16): 5814-5822, (2006).
- Rhim, J. W. and Ng, P. K. W. "Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(4): 411-433, (2007).
- Santosa, F. X. and Padua, G. W. "Tensile properties and water absorption of zein sheets plasticized with oleic and linoleic acids", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:2070–2074, (1999).
- Selbes M., 2013, "Elektro eğirme Yöntemiyle Nanofiber Tabakalı Hava Filtresi Üretimi ve Performans Testleri ", *Makine Mühendisliği Anabilim, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Makine Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, (2013).
- Selling, G. W., Woods, K. K., Sessa, D. And Biswas, A. "Electrospun zein fibers using glutaraldehyde as the crosslinking reagent: Effect of time and temperature", *Macromolecular Chemistry and Physics*, 209(10): 1003-1011, (2008).
- Shi, K., Yu, H., Lakshmana Rao, S., and Lee, T. C. "Improved mechanical property and water resistance of zein films by plasticization with tributyl citrate", *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 60(23): 5988-5993, (2012).
- Shin, Y. M., Hohman, M. M., Brenner, M. P. and Rutledge, G. C. "Experimental characterization of electrospinning: the electrically forced jet and instabilities", *Polymer*, 42(25): 09955-09967, (2001).
- Shukla, R. and Cheryan, M. "Zein: The industrial protein from corn", *Industrial Crops and Products*, 13(3): 171-192, (2001).
- Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. " Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important foodborne pathogens, *Letters in Applied Microbiology*", 26: 118-122, (1998).
- Son, W. K, Youk, J. H., Lee, T. S. and Park, W. H. "The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly (ethylene oxide) fibers", *Polymer*, 45(9): 2959-2966, (2004).
- Soper, J.C. and Thomas, M.T. "Enzymatically protein encapsulating oil particles by complex coacervation", U.S. Patent 6,039,901, (2000).
- Sönmez, S., Kahraman, F., Kırman, H., Yıldız, S., Sakıcı, S. and Özkuleli, A. "Nanoteknolojinin sağlıkta kullanımı", *Adnan Menderes Üniversitesi Aydın Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü*, 2009.
- Sözer, N. and Kokini, J. L. "Nanotechnology and its applications in the food sector", *Trends in Biotechnology*, 27(2): 82-89, (2008).
- Su, P., Wang, C., Yang, X., Chen, X., Gao, C., Feng, X. X., Chen, J. Y., Ye, J. and Gou, Z. "Electrospinning of chitosan nanofibers: The favorable effect of metal ions", *Carbohydrate Polymers*, 84(1): 239–246, (2011).
- Sukigara, S., Gandhi, M., Ayutsede, J., Micklus, M. and Ko, F. "Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning—part 1: processing parameters and geometric properties", *Polymer*, 44(19): 5721-5727, (2003).

- Süpüren G., Kanat, E., Çay, A., Kırıcı, T., Gülümser, T. and Tarakçıoğlu, I. "Nanolifler (Bölüm 2) ", *Tekstil ve Konfeksiyon*, 2: 83-89, (2007).
- Tachiba, H., Mihara, S., Nakanishi and Masayuki, J.P. Patent- 047432, (2003).
- Tampieri, M. P., Galuppi, R., Macchioni, F., Carelle, M. S., Falcioni, L., Cioni, P. L. and Morelli, I. "The inhibition of candida albicans by selected essential oils and their major components", *Mycopathologia*, 159(3): 339-345, (2005).
- Taniguchi, N., "On the Basic Concept of Nano-Technology", *Proc. Intl. Conf.,Prod. London, Part II, British Society of Precision Engineering*, (1974).
- Torres-Giner, S., Gimenez, E., and Lagarón, J. M. "Characterization of the morphology and thermal properties of zein prolamine nanostructures obtained by electrospinning", *Food Hydrocolloids*, 22(4): 601-614, (2008).
- Torres-Giner, S., Ocio, M. J., and Lagaron, J. M. "Novel antimicrobial ultrathin structures of zein/chitosan blends obtained by electrospinning", *Carbohydrate Polymers*, 77(2): 261-266, (2009).
- Tunç, S. and Duman, O. "Preparation of active antimicrobial methyl cellulose/carvacrol/montmorillonite nanocomposite films and investigation of carvacrol release", *LWT-Food Science and Technology*, 44(2): 465-472, (2011).
- Ultee, A., Slump, R. A., Steging, G. and Smid, E. J. "Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice", *Journal of Food Protection*, 63(5): 620-624, (2000).
- Ultee, A. and Smid, E. J. "Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*", *International Journal of Food Microbiology*, 64(3): 373-378, (2001).
- Ultee, A., Bennik, M. H. J. and Moezelaar, R. "The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*", *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4): 1561-1568, (2002).
- Üstündağ, G. C. And Karaca, E. "Investigation of Nanofibrous Mats Produced from Poly (vinyl alcohol)/Sodium Alginate Blends by Using Electrospinning Method", *Uludağ University Journal of The Faculty of Engineering*, 14(1), (2009).
- Wallace, G. G., Higgins, M. J., Moulton, S. E., and C. Wang, C. "Nanobionics: The impact of nanotechnology on implantable medical bionic devices", *Nanoscale*, 4(15): 4327-4347, (2012).
- Wongsasulak, S., Patapeejumruswong, M., Weiss, J., Supaphol, P., Yoovidhya, T. "Electrospinning of food-grade nanofibers from cellulose acetate and egg albumen blends", *Journal of Food Engineering*, 98: 370-376, (2010).
- Wu, Y., Luo, Y. and Wang, Q. "Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid dispersion method ", *LWT-Food Science and Technology*, 48(2): 283-290, (2012).
- Wu, Y. "Development of Encapsulation Systems from Zein and Metal-Organic Frameworks (MOFs) for Improved Functional Properties of Essential Oils", *Department of Nutrition and Food Science, PhD Thesis*, (2013).
- Xu, J., Zhou, F., Ji, B. P., Pei, R. S. and Xu, N. "The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*", *Letters in Applied Microbiology*, 47(3): 174-179, (2008).

- Young, S. L., Sarda, X. and Rosenberg, M. 1993. "Microencapsulating properties of whey proteins 1. Microencapsulation of anhydrous milk fat", *J. Dairy Sci*, (76): 2868–2877, (1993).
- Zhang, B., Luo, Y. and Wang, Q. "Effect of acid and base treatments on structural, rheological, and antioxidant properties of α -zein", *Food Chemistry*, 124(1): 210-220, (2011).
- Zhang, S., Shim W.,S. and Kim, J. "Design of ultra-fine nonwovens viaelectrospinning of Nylon 6: Spinning parameters and filtration efficiency", *Material and Design*, 30(9): 3659-3666, (2009).
- Zhao, R., Torley, P., Halley, P. J. Emerging biodegradable materials: Starch- and protein-based bio-nanocomposites, *Journal of Materials Science*, 43: 3058-3071, (2008).
- Ziğal, N., "Nanolif Kaplı Kuvars Kristal Mikroterazi Yüzeyler ile Kütle Hassas Biyosensörlerin Performansının Geliştirilmesi", *Hacettepe Üniversitesi Fen Yüksek Lisans Tezi, Ankara*, s.45-87, (2012).
- Zivanovic, S., Li, J., Davidson, P. M. and Ki, K. "Physical, mechanical, and antibacterial properties of chitosan/PEO blend films", *Biomacromolecules*, 8: 1505-1510, (2007).
- Zong, X., Kim, K., Fang, D., Ran, S., Hsiao, B.S. and Chu, B. "Structure and process relationship of Electrospun bioabsorbable nanofiber membranes", *Polymer*, 43(16): 4403-4412, (2002).

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Adı Soyadı: ÖZLEM ÇAYIR

Doğum Tarihi: 12/06/1985

Öğrenim Durumu:

| Derece | Bölüm/Program | Üniversite | Yıl |
|---------------|-------------------|------------------------------|-----------|
| Lise | Matematik/Fen | Giresun Atatürk Süper Lisesi | 1999-2003 |
| Lisans | Gıda Mühendisliği | Gaziantep Üniversitesi | 2004-2009 |
| Yüksek Lisans | Gıda Mühendisliği | Mersin Üniversitesi | 2013-2015 |

(Varsa) Görevler:

| Görev Unvanı | Görev Yeri | Yıl |
|--------------|---|--------|
| Arş. Gör. | Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği | 2013 - |

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

1. ÇAYIR, Ö., ATAY, E., ALTAN, A., "Encapsulation of Carvacrol in Electropun Zein Nanofibers," 29th EFFoST Conference: Food Science Research and Innovation: Delivering sustainable solutions to the global economy and society, Conference Proceedings-Volume I, 306-311, Elsevier, Athens, Greece, 10-12 November 2015.
2. ALTAN, A., ÇAYIR, Ö. ve ATAY, E. "Biyopolimer Bazlı Nanolifli Yüzeylerin Üretimi, Raf Ömrü Üzerinde Etkisinin ve Ambalaj Materyali Olanığının Araştırılması", Mersin Üniversitesi Teknoloji Transfer Ofisi Ar-ge Proje Pazarı, 7-8 Mayıs, Mersin, 2015.
3. ATAY, E., ÇAYIR, Ö., ALTAN, A., "Koaksiyal Elektropsun Nanoyapıların Gıda Uygulamalarındaki Potansiyelinin Araştırılması", 5. Gıda Güvenliği Kongresi, S.118, İstanbul, 7-8 Mayıs 2015. (İKİNCİLİK ÖDÜLÜ)
4. ÇAYIR, Ö., AK, G., ATAY, E., ALTAN, A., "The Effect of Processing Parameters on Morphology of Electrospun Zein Nanofiber", 2nd International Congress on Food Technology, P314, Kuşadası, Turkey, 05-07 November 2014. (İKİNCİLİK ÖDÜLÜ)
5. HERKEN, E. N. ve ÇAYIR, Ö. "Breakfast Culture in Anatolia", 2. Uluslar arası Adرياتik'ten Kafkaslara Geleneksel Gıda Sempozyumu, 24-26 Ekim, Ohrid, 2013.