

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİMOL YÜKLÜ NANOLİF FİLM ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE
KAŞAR PEYNİRİ YÜZEYİNDE ANTİFUNGAL KAPLAMA MATERYALİ
OLARAK KULLANILMASI

NEVRUZ BERNA TATLISU

DOKTORA TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Prof. Dr. Muhammet ARICI

Eş Danışman

Prof. Dr. Mustafa Tahsin YILMAZ

Temmuz, 2019

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TİMOL YÜKLÜ NANOLİF FİLM ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE
KAŞAR PEYNİRİ YÜZEYİNDE ANTİFUNGAL KAPLAMA MATERYALİ
OLARAK KULLANILMASI**

Nevruz Berna TATLISU tarafından hazırlanan tez çalışması 10.07.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Muhammet ARICI
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Prof. Dr. Mustafa Tahsin YILMAZ
Yıldız Teknik Üniversitesi
Eş Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Muhammet Arıcı, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Tuncay GÜMÜŞ, Üye
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Doktor Öğretim Üyesi Banu METİN, Üye
İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi

Doktor Öğretim Üyesi Salih KARASU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Muhammet ARICI ve Eş Danışmanım Prof. Dr. Mustafa Tahsin YILMAZ sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Timol Yüklü Nanolif Film Üretimi, Karakterizasyonu ve Kaşar Peyniri Yüzeyinde Antifungal Kaplama Materyali Olarak Kullanılması başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Nevruz Berna TATLISU

İmza

Aileme



TEŞEKKÜR

Tez konumun araştırma çalışmalarında hiçbir desteğini esirgemeyen ömür boyu haklarını üzerimde taşıyacağım saygıdeğer ve çok kıymetli hocalarım, tez danışmanlarım Prof. Dr. Muhammet Arıcı ve Prof. Dr. Mustafa Tahsin Yılmaz'a, analizlerim süresince her zaman her konuda yardımcı olan kıymetli hoca arkadaşlarım Arş. Gör. Perihan Kübra Çiçek ve Arş. Gör. Fatih Bozkurt'a, çok kıymetli jüri üyelerim Prof. Dr. Osman Sağdıç, Prof. Dr. Tuncay Gümüş, Dr. Öğr. Üyesi Banu Metin, Dr. Öğr. Üyesi Salih Karasu'ya ve İstanbul'da ki ilk yuvam olan Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü idaresine ve öğretim üyelerinin her birine her zaman desteklerini omzumda hissettirdikleri için çok teşekkür ederim. Ayrıca bu zorlu ve uzun süreçte sabırla ve sevgiyle yanımda olan sevgili eşim Enver Tatlısu'ya çok teşekkür ederim.

Nevruz Berna TATLISU

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ.....	VIII
KISALTMA LİSTESİ	IX
ŞEKİL LİSTESİ	X
TABLO LİSTESİ	XII
ÖZET.....	XIII
ABSTRACT	XV
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı	4
1.3 Hipotez	5
2. KURAMSAL TEMELLER	6
2.1 Nanoteknoloji Tarihi ve Günümüzdeki Yeri.....	6
2.1.1 Nanoteknolojinin Gıda Teknolojisi ile Etkileşimi	8
2.1.2 Nanoteknolojinin Diğer Bilimlerle Etkileşimi	12
2.2 Nanoyapılar	13
2.2.1 Nanoemülsiyonlar	13
2.2.2 Nanoparçacıklar	15
2.2.3 Nanoteller	15
2.2.4 Nanotüpler.....	16
2.2.5 Nanoporlar.....	17
2.2.6 Nanolifler.....	18
2.3 Nanoliflerin Üretim Yöntemleri.....	19
2.3.1 Kendiliğinden Tutunma Metodu	19
2.3.2 Faz Ayırımı Metodu.....	20
2.3.3 Şablon Sentez Metodu.....	20

2.3.4	Çekme Metodu	21
2.3.5	Elektrospın Metodu	21
2.4	PVA.....	26
2.4.1	PVA'nın Kimyasal Yapısı.....	26
2.4.2	PVA'nın Nanoteknoloji ile İlişkisi	27
2.5	Timol	29
2.5.1	Timolün Kimyasal Yapısı.....	29
2.5.2	Timolün Gıda Teknolojisi Çalışmalarındaki Yeri	30
2.6	Peynir Altı Suyu Proteinleri (PASP)	32
2.6.1	PAS Proteinlerinin Kimyasal Yapısı.....	32
2.6.2	PAS Proteinlerinin Gıda Teknolojisindeki Yeri ve Önemi	33
2.7	Kaşar Peyniri.....	35
2.7.1	Kaşar Peynirinde Olan Bozulmalar	36
2.7.2	Kaşar Peynirinin Raf Ömrünü Etkileyen Çalışmalar	37
2.8	<i>Aspergillus parasiticus</i>	40
2.8.1	<i>Aspergillus parasiticus</i> 'un Morfolojisi.....	40
2.8.2	<i>Aspergillus parasiticus</i> 'un Zararları	40
2.8.3	<i>Aspergillus parasiticus</i> 'un Sınırlandırılmasına Yönelik Çalışmalar.....	41
3.	MATERYAL VE YÖNTEM	43
3.1	Materyal.....	43
3.2	Yöntemler.....	43
3.2.1	Besleme Çözeltilerinin Hazırlanması.....	43
3.2.2	Elektrospın Yöntemi ile Nanolif Üretimi	44
3.2.3	Karakterizasyon Analizleri için Örneklerin Hazırlanması.....	45
3.2.4	Besleme Çözeltilerinin Reolojik Analizi	46
3.2.5	Nanoliflerin Zeta Potansiyel (ζ) ve Elektriksel İletkenlik Değerlerinin Belirlenmesi.....	46
3.2.6	Nanoliflerin ATR-FTIR Spektroskopisi ile Moleküler Karakterizasyonu....	47
3.2.7	Nanoliflerin Termal Karakterizasyonu	47

3.2.8	Enkapsülasyon Etkinliği Testi	47
3.2.9	Nanoliflerin Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi	48
3.2.10	<i>Aspergillus parasiticus</i> Spor Çözeltisi Hazırlanması	48
3.2.11	<i>In Vitro</i> Değerlendirmeler	49
3.2.12	<i>In Situ</i> Değerlendirmeler ve Yüzey Kaplama Prosesi	50
3.2.13	İstatistiksel Analizler	51
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	52
4.1	Besleme Çözeltilerinin Reolojik Özellikleri	52
4.2	Nanoliflerin Dispersiyon Stabilitesi ve Elektriksel İletkenliği	55
4.3	Nanolif Örneklerinin ATR-FTIR ile Karakterizasyonu	57
4.4	Nanoliflerin Termal Özellikleri	64
4.5	Enkapsülasyon Etkinliği	68
4.6	Nanoliflerin Morfolojik Özellikleri	68
4.7	Yüzey kaplama malzemesi olarak nanofiber matların <i>in vitro</i> ve <i>in situ</i> antifungal aktivitesi	71
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	76
6.	KAYNAKÇA	80
	Tezden Üretilmiş Yayınlar	103

SİMGE LİSTESİ

n	Akış davranış indeksi
T_o	Başlangıç sıcaklık değeri
T_e	Bitiş sıcaklık değeri
T_g	Camsı geçiş sıcaklık değeri
μ	Elektroforetik hareketlilik
ΔH	Entalpi
σ	Kesme basıncı
γ	Kesme hızı
K	Kıvam katsayısı
T_p	Pik sıcaklık değeri
ϵ	Solvent dielektrik katsayısı
η	Viskozite
ξ	Zeta potansiyel

KISALTMA LİSTESİ

ATR-FTIR	Azaltılmış Toplam Reflektans-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
FC	Folin-Ciocalteu
PASP	Peynir Altı Suyu Proteini
PAST	Peynir Altı Suyu Tozu
PVA	Polivinil Alkol
ST	Serbest Timol
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TSN	Timolsüz Üretilen Nanolif
TYN	Timol Yüklü Nanolif

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Kurkumin ve karabiber yağından oluşturulan nanoemülsiyon yapıların farklı ölçeklerdeki TEM görüntüleri [97]	14
Şekil 2.2	ZnO 'dan oluşturulmuş nanotellerin SEM' e ait görüntüleri [114]	16
Şekil 2.3	Metalik ve yarı iletken özellik gösteren karbon nanotüpler [121]	16
Şekil 2.4	Farklı gözenek çaplarına ve yoğunluğuna sahip nanoporlara ait SEM görüntüleri [135]	17
Şekil 2.5	Karvakrol yüklü nanoliflere ait SEM görüntüsü	18
Şekil 2.6	Kendiliğinden tutunma yöntemi ile üretilen nanoliflerin moleküler yapısı [136]	20
Şekil 2.7	Çekme metoduyla nanolif üretimi [136]	21
Şekil 2.8	Elektrospin metodu prosesi [136]	22
Şekil 2.9	Polivinil alkole ait kimyasal yapı	27
Şekil 2.10	Timole ait kimyasal yapı	29
Şekil 4.1	Besleme çözeltilerine ait kesme hızına karşın kayma gerilmesi değerleri	53
Şekil 4.2	PVA nanolifine ait ATR-FTIR spektrumları	58
Şekil 4.3	PVA/PASP:80/20 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları	58
Şekil 4.4	PVA/PASP:60/40 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları	59
Şekil 4.5	PVA/PASP:40/60 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları	59
Şekil 4.6	PVA/PASP:20/80 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları	60
Şekil 4.7	PAS proteinleri nanolifine ait ATR-FTIR spektrumları	60
Şekil 4.8	TSN'ye (PVA:PASP; 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100) ait ATR-FTIR spektrumları	61
Şekil 4.9	Serbest timole ait ATR-FTIR spektrumları	62
Şekil 4.10	Timol yüklü nanolif (TYN) örneğine ait ATR-FTIR spektrumları	63
Şekil 4.11	ST (Serbest timol), TSN (PVA ve PASP oranı 60/40 olan timolsüz nanolif örnekleri) ve TYN (PVA/PASP oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif örnekleri)' örneklerine ait ATR-FTIR spektrumları	64
Şekil 4.12	TSN (PVA:PASP; 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100) örneklerine ait DSC termogramı	66

Şekil 4.13	ST (Serbest timol), TSN (PVA ve PASP oranı 60/40 olan timolsüz nanolif) ve TYN (PVA/PASP oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif) örneklerine ait DSC termogramı	67
Şekil 4.14	TSN(A:100PASP;B:80PASP/20PVA;C:60PASP/40PVA;D:40PASP /60PV-A;E:20PASP/80PVA; F:100PVA oranlarda karıştırılmasından elde edilen timolsüz nanolif) örneklerine ait SEM görüntüleri (10.00KX).....	69
Şekil 4.15	TYN (Timol Yüklü Nanolif (60PVA:40PASP) örneklerine ait SEM analiz görüntüleri (10.00 K X).....	70
Şekil 4.16	Timol ve nanolif matların farklı inkübasyon sürelerinde <i>A. parasiticus</i> ' un misel gelişimine karşı <i>in vitro</i> antifungal aktivitesi.....	73
Şekil 4.17	TYN'lerin 7. depolama gününde <i>A. parasiticus</i> inoküle edilmiş peynir küpleri (yüzeyi kaplanmış (A) ve yüzeyi kaplanmamış (B)) peynir küpleri üzerine etkisi	75

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Nanolif üreten farklı işleme tekniklerinin karşılaştırılması [143]	23
Tablo 4.1 Nanoliflerin Ostwald de Waele modeli parametreleri.....	54
Tablo 4.2 Örneklerin stabiliteleri ve elektriksel iletkenlikleri	55
Tablo 4.3 Timol ve nanolif örneklerinin termal karakterizasyon parametreleri.....	65
Tablo 4.4 Timol ve nanolif matların farklı inkübasyon sürelerinde <i>A. parasiticus</i> ' un misel gelişimine ve peynir küplerinde oluşan küf kolonilerinin lezyon çap değerlerine karşı <i>in vitro</i> antifungal aktivitesi	72



Timol Yüklü Nanolif Film Üretimi, Karakterizasyonu ve Kaşar Peyniri Yüzeyinde Antifungal Kaplama Materyali Olarak Kullanılması

Nevruz Berna TATLISU

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Eş-Danışman: Prof. Dr. Mustafa Tahsin YILMAZ

Uzun yıllardır gıda ürünlerinin stabilitelerinin ve fonksiyonlarının artırılması, raf ömürlerinin geliştirilmesi ve besin içeriklerinin zenginleştirilmesi gibi alanlarda yapılan çalışmalar, teknolojik ilerlemeler sayesinde farklı bir boyut kazanmıştır. Nanoteknoloji, bu anlamda giderek önem kazanan bir alandır. Özellikle, gıda ve bileşenlerinin bilinen özelliklerinin nanoboyutlara indirgendiğinde farklı fonksiyonlar sergiliyor olmaları, nanoteknolojinin gıda alanındaki önemini artırmaktadır. Bu çalışmada, polimerlerden elde edilen biyotaşıyıcı ve biyoaktif madde kullanılarak elektrospin yöntemiyle nanolifler üretilmiş ve üretilen bu nanoliflerin mikotoksijenik küf inoküle edilen gıda ürünü üzerindeki etkisi incelenmiştir. Fonksiyonelliği ve biyoyararlılığı iyi bilinen peynir altı suyu proteini ve nanolif üretme yeteneğine sahip polivinil alkol (PVA) polimeri farklı oranlarda karıştırılarak en uygun oranı morfolojik analizlerle belirlenen karışıma, biyoaktif madde olarak antifungal etkisi olduğu bilinen timol yüklenerek besleme çözeltisi hazırlanmıştır. Oluşturulan besleme çözeltisi ile elektrospin metodu kullanılarak nanolif üretilmiş ve bu nanolifler ile *Aspergillus parasiticus* küf inoküle edilen kaşar peyniri küpleri kaplanmıştır. Ayrıca üretilen nanoliflerin morfolojik,

moleküler, termal, reolojik ve biyoaktif özellikleri belirlenmiştir. Bu amaçla, öncelikle elektrospin parametreleri belirlenmiştir. Toplayıcı plaka ile enjektörün ucu arasındaki mesafe 12 cm, çözelti besleme hızı 0,3 mL/sa ve voltaj değeri 20 kV olarak belirlenmiş ve bu parametrelere dayalı nanolif üretilmiştir. Morfolojik analiz sonuçlarına göre, en iyi nanolif yapısı 60PVA:40PASP karışımının kullanıldığı örnekte oluşmuştur. Ayrıca besleme çözeltilerindeki PVA oranı arttıkça, 60PVA:40PASP oranına kadar nanoliflerin çapında artış gözlemlenmiştir. Bu nedenle biyo-taşıyıcı olarak kullanılmasına karar verilmiştir. Bu sonuçlara göre Üretilen timol yüklü nanoliflerin ortalama çapları 371 ± 38 nm değerinde ölçülmüştür. Reolojik analizler sonucu, besleme çözeltilerinin K değerleri 0,016 - 0,415 Pasⁿ aralığında olduğu ve PVA oranı arttıkça kıvam katsayısı değerinin de arttığı görülmüştür. İstatistiksel olarak K değerleri ve PVA konsantrasyonu arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Nanoliflerin zeta potansiyel değerleri -6,34 mV ile -9,43 mV aralığındadır ve bu sonuçlara göre örneklerdeki PASP konsantrasyonu arttıkça emülsiyon stabilitesinin de arttığı gözlemlenmiştir. Buna ek olarak emülsiyon stabilitesindeki kararlılığa geçiş arttıkça, emülsiyon iletkenliği de pozitif yönde artış göstermiştir. Antifungal etkinliği testlerinin değerlendirmeleri sonucunda timol yüklü nanoliflerin kaşar peynirine inoküle edilen aflatoksijenik küf olan *A. parasiticus* (NRRL 2999)'u inhibe etmede etkili olduğu belirlenmiştir. Enkapsüle edilen timolün serbest timole göre daha etkin olduğu ve enkapsülasyonun biyoaktif maddenin etki gücünü artırdığı belirlenmiştir. Sonuç olarak; timolün enkapsüle edilmesiyle üretilen nanolifler kaşar peyniri küplerine başarılı bir şekilde kaplanmıştır. Bu sonuçlardan yola çıkarak timol yüklü nanoliflerin yüzey kaplama materyali olarak kullanılabileceği ve antifungal maddelere alternatif oluşturabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: elektrospin metodu, nanolif, timol, peynir altı suyu proteini, polivinil alkol

Thymol-loaded Nanofiber Film Production, Characterization and Usage of Antifungal Coating Material on Kashar Cheese Surface

Nevruz Berna TATLISU

Department of Food Engineering

PhD Thesis

Adviser: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Co-Adviser: Prof. Dr. Mustafa Tahsin YILMAZ

The studies have been conducted for many years on the areas such as increasing the stability and function of food products, improving shelf life and enriching the nutrient content have gained a different dimension thanks to technological advances. Nanotechnology is a field that has gradually gained importance in this sense. Especially, the fact that known properties of food and its compounds exhibit different functions when decreased to nano-sizes, raises the importance of nanotechnology in the field of food science. In this study, nanofibers were produced by electrospinning method using biocarrier and bioactive matter obtained from polymers and the effect of these nanofibers on mold inoculated food product was measured. The feed solution was obtained by mixing whey protein which is known for its functionality and bioavailability and PVA polymer capable of producing nanofibers were mixed at different rates and the optimized rate were loaded with thymol bioactive matter which is known to have antifungal effect. Nanofibers were produced by electrospinning method from obtained feed solution and *Aspergillus parasiticus* inoculated kashar cheese cubes were coated with these nanofibers. Additionally, morphological, molecular, thermal, rheological and bioactive properties of the produced nanofibers were determined. With this aim,

primarily electrospinning parameters were determined. The distance between the collector plate and the tip of the syringe was set to 12 cm, the solution feed speed was regulated at 0,3 mL/h while the voltage value was determined as 20 kV and nanofibers were produced based on these parameters. Depending on the morphological analysis results, the best nanofibre structure was formed in 60PVA:40PASP mixture sample. In addition, it was observed that as PVA ratio in the feed solution increases the diameter of the nanofibers increased until 60PVA:40PAST ratio. Therefore, it was decided to be used as biocarrier. According to these results, the average diameters of thymol loaded nanofibers were measured at 371 ± 38 nm. As a result of rheological analysis, it was observed that K values of feed solution were in the range of 0,016 to 0,415 Pasⁿ and the consistency coefficient value increased as PVA ratio increased. A statistically significant correlation was found between K values and PVA concentration. The zeta potential values of the nanofibers were in the range of -6,34 mV to -9,43 mV, and it was observed that the emulsion stability increased with the increase of PASP concentration in the samples. In addition, as the transition to stability in the emulsion increased, the emulsion conductivity also increased positively. As a result of the antifungal activity tests, thymol loaded nanofibers were found to be effective in inhibiting aflatoxigenic mold *A. parasiticus* (NRRL 2999), which was inoculated into kashar cheese. It was determined that encapsulated thymol was more effective than free thymol and encapsulation increased the potency of bioactive matter. As a result, kashar cheese cubes were coated successfully with nanofibers that were produced by encapsulating thymol. Based on these results, it has been concluded that thymol loaded nanofibers can be used as surface coating material and can be an alternative to antifungal agents.

Keywords: electrospinning, nano-fiber, thymol, whey protein, polyvinyl alcohol

1.1 Literatür Özeti

Günümüzde nanoteknoloji ve nanobilim en hızlı büyüyen ve hızla genişleyen araştırma alanı haline gelmektedir [1]. Nanoteknoloji, 0,1 ile 100 nm arasında değişen çok küçük boyutlarda hammaddelerin ve cihazların üretimini ve kullanımını içerir [2]. Bu teknoloji, malzemeye yeni özellikler kazandırabilen, üretim, tasarım, kontrol ve şekillendirme gibi araştırmalara yenilikçi anlayışlar sunan nanometre ölçekleri üzerinde yürütülen çalışmaları içermektedir [3]. Bu anlayış ile, nanopartiküllerin normal boyutuna göre biyolojik olarak daha aktif olacağı ve fonksiyonel gıdalar için biyoaktif bileşenler olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Çünkü parçacık büyüklüğünün nanoboyutlara indirgenmesi, hücrelerin karakteristik özelliklerinde, absorpsiyon veya çözünürlüğünde değişiklik göstermektedir. Parçacık büyüklüğünün nanoboyutlara indirgenmesinde, hücrelerin çözünürlük ve soğurma özellikleri [4] kuantum boyut etkileri, elektron yapısının boyutsal bağımlılığı, yüzey atomlarının daha belirgin karakterleri ön plan çalışma alanlarıdır [5].

Polimerlerden elde edilen nanoliflerin çapları çok küçük olduğu ve buna bağlı olarak yüzey alan/hacim oranları yüksek olduğu için daha iyi mekanik performans göstermektedirler. Nanofiberler elektrospin metodu, faz ayırma prosesi ve kendi kendine paketlenme metodu ile üretilebilir [6],[7]. Elektrospin yöntemi 1930'lardan itibaren kullanılmaya başlanmış ve polimerlerden tek basamaklı işleme nanoboyutların elde edildiği işlemdir [8]. Elektrospin yöntemi, nano düzeyde lif elde etmek için kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir [9]. Bu yöntem kullanılarak üretilen nanolifler pek çok parametreden etkilenmektedir. Viskozite, konsantrasyon, bağıl nem, sıcaklık, yüzey gerilimi gibi özellikler bu parametreler arasında sayılabilir [10].

Nanoteknolojinin kullanımı, gıda alanında da artmaya başlamıştır. Gıdaların duyuşal özelliklerinin iyileştirilmesinde, fiziksel özelliklerinin korunmasında,

depolama stabilitelerinin artırılmasında, besin içeriklerinin geliştirilmesinde ve biyoaktif maddelerin enkapsülasyonu gibi alanlarda kullanılmaktadır. Bunlara ilaveten en önemlisi; uygulanacak gıdanın raf ömrünün uzatılabilme imkânıdır. Ancak bu tür uygulamalar daha çok nanopartiküllerin uygulanması şeklinde denenmiş olup, gıda ürünlerinin yüzeylerinin nanoliflerle kaplanarak raf ömrünün uzatılmasına yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Örneğin, kaşar peynirlerinin raf ömrünün uzatılmasında ve kaşar peynirin stabilitesini uzun süre koruyabilmesi için yüzeysel olarak nanolifler ile kaplandığı ve depolama stabilitesinin belirlendiği bir araştırma/çalışma yoktur. Bu çalışma kaşar peyniri stabilitesinin uzun süre muhafaza edilmesi sağlayarak literatürdeki bu boşluğu doldurabilir.

Küfler, gıda ve süt ürünlerindeki gelişmelerinden sonra farklı metabolitler üretirler. *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus flavus*'un bu ürünlerdeki varlığı aflatoksinlerin oluşumu açısından büyük bir risktir. Aflatoksinlerin mikotoksinler arasındaki en güçlü biyolojik kanserojen olduğu bilinmektedir [11]. Bu toksinlerin insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri (teratojenik, mutajenik ve kanserojen etkiler) iyi bilinmektedir [12],[13]. Aflatoksinler (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 ve sütte bulunan AFM1 ve AFM2; metabolitler) olumsuz etkilerine en çok duyarlılık gösteren özellikle bebeklerde ve çocuklarda ciddi sorunlara yol açmaktadır [14], [15]. Bu nedenle, birçok ülkede, aflatoksinlerden etkilenme riskini indirmek için çeşitli araştırma ve kontrol uygulamaları bulunmaktadır [16]. Bu durum, süt ürünlerinde küf gelişiminin önlenmesi veya sınırlandırılması için yeni stratejiler geliştirmenin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Süt ürünleri iki farklı şekilde aflatoksinlerle kontamine olabilir. İlk olarak, AFB1 ile kontamine olan ve süt bezlerinden salgılanan yemle beslenen hayvanların karaciğerinde, AFB1, AFM1'e dönüştürülür [17],[18]. AFM1 çok stabildir ve pastörizasyon gibi ısı işlem uygulamalarından etkilenmez [19]. İkinci olarak, süt ürünlerinde ve özellikle peynirlerin olgunlaşma ve depolama süreçlerinde küfler gelişebilir. Buna ek olarak Türkiye'nin farklı bölgelerinde, küflü tulum peyniri ve küflü yağsız peynirler gibi doğal olarak küfle olgunlaştırılmış süt ürünleri de tüketilmektedir. Bu geleneksel ürünler, başlangıç (starter) kültürü kullanılarak üretilmemektedir. Bu nedenle, bu ürünlerde aflatoksin üreten küfler de gelişebilir[20]. Birçok çalışma küfler tarafından üretilen aflatoksinlerin oluşumunu

ortaya koymuştur [21],[22]. Özetle, bu toksinle daha önce kontamine olmuş sütlerden üretilen süt rnlerinde AFM1 bulunurken, AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 bu ürünlerdeki olgunlaşma ve depolama sırasında bu toksinleri üreten küflerin gelişimi nedeniyle oluşmaktadır [23]. Bu nedenle, olgunlaşma ve depolama süreleri sırasında mikotoksin oluşumunu engellemek için süt ürünleri üzerindeki küflerin gelişmesini önlemek ve yeni stratejiler geliştirmek önemlidir.

Gıda maddelerinde küflerin gelişiminin önlenmesi için şimdiye kadar çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. Antimikrobiyallerin kullanımı bu stratejiler arasındadır. Antimikrobiyal zelliklerin bu açıdan başarılı bir şekilde test edildiği bazı biyolojik aktif bileşikler vardır. Timol, patojenik mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterebilen bu biyolojik olan aktif bileşiklerden biridir [24]-[26].

Çalışmada biyoaktif madde olarak kullanılan timol *lamiaceae* familyasının bir üyesidir [27] ve mercanköşk, kekik ve zahter gibi bitkilerden elde edilmektedir. Bu bitki türlerinden elde edilen timol, patojenik mikroorganizmalara karşı kimyasal savunma mekanizmasında aktif rol oynar [28],[29]. Literatürde, timolün patojenik mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özellikler göstermesi ile ilgili pek çok önemli bulgu vardır [30],[31]. Antimikrobiyal aktivite, timolün mikroorganizmaların hücre membranı ile etkileşimlerine dayanır. Bahsedilen bitki türlerinden elde edilen bu esansiyel yağ, mikroorganizmaların hücre zarı ile etkileşime girerek kf hiflerin morfolojik özelliklerinde ve küf hiflerinin kmeleşmesinde değişikliklere neden olmaktadır. Kf hifleri kümesinde çap olarak azalma gösterdiği daha önce yapılan bir çalışmada bildirilmiştir [32]. Buna ek olarak, başka bir araştırmada, bu fenolik bileşenin kimyasal modifikasyonlarının biyolojik aktivitede pozitif değişikliklere yol açtığını göstermiştir [33].

Thymus vulgaris'ten ekstrakte edilen timol, keskin bir aromatik kokuya ve güçlü bir tada sahiptir ve bu da gıda aroması ve yapısı üzerinde olumsuzluklara sebebiyet verir. Bu durum, gıda formülasyonlarındaki kullanımını sınırlamaktadır. Bu nedenle, gıda aroması ve gıda dokusu üzerindeki olumsuz etkileri indirgemek için birtakım araştırmalar yapılmıştır. Bu nedenle, biyoaktif maddelerin etkisini artırmak için son zamanlarda enkapsülasyon gibi bazı teknikler önerilmiştir [29],[30]. Ayrıca, kapsüllenmiş bileşenlerin gıda aroması ve dokusu üzerindeki etkisini azaltmak için kapsül boyutunun azaltılmasına yönelik artan bir ilgi vardır

[35]. Antimikrobiyal bileşiklerin kapsüllenmesinde, mikrobiyal kontaminasyonu sınırlamak için elektrospin nanofiber paspaslar kullanılabilir. Gıda yüzeyini kaplamak için nanofiberlerin kullanılması küflerin gelişmesini engellemenin etkili bir yolu olabilir [31],[32],[38]. Bu nedenle, peynir yüzeyindeki fungal kolonizasyon, elektrospin nanofiber paspasların yeni bir kaplama malzemesi olarak geliştirilmesi ile sınırlandırılabilir.

Taşıyıcı polimer (nano-taşıyıcı) olarak ise peynir altı suyu proteini (PASP) kullanılacaktır. Kullanılmasının başlıca nedenlerinden biri aroma açısından kaşar peynirine olumsuz bir etki oluşturmamasıdır. Peynir altı suyu proteinleri biyolojik olarak değerlendirilir ve çok iyi bir kalsiyum ve mineral kaynağıdır [39]. Ayrıca PASP'ın kıvam, kararlılık ve mikroyapı üzerinde etkili olduğu, bilinmektedir [40] ve biyotaşıyıcı olarak kullanılma nedenlerindendir.

1.2 Tezin Amacı

Bu tezin amacı, biyoaktif maddelerin biyotaşıyıcılarla enkapsüle edilerek elektrospin metoduyla en uygun nanolifi üretmek ve üretilen bu nanolifler ile küf inoküle edilen kaşar peyniri küplerini kaplayarak; enkapsülasyonun kaşar peynirleri üzerindeki antifungal aktivitesini belirlemektir. Ayrıca üretilen nanoliflerin materyal karakterizasyonlarının da yapılması hedeflenmiştir. Bu kapsamda moleküler, reolojik, termomekanik, biyoaktif ve morfolojik karakterizasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Buna bağlı olarak meydana gelen değişimler gözlemlenerek, daha stabil, daha uzun raf ömürlü ve besin içeriği açısından daha nitelikli ürünlerin oluşturulabileceği düşünülmektedir.

Nanoliflerin dizaynı ve mühendisliği bağlamında ise enkapsüle edilecek biyoaktif madde olarak timol düşünülmüştür. Taşıyıcı polimer olarak (nano-taşıyıcı) ise peynir altı suyu proteinleri (PASP) kullanılmıştır. Bu amaçla bu bileşenlerin nanolif haline dönüştürülerek nanoboyutlara indirgenmesi ve dolayısıyla yüzey alanlarının artırılması hedeflenmektedir. Bu doğrultuda yüzey alanı artan ürünün fonksiyonel özelliklerinin ve antifungal/antimikrobiyal etkinliklerinin gelişeceği varsayılmaktadır. Bu duruma ve enkapsülasyon etkinliğinin gücüne bağlı olarak, gıdada bozulma yapan mikroorganizmaların gelişiminin sınırlandırılması, daha güvenilir ve hijyenik ürünlerin elde edilmesi amaçlanmaktadır.

1.3 Hipotez

Daha önceden yapılan ön denemeler sonucu, bazı gıda materyallerinin yüzeylerinin nanolifler ile kaplanması ile bozulma yapan mikroorganizmalar üzerinde önemli ölçüde antimikrobiyal etkinliğin sağlanabildiği gözlemlenmiştir. Biyoaktif madde olarak kullanılacak olan timolün ve biyotaşıyıcı olarak kullanılacak olan PASP'ın, kaşar peynirinde gelişmesi olası küflere karşı etki gösterebildiği ve bu etkinin elektrospin metoduyla üretilecek olan nanoliflerin gıdaya kaplanmasıyla, gerçekleştirilebileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda, biyoaktif madde enkapsüle edilmiş nanolifler ile kaşar peynir küplerinin kaplanarak, depolama stabiliteleri artırılabilir. Biyoaktif madde olarak kullanılan timol gibi doğal bileşenler metabolizma ile uyum içerisinde olurlar ve sadece koruma değil biyoyararlılık da sağlarlar. Buna ek olarak üretilen nanoliflerin moleküler, reolojik, termomekanik, biyoaktif ve morfolojik analizleri yapılarak, nanoliflerin karakterizasyonu belirlenebilir. Sonuç olarak, elde edilen çıktıların, depolama stabilitesini artırarak daha kararlı yapıda ürünler üretmek için kullanılabileceği düşünülmektedir.

Günümüz dünyasında artık hammaddeyi keşfetmek değil hammaddeyi dönüştürmek esas olmaktadır. Yüzyıllar boyunca insanoğlu keşfetmiş, üretmiş ve yeniden yeni şeyler keşfetme yolunda ilerlemiştir. Fakat artık teknolojinin ilerlemesi nedeniyle dönüştürme, yani eldeki ürüne farklı özellikler kazandırma yoluna girilmiştir. Çünkü mühendislikteki her disiplinde fonksiyonellik çok önemlidir. Pek çok teknoloji ile fiziksel formlar değişebilir, farklı prosesler ile farklı bileşenler elde edilebilir veya bileşenler uyumsuz olsa bile farklı tekniklerle bir araya getirilebilir. Fakat nanoteknolojinin mühendislikte uygulanması yeni bir bakış açısı kazandırmaktadır. Şöyle ki bileşenlerin veya hammaddenin küçük boyutlara (nano-boyutlara) indirgenmesi yani yüzey hacim oranının artırılmasıyla birlikte hammadde yeni özellikler sergilemektedir. Sahip olduğu fonksiyonellik etkisi fark edilir bir şekilde artmaktadır. Bu nedenle yeni bir hammadde arayışı veya ikame hammadde düşünülmesi yerine nano teknik bilimi kullanılarak hali hazırda var olan hammaddenin farklı özelliklerini ortaya çıkarmak veya var olan özelliklerinin, etki gücünü artırmak, artık esas hedeflerden olmalıdır. Nanoteknoloji uygulamaları, besin öğelerinin veya gıda bileşenlerinin etkinliğini artırarak vücudun özellikle erişilmesi istenilen yerlerine etki etmesini sağlayabilir, biyoyararlılığa nanoteknoloji sayesinde ulaşılabilir [41]. Böylelikle keşfedilmiş her bileşenin varlığı proseste daha fazla şey ifade ederek, olağandan fazla etkili ve güçlü olacaktır diye düşünülebilir.

2.1 Nanoteknoloji Tarihi ve Günümüzdeki Yeri

Nanoteknoloji terimi kullanılmadan yıllar önce nanoteknolojinin bugünkü temellerini oluşmasına öncülük eden isim ünlü fizikçi Richard Feynman'dır. 1959 yılında California Teknoloji Enstitüsü'nde verdiği "There's Plenty of Room at the Bottom" başlıklı konferansta nanoteknolojinin temellerini oluştursan fikirleri ortaya atmıştır [42]. O nedenle bu tarih nanoteknoloji çağının/kuramının

başlangıcı olarak kabul edilmektedir [43]. Feynman bu konuşmasında atomların manipüle edilerek, istenilen şekilde ayarlanabileceğini ve daha güçlü kimyasallar ile sentezler yapılabileceğinden bahsetmiştir. Ayrıca mekanik manipülasyonun kimyasal sentez yapabilen çok küçük makineler yapabileceği fikrinden de bahsetmiştir [42]. Özetle atom ölçeğindeki malzemeleri tasarlama ve yönetme temelli konuşmasından sonra nanoteknoloji teriminin ilk bahsi geçtiği yıl 1974'tür. İlk defa Japon bilim adamı Norio Taniguchi tarafından tanımlanmıştır. Taniguchi yarı iletken süreçleri tanımlamak için kullandığı nanoteknolojiden, bir atom veya molekül tarafından maddelerin/materyallerin seperasyonu, deformasyonu veya konsolidasyonu işlemidir diye bahsetmiştir [44]. 1981 yılında Gerd Binnig ve Gerhard Rohrer isimli araştırmacılar taramalı tünelli mikroskobunun (STM) üretimini gerçekleştirmişlerdir [45]. Daha sonra günümüzün en popüler nanoteknoloji bilimi progaratoru (yayıncısı) olarak bilinen Eric Drexler 1986 yılında yayınladığı "Engines of creation: The coming era of nanotechnology" adlı kitabında nanoteknolojiyi Feynman'ın yaklaştığı açıdan ele alarak; çok büyük sistemlerin çiplere dönüşebileceği, tıbbi robotların, minik makinaların yer aldığı bir dünyaya açıldığımızı ve hatta moleküler nanoteknojiyle kendini kopyalayabilen makinaların olabileceğinden bahsetmiştir [46], [47]. Böylelikle nanoteknoloji ile ilgili ilk kitap yayınlanmış olmuştur. Aynı yıl içerisinde ilk atomik kuvvet mikroskobu 1986 yılında imal edilmiştir. Daha sonra ünlü araştırmacı Sumio Lijima 1991 yılında karbon nanotüpünü üretmiştir. NASA 1997 yılında nanoteknoloji üzerine ciddi çalışmalara başlamıştır ve ilk nanoteknoloji şirketi/kurumu Zynex, 1997 yılında kurulmuştur [48]. 2004 yılında ise ilk Nanomekanik Sistem Merkezi kurulmuş ve aynı yıl içinde faaliyete geçmiştir [45].

Nanobilim maddelerin atomik ve moleküler ölçeklerde uygulanan manipülasyonudur şeklinde tanımlanmaktadır [49]. Nanoteknoloji ise, nano ölçekteki yapıların üretim, işleme ve manipülasyonu ile bunların başka bileşenlere ya da sitemlere entegrasyonunu kapsamaktadır şeklinde tanımlanmıştır [50]. Yakın bir geçmişe sahip olan nanoteknoloji, teknolojik devrim olarak adlandırılması gerektiğini ve sonuçlarının küresel ekonomiyi değiştirebileceğini [51] belirten farklı tanımlamalar da mevcuttur.

Bazı kaynaklara göre nanoteknolojinin ilerleme aşamaları yıllara göre gruplara ayrılmıştır. 1. Grup: Pasif nanoyapılar başlığı altında incelenmektedir ve nanoparçacıklar, bunların dispersiyonu, nano yapılı kaplamalar (metal, polimer, seramik) bu grup içinde yer almaktadır. Bu grup yaklaşık 2000'li yılları işaret etmektedir. 2. Grup: Aktif nano yapılar olarak geçmektedir. Kimyasallar, ilaç sanayii, transistörler ve sensörler bu grup içinde yer alan nanoyapılardır. Bu grup yaklaşık olarak 2005'den sonraki yılları kapsamaktadır. 3. Grup: Yaklaşık olarak 2010'lu yılları kapsamakta ve üç boyutlu nano yapıları içeren sistemlerden bahsetmektedir. Sistemlerin çok yönlü ağ kurmasından oluşan, sentez yöntemlerinin birleşimiyle oluşturulan yöntemleri kapsamaktadır. 4. Grup: Yaklaşık 2015'den sonraki yıllarda, nano sistemlerin spesifik parçalanabildiği ve nano parçaların kendilerine özgü yapılarını koruyan moleküler nano sistemlerden bahsetmektedir [52].

Günümüzde artık nanoteknoloji her alanda kendini göstermektedir. Fizik, kimya, elektrik elektronik, tıp, biyomühendislik, otomotiv, uzay sistemleri ve benzerleri gibi alanlarda farklı metodoloji ve farklı alet ekipman ve sarf malzemesi kullanılmakta ve farklı amaçlara hizmet edilmektedir. Nanoteknolojinin avantajlarının sınırı bilinmemekle birlikte, her geçen gün nanoboyutlarına inilen maddelerin, yeni bilinmeyen özellikleri veya bilinen özelliklerinin etkisinin ve etkileşimin arttığı keşfedilmektedir.

2.1.1 Nanoteknolojinin Gıda Teknolojisi ile Etkileşimi

Nanoteknoloji gıda bilimi ve endüstrisinde yerini yavaş yavaş sağlamlaştırmaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde 2002 yılında nanoteknoloji kullanılarak işlenen gıdalarda 150 milyon dolarlık gıda tüketilmiş iken, bu oran 2004 yılında 860 milyon dolar olarak hesaplanmıştır. Her geçen gün bu oran artmaktadır [53]. Gıdaların sadece diyetteki gerekliliği değil, gerekliliğin ötesinde fayda sağlaması önem kazanan esas konudur. Fonksiyonellik ve fonksiyonelliğin getirdiği biyoyararlılık günümüzün etkin değeri olmuştur [41]. Artık sadece doymak için beslenmek değil sağlık için beslenmek önem kazanmıştır. Gıdaların daha fonksiyonel özellikler kazanmasından önce ise gıda güvenliğinin sağlanması gerekir. Gıdaları korumaya yönelik nanoteknolojik çalışmalar gıda bilimi ve gıda

endüstrisine pek çok uygulama ile katılmış ve katılmaya devam etmektedir. Gıda güvenliği, hastalıkların tedavisi, çevre koşullarının düzenlenmesi gibi farklı alanları konu alan nanoteknolojik çalışmaların öncelikli basamakları şu şekilde olmuştur:

- Patojen tespiti yapan sensörler,
- Ürünlerin imal süreçleri ve çevresel kayıtlarını takip eden araçlar,
- Gıda işleme, taşıma ve sürecin takibini ve güvenliğini artıracak sistemler,
- Gıda bileşenlerini koruyan, işlevsel ve taşıyıcı sistemler [54].

Weiss vd. [54] rapor ettiği üzere, nanoteknoloji gıda uygulamalarında öncelikle sistem olarak düzenlenmesine ihtiyaç olduğu vurgusunu yapmıştır. Çalışmalar nanoteknolojinin gıda alanlarındaki uygulamalarını farklı başlıklar altında sınıflandırmışlardır.

Yükseltürk vd. [55] yaptıkları bir çalışmada nanoteknolojinin gıdadaki uygulama alanlarını kirlilik sensörü, antimikrobiyal paketlenme, daha iyi gıda saklama, geliştirilmiş besin teslimatı, yeşil paketlenme, gübre kullanımında azalma, takip etme, izleme, marka koruma, tat değiştirme, tat yanılması ve bakteri tespiti ve yok edilmesi başlıkları altında sunmuştur.

Miller vd. [56] nanoteknolojinin gıda uygulamasındaki yerini; tarım, gıda ve gıda paketlenmede mevcut kullanım, besinsel katkı, besinsel içerik, gıda temaslı malzeme (pişirme malzemeleri), gıda paketlenme, gıda katkısı ve bitki büyütme işlemleri başlıkları altında belirtmiştir.

Chau vd. [57] ise gıda sanayisindeki nanoteknolojiyi, gıda işleme, paketlenme, nutrasotik taşıma, koruma ve hissetme kategorilerine ayırmış ve bu başlıklar altında örneklerini sunmuştur.

Grobe vd. [58] tarafından ise gıdadaki nanoteknoloji uygulamaları tarım, gıda işleme, gıda paketlenme ve katkı maddeleri başlıkları altında incelenmiştir.

Bir başka çalışma ise, nanoteknoloji gıdanın besin değerini yükseltmek, renk, koku, aroma ve tazeliğini korumak, çevre kontaminasyonlarını engellemek, gıda içinde olası bozulmaları önlemek veya geciktirmek, biyoyararlılığı artırmak, raf ömrünü uzatmak, dış etken koşullarından gıdanın minimum etkilenmesini sağlamak gibi temellerden bahsetmiştir [59] .

Çalışmalardan görüldüğü üzere benzer alanlarda sınıflandırmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan yola çıkarak nanoteknolojinin gıda uygulamalarındaki yeri dört başlık altında incelenebilir.

I. Gıda ambalajlama ve paketlenme

- Gümüş nanoparçacıklarının ambalaj materyallerine eklenmesiyle maddenin yüzey matriksinin değiştirilmesi ve böylelikle antimikrobiyal yüzey oluşturulması [60].
- Titanyum nitrit partikülleri, nanotitanyum dioksit, nanoçinkooksit ve nanokil bileşenlerinin gıda ambalajlama da fonksiyonel gıda katkı maddesi olarak kullanılması [61].
- Gıda paketlerinin yüzeyindeki bakteri tespitiin sağlanması ve membran özelliklerinin gıda sağlığı için iyileştirilmesi [62].
- Nanokompozitlerden yapılmış kaplar ile gazlı içeceklerdeki karbondioksit sızıntısının azaltılması ve maliyeti yüksek cam şişelere ikame olarak kullanılabilmesi [63].
- Nanokompozitlerle yenilebilir filmler üretilmesi ve ambalaj karakteristik özelliklerinin değiştirilebilmesi [64].

II. Gıda güvenliği

- İşlenmiş gıda ambalaj atıklarının azaltılması ve gıdalardaki mikrobiyal patojenlerin, toksin ve pestisit benzeri bozulma etmenlerinin tespiti [65].
- Silika nanopartiküllü polimerler ile gıda oksidasyonunun engellenmesi, oksijen karbondioksit akışında yer alan naylon nanokompozitlerle bariyer oluşturulması ve gıdanın kötü kokmasının engellenmesi, gümüş nanopartiküllerle mikroorganizmaların yok edilmesi [66].
- Bakır nanoparçacıklarının polimer nanokompozit üzerine 4 saat uygulanması (maruz bırakılması) sonucu *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes*'in gelişmesinin inhibe edilmesi [67].
- Bakır nanopartikülleri içeren poliüretan nano membranların *E.coli* ve *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel etkisinin olması [68].

- Ag/TiO₂ nanokompoziti kullanılarak ekmeklerde olası antimikrobiyal gelişiminin sınırlandırılması ve raf ömrünün uzatılması [69].
- Gıda güvenliği için son zamanlarda önem kazanan nanosensörler ise, gıdanın içine floresan organik nanopartikülü olarak konularak bakteri çeperlerine tutunabilmektedirler. Bakteri takibinin nanosensörlerle yapılabilmesi [70].

III. Gıda işleme

- Nanokalsiyum, nanoselenyum, naomagnezyum ve nano boyuttaki organik maddelerin (protein ve yağ molekülleri, karoten, likopen, nütrosötikler) gıda kalitesini, biyoyararlılığını ve absorpsiyonunu artırmak için eklenmesi [62].
- Vitaminlerin nanokapsülleme teknolojisi ile kapsüllenip depolamaya bağlı stabilitelerinin araştırılması [71] veya değerlerini kaybetmeden vücutta kontrollü salınımlarının yapılması [72] .
- Gıdanın fonksiyon ve stabilitesini artırmak için besin öğelerini oksidasyondan etkilenmesini önlemek adına, besin öğelerinin biyoaktif madde olarak enkapsülasyonun yapılması [54] .
- Antioksidanların çözünürlüğünü artırmak ve stabilitesini geliştirmek için nanoşelatlar, nanoemülsiyonlar ve demir/çinko içeren nanobileşenler kullanılması [73] .
- Nanoemülsiyonların oluşturulması ile yağı seven ve suyu seven bileşenlerin su/yağ bazlı membran, matriks ve çözeltilerde çözünmelerinin sağlanması [74] .
- Enzim aktivitesi artırmak için yapılan bir çalışmada, immobilizasyondan sonra daha iyi enzim aktivitesi gösterdiği bilinen glutamat dehidrogenaz ve laktat dehidrojenazı hareketsizleştirmek için SiO₂ nanopartiküllerinin kullanılması [75].
- Nanoemülsiyonlar sayesinde biyoaktif maddelerin çeşitli meyve suları içerisinde homojen çözünmelerinin sağlanması [74].

IV. Yeni ürün/yeni özellik geliştirme

Bu alan yeni ürünlerin ortaya çıkarılmasının yanı sıra gıda bileşenlerinin nano boyutlara indirildiğinde yeni özellikler kazanmasını da kapsayan bir alandır. Bu alanda yapılan çalışmalar ise şunlardır:

- Selülozun doğal ve ucuz bir polimer olmasından kaynaklı, selüloz pek çok çalışmada destekleyici yapı malzemesi olarak nanomateryallere katılmıştır. Selülozun nanomateryallerle uygulanması temelinde yatan diğer sebep ise yüzey alanını benzeri polimerlere göre artırmasıdır [76]–[78].
- Organik veya inorganik dolgu materyaline sahip nanokompozitler ile yeni paketlenme materyallerinin ve spesifik yüzey alanlarının oluşturulması [79].
- Spesifik yüzey alanının dolgu materyaliyle etkileşiminin olduğunu belirten pek çok çalışma mevcuttur. Çalışmalara göre, spesifik yüzey alanlarının dolgu materyallerinin hacmine bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir. Şöyle ki dolgu materyalinin en boy oranı arttıkça nanokompozitin kuvveti de artmaktadır [80], [81]. Dolgu materyali olarak kil [82], nişasta bazlı kompozitle güçlendirilmiş kitosan [83], karbon nanotüpler [84], kolloidal bakır nanopartikülleri [85], polisakkarit nanokristalleri [86] ve ZnO₂ gibi diğer metal nanopartikülleri [87] dolgu maddesi olarak kullanılarak yapılan diğer nanoteknoloji çalışmalarıdır.

2.1.2 Nanoteknolojinin Diğer Bilimlerle Etkileşimi

Nanoteknoloji, günümüzde giderek önem kazanmaktadır. Çünkü malzemelerin nanometre boyutlarında işlenerek farklı özellikler kazanmalarına olanak sağlamaktadır. Bu farklı özelliklerin ortaya çıkmasıyla birçok disiplin nanoteknoloji devrimini kendi kavramsal temelleriyle ilişkilendirebilmektedir.

Nanoteknoloji uygulama alanları şunlardır:

- Biyomedikal Uygulamalar: Yara örtüleri, doku parçaları, ilaç lojistiği, cilt bakım ürünleri.
- Uzay Uygulamaları: Güneş ve ışık panelleri, uzay platformları.
- Savunma Uygulamaları: Koruyucu giysiler.
- Elektriksel ve Optik Uygulamalar: Elektrodlar, reseptörler.

- Filtrasyon Uygulamaları: Kimyasal gaz, hava.
- Kompozitler: Malzeme kuvvetlendiriciler.
- Tarım Uygulamaları: Bitki koruyucu örtüler, gübre dağıtıcılar, enzim taşıyıcı sistemleri [88]–[91].

2.2 Nanoyapılar

Nano boyutlardaki malzeme olarak tanımlanan bu nanoyapılar, yakın isimlere ve benzer özelliklere sahip olmalarına rağmen çok büyük bariz farklılıklar da içermektedirler. Bu nedenle bütün yapılar farklı başlıklar altında incelenmektedir. Bu durumun temel sebebi ise, yapıların belirli boyut aralığında olmasına rağmen hacimsel yapılarının farklı olması ve birbirinden bağımsız özellikler ve işlevler göstermeleridir [92], [93] .

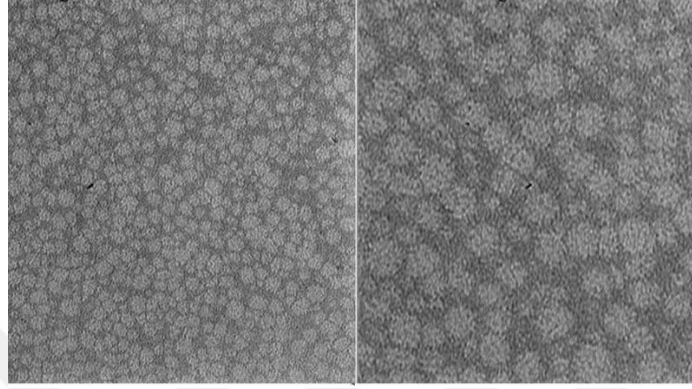
Nanoyapıların bu denli yüksek öneme sahip olmalarına şu nedenler sayılabilir:

- Yüzey gerilimi ve yerel elektromanyetik etkilerin nanoyapılı malzemeleri daha dirençli, sağlam ve daha elastik hale getirmesi.
- Yüksek yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle materyal, reaktör, sensör, hücre ve bunların molekül ve atomlarıyla kuvvetli etkileşimleri.
- Az hacim, yüksek yüzey alanı aktifliği ve gözenek çokluğu sayesinde mükemmel bir enerji depolama kapasitesi.
- Maddelerin kimyasal bileşenlerine zarar vermeden fiziksel, manyetik ve elektrokimyasal etkileşimlerinin temel özelliklerini değiştirmesi.
- Moleküllerle elektronların dalgalanma özelliklerini değiştirmeden ilişkiye girebilmesi.
- Materyallerin dış dalga nitelikleriyle etkileşime geçebilmesi yani, optoelektronik uygulama alanlarına uygulanabilmesi [94].

2.2.1 Nanoemülsiyonlar

Emülsiyon, iki farklı sıvının birbiri içinde damlacıklar halinde heterojen dağılmasıyla oluşan karışımdır. Nanoemülsiyonda damlacıklar 20-200nm boyutunda olmalıdır. Görünüş olarak da farklılık göstermesine rağmen,

mikroemülsiyonlarla kıyaslanmaktadır. Fakat boyut farklılığı nedeniyle emülsiyonların sergiledikleri özellikler farklılık göstermektedir [95], [96]. Emülsiyon tipleri su fazı içinde yağ fazı ya da yağ fazı içinde su fazı olmak üzere iki tipte genel sınıfına ayrılır. Emülsiyon tipi ayırmaksızın üretilen nanoemülsiyonlar ile ilgili pek çok başarılı çalışma ve patent bulunmaktadır [41], [97]–[102] .



Şekil 2.1 Kurkumin ve karabiber yağından oluşturulan nanoemülsiyon yapılarının farklı ölçeklerdeki TEM görüntüleri [97]

Nanoemülsiyonları elde ederken emülsiyon tipinin hangisi olacağına karar vermek için ise pek çok parametrenin etkisi göz önünde bulundurulmalıdır. Çünkü maddelerin konsantrasyonu ve yapısı ve üretim işlemleri emülsiyon tipiyle doğrudan ilişkilidir [103]. Şekil 2.1’den de görüldüğü üzere emülsiyonun özelliklerinden damlacık boyutu ya da kararlılık gibi durumları üretme yöntemi doğrudan etkilenir [104]. Fakat son dispersiyonun özellikleri üretim yöntemine bağlı olarak değişiklik göstermemektedir. Bu yöntemlere kondensasyon ve dispersiyon yöntemleri örnek olarak verilebilir[105].

Nanoemülsiyonun elde edilmesinde kullanılan yöntemler:

- Yüksek basınç homojenizatörleri [34], [103]
- Mikrofluidizasyon [34], [106]
- Ultrasonik emülsifikasyon [34]
- Membran emülsifikasyonu [34]
- Faz geçiş sıcaklığı (PIT) yöntemi[103]
- Lipofilik solvent yöntemi [106]
- Amfilik solvent yöntemi [106]

- Hidrofilik solvent yöntemi[106]

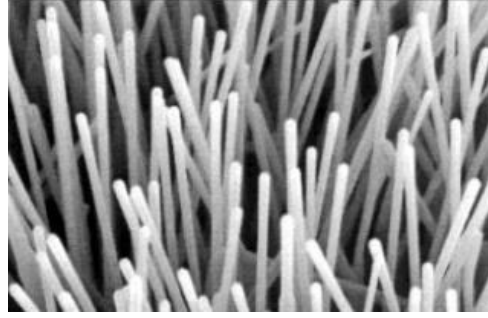
Bu yöntemlerle elde edilebilen nanoemülsiyonlar sayesinde pek çok gıdanın besin içeriği zenginleştirilebilmekte, gıda bileşenlerinin yeni reaksiyonlara girme eğilimleri artırılmakta veya gıda öğelerinin biyoyararlılıkları artırılmaktadır. Bu gibi durumlar için gıda bilimi ve gıda teknolojisi adına yapılmış pek çok çalışma mevcuttur [34], [107]–[111].

2.2.2 Nanoparçacıklar

Nanoparçacıkların boyutları 1-100 nm aralığındadır. Nanotozlar olarak da adlandırılırlar. Bu parçacıkların kuantum boyut etkileri, yüzey atomları fonksiyonları, yüksek hacim/boyut alan fazlalığı ve elektronik boyut yakınsaması gibi sebepler dolayısıyla diğer yapı ve malzemelere göre üstün özellikler sergilemektedirler denilebilir [5], [112]. Nano parçacıklar geniş çaplı bir üretim ağına sahiptir. Örneğin, farklı yapılara ve dış katmanlara sahip metal, seramik ve/veya polimer orjinli malzemeleri bir araya getirebilir ve bunların birleşiminden çok farklı özelliklere sahip nanoparçacıklar elde edilebilir. Nanoparçacıkların eldesinde farklı yaklaşımlar kullanılabilir. Örneğin nanoparçacıklardan veya nanokristallerin birleştirilmesinden elde edilen nanoparçacıklar; yani atomik boyuttaki malzemeye kimyasal reaksiyonlar uygulanarak birleştirilerek elde edilen nanoparçacıklar ya da hacmen büyük yapı ya da malzemeye mekanik veya kimyasal işlemler (kimyasal çöktürme, sprey dönüşüm, anlık eritme ve yoğunlaştırma) uygulanarak elde edilen nanoparçacıklardır [113].

2.2.3 Nanoteller

Yaklaşık 1- 100 nm ölçekte çapı olan yarı iletken veya iletken tellere nanotel denir. Şekil 2.2'den de görüldüğü üzere nanoteller farklı uzunluklarda olabilirler [114]. Nanotellerde uzunluk istenilen boyutta olabilir ama çapı 100 nm'yi geçmemelidir. Kuantum özelliklerin ön plana çıkmasından dolayı kuantum telleri adı ile de anılmaktadır. Metalik, yarı iletken ve yalıtkan olmak üzere pek çok nanotel örneği (Ni, Pt, Au, Fe, Si, Ge, InP, GaN, SiO₂,TiO₂) verilebilir. Organik ve inorganik moleküllerden oluşturduğu nanotellere ise sırayla DNA ve Mo₆S₉-xIx örnek olarak verilebilir [115]–[117].

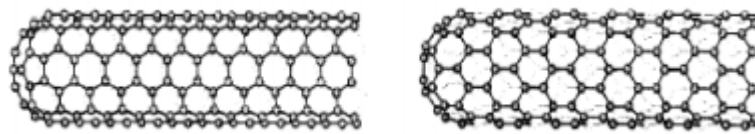


Şekil 2.2 ZnO ‘dan oluşturulmuş nanotellerin SEM’ e ait görüntüleri[114]

Nanoteller, elektronik cihaz ve ekipmanlarda özellikle güneş veya başka bir ışıkla etkileşen elektronik aletlerde, nanoelektromekanik cihazlarda, metalik ara bağlantılarda, biyomoleküler nano sensörlerde ve opto-elektronik gibi benzer alanlarda kullanılmaktadır [118], [119] .

2.2.4 Nanotüpler

Karbon nanotüpler, ilk defa 1991 yılında çok sayıda karbon atomlarının birleşmesiyle oluşturulan moleküllerin (fulleren yapı) keşfiyle başlamıştır. İlk tüp şeklindeki molekülleri, elektron mikroskopunu bulan kişi olan Sumia Lijima fullerenlerin ark-buharlaşması sentezi sırasında farketmiştir. Katodda biriken şeyler çok katmanlı tüplerdir. 1993 yılında grafit elektroduna kobalt gibi bazı malzemeler eklenmiş ve tek katmanlı nanotüpler elde edilmiştir. Çapları 1-50 nanometre aralığında oluşmaktadır [120] .



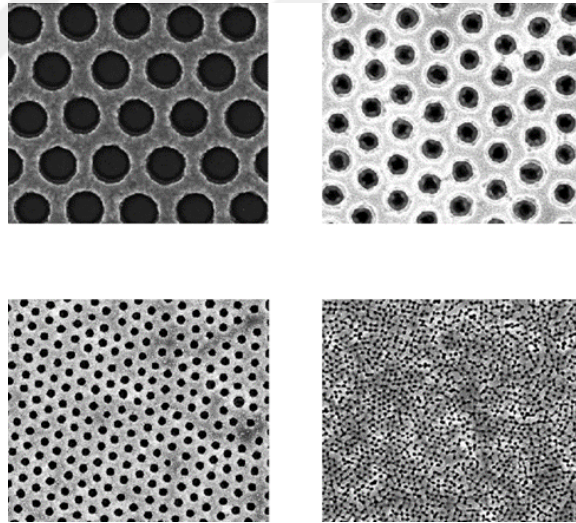
Şekil 2.3 Metalik ve yarı iletken özellik gösteren karbon nanotüpler [121]

Fakat boyları milimetre ölçekli olabilmektedir. 1996 yılında ise tek katmanlı nanotüp eldesinin etkili ve kolay pek çok yol bulunmuştur. 1200°C fırında karbonun lazer-buharlaştırılmasıyla ya da karbon ark-buharlaşma metoduyla iyonlaşmış karbon plazmasından elde edilebilmiştir. Nanotüpler metal ya da yarıiletkendirler. Şekil 2.3’den de görüldüğü gibi aynı katmanlardan oluşsalar dahi geometrik yapıları ve çapraz bağlanmalarının farklı olması nedeniyle mevcut özelliklerine göre değişiklik gösterirler [121]. Karbon nanotüpler, yeni

antimikrobiyal ilaçların üretimi için onları ilginç bir malzeme haline getiren benzersiz elektronik özelliklere sahiptir [122]. Dirençlidirler ve ısıyı çok iyi iletirler. Günümüzde nano elektronik (nanokablo olarak) ve nano mekanik (aktif bileşen olarak) alanlarda, uçak ve otomotiv endüstrisinde (kompozit olarak) oldukça yaygın kullanılmaktadır [123]–[127].

2.2.5 Nanoporlar

Nanopor bir elektronik dedektör gibi görev yapan membranda bulunan nanometre ölçekli deliğe verilen addır. Bir nevi moleküler markörüdür [128]. Nanoporlar nükleik asitlerin diziliminde oluşturabileceği gözenek uygulaması adı verilen uygulamalarda özellikle DNA diziliminde yaptığı boşluklarla nanopor translokasyonu kavramını oluşturmuştur [122],[123]. Özellikle katı hal nanoporları adı verilen yapılar yakın zamanda büyük ilgi odağı olmuştur. Çünkü nanoporlar yapısal özelliklerin belirlenmesinde [131], tek proteinlerin tespitinde [132] ve küresel ve icosahedral (yirmi eşkenar üçgen yüzlü) virüs suşlarının belirlenmesi [133], [134] gibi farklı araştırma alanlarda kullanılmaktadırlar.



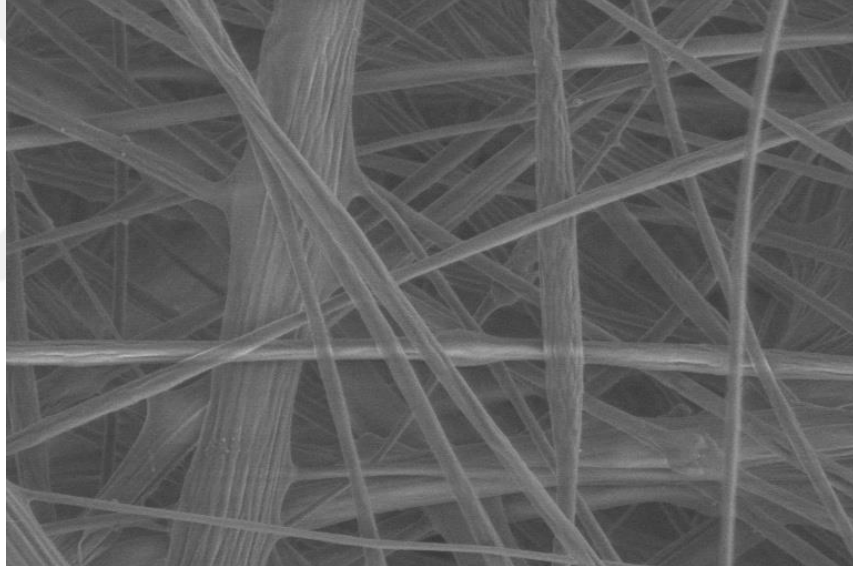
Şekil 2.4 Farklı gözenek çaplarına ve yoğunluğuna sahip nanoporlara ait SEM görüntüleri [135]

Şekil 2.4’ de görünen nanoporlar farklı gözenek boyutu dolayısıyla farklı çaplara sahiptirler. Bu porlar, gözenek oluşturan proteinler tarafından da oluşturulabilir [135]. Ayrıca silikon, grafen gibi sentetik materyaller üzerinde bir delik olarak oluşturulabilirler. Katı hal nanoporlar genellikle silikon bazlı birleşik

membranlarda yapılır ve en yaygın olanı silikon nitrürdür. İyon ışın heykelleme [128] veya elektron ışınlama [136] yöntemleri gibi çeşitli tekniklerle üretilebilirler.

2.2.6 Nanolifler

Nanolifler bilinen materyallerin gelişmesine olanak sağlayan nanoyapısal özellikleri nedeniyle son yılların etkili araştırma konuları arasında yer almaktadır. Nanolifler 1-100 nm aralığındadırlar. Şekil 2.5'den de görüldüğü üzere farklı çaplara sahip olan fiberlerdir. Nanoliflerin boyut olarak çok küçük olması, özellikle hacimlerine oranla yüzey alanlarının çok yüksek olması ve gözenekli yapıları onlara eşsiz kılınan fizikokimyasal özellikler kazandırmaktadır. Elastikiyeti, küçük gözenek ebatı, eksenel dayanıklılığı ve yüksek poroziteye sahip oluşu nanolifleri özel kılan özellikleri arasındadır [6], [92].



Şekil 2.5 Karvakrol yüklü nanoliflere ait SEM görüntüsü

Nanolifler bir yüzey üzerinde toplanırken tek tek veya toplu halde kullanıma uygundurlar. Geniş yüzey alanlarının sağladığı en önemli avantaj, kendi dışındaki, grup ve iyonları ve benzeri yapıları yüksek tutma kapasitesine sahip olmasıdır. Liflerin çapları liflerin iletkenlik derecelerini de etkilemektedir. Lif çapının artmasıyla iletkenlik tepki süresinin artmakta, fakat iletkenlik azalmaktadır. Bundan dolayı nanolifin çapı dolaylı olarak akım taşıma kapasitesiyle doğru orantılıdır [137].

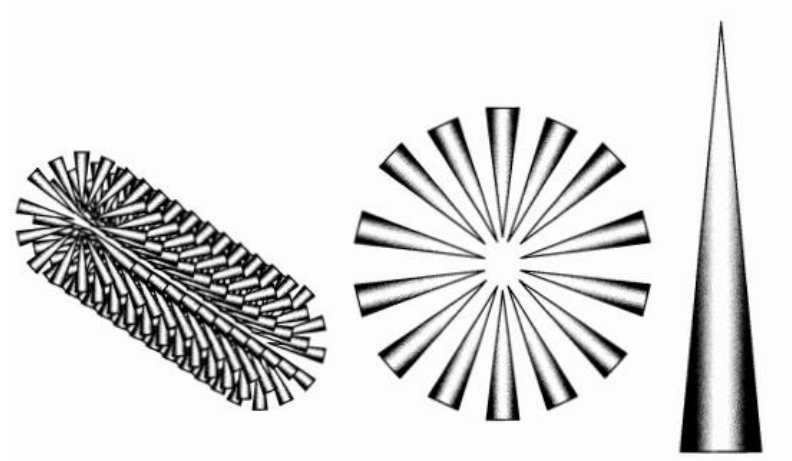
Nanolifler pek çok alanda kullanılmaktadırlar. Örneğin doğal polimerlerden elde edilen nanolifler doğal dokuların yerine geçici süreliğine ikame doku desteği olarak kemik kırıkta ya da sinirsel dokular için kullanılmaktadır [138], [139]. Bu durumların etkinliği ise şu şekilde açıklanmaktadır: yüksek yüzey alanı hücrenin adsorbe olacağı tutunma yüzeyini de artırdığından hücreler hızla tutunmakta ve lifler içerisinde büyümektedir. Nanolif kompozitler ve plastik ve seramik nanolifler dirençli mukavemet ve düşük elektriksel direnç göstermekte ve kullanımı artmaktadır [140]. Nanoliflerin biyomedikal uygulamaları da son yılların en etkin konuları olmuştur. Yüksek hava hapsedme kapasitesine sahip nanolif maskeler, yara iyileştiren, yara izini önleyen ve bakteri kalkanı oluşturan nanolif bezleri, ilaç ve taşıyıcı karışımlardan elde edilen kompozit nanolifler veya kollojen nanolifler ile insan vücuduna uyum sağlayan doğala özdeş dokular, elektrospin metoduyla üretilen bu nanoliflerin etkinlik derecesini ve önemini ortaya koymaktadır [131],[134].

Bunların yanı sıra nanolifler gıda alanında da fonksiyonel grupların, besin öğelerinin, bileşenlerinin etkinliğinin artmasında kullanılmaktadır. Aynı zamanda bu tip fonksiyonel gıda bileşenlerinin nanolifler içerisinde kontrollü salınımlarında veya kontrollü taşınımlarında kullanılmaktadır [142].

2.3 Nanoliflerin Üretim Yöntemleri

2.3.1 Kendiliğinden Tutunma Metodu

Kendiliğinden tutunma metodu aşağıdan yukarı yaklaşımına uyan bir metottur ve bloklar birleştirilerek daha büyük bir yapı inşa etmek üzerine uygulanan bir yöntemdir. Atom ve moleküller aralarında hidrojen bağları, elektriksel kuvvetler ve etkileşimlerle birbirlerine bağlanarak nanofiber yapıyı oluştururlar. Şekil 2.6'dan da görüldüğü üzere birbirine bağlanan moleküller eş merkezli olarak bağlanırlar ve düzlemin normalindeki uzama bir nanofiberin uzunlamasına eksenini vermektedir [143], [144]. Kendiliğinden tutunma metodunun temel mekanizması küçük molekülleri bir araya getiren moleküller arası bağlar olduğundan ve moleküller eş merkezli bağlandıkları için birleşen küçük moleküllerin şekli ana molekülün şeklini belirlemektedir.



Şekil 2.6 Kendiliğinden tutunma yöntemi ile üretilen nanoliflerin moleküler yapısı [136]

2.3.2 Faz Ayırımı Metodu

Bu yöntem gözenekli (porlu) polimer membranları üretmek için kullanılır. Metod beş ana basamak esas alınarak uygulanır. Bunlar:

- Polimer çözme,
- Jelasyon,
- Çözücü ekstraksiyonu,
- Dondurma,
- Dondurarak kurutma[143].

Çalışma mekanizmasının temel hedefi; fiziksel farklılıklardan yararlanarak fazların ayrımının sağlanmasıdır[145]. Ucuz ve uygulaması kolaydır. Fakat, analiz süreci uzundur. Ayrıca bir teçhizat olmadığı için sistem sürekliliği yoktur. İşlem basamakları her seferinde baştan uygulanmalıdır.

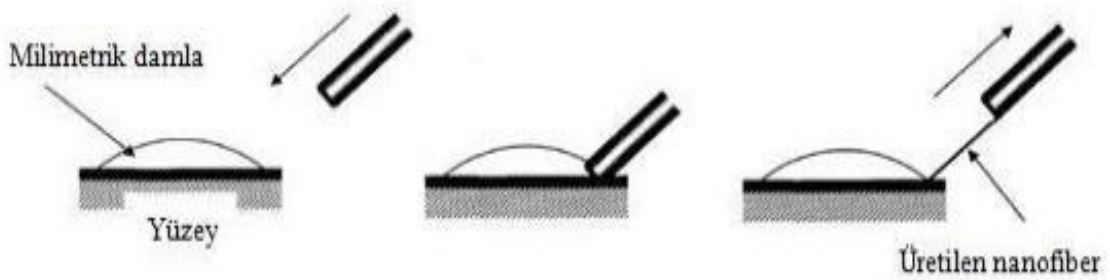
2.3.3 Şablon Sentez Metodu

Şablon sentez metodu, şablon veya kalıp kullanılarak nanolif üretiminin sağlandığı bir uygulamadır[145]. Şablon olarak kullanılan membrandaki gözenekler nanoliflerin üretileceği zemindir. Porların boyutları nanoliflerin çaplarını belirler. Bu nedenle farklı gözenekli membranlarla farklı çapta nanolifler üretilir. Ana prensip, elektrokimyasal olarak nanolifin sentezlenmesi için, polimer çözeltisinin membranda su basıncıyla itilerek çıkarılması ve katılaşma (solidification)

çözeltisiyle etkileşime geçmesidir [143]. Daha önce nanolif üretmek için yapılan bir çalışmada metal oksit membranı kullanılmıştır ve nanolifin çapının kalınlığını belirlemedeki en etkili parametrenin şablon olarak kullanılan alüminyum oksit membranı olduğu belirtilmiştir [146] .

2.3.4 Çekme Metodu

Çekme (drawing) metodu; bir mikromanipülatör kullanılarak polimer çözeltisinden belirli bir hızda enjektöre çekilen damla ile nanolif üretilmesi prensibine dayanır [143] .



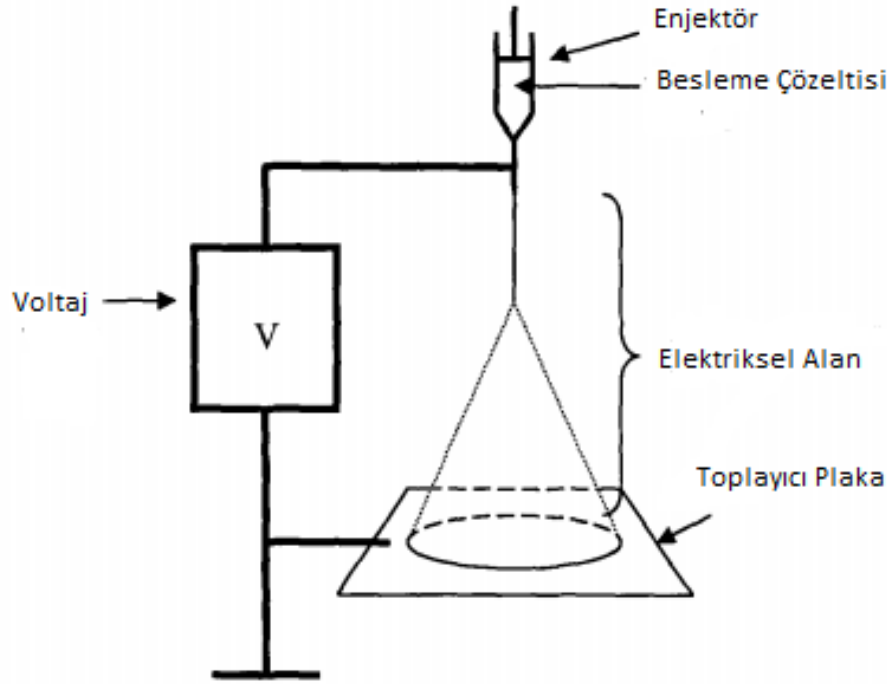
Şekil 2.7 Çekme metoduyla nanolif üretimi [136]

Şekil 2.7’den de görüldüğü üzere bir düzlem üzerine hazırlanan polimer çözeltisi damla halinde damlatılır. İnce uçlu mikropipetle ile veya mikromanipülatör ile şırınga damlanın içine batırılır ve yüksek hızda enjektöre çekilir. Çekme işlemiyle birlikte polimer incelerek nanolifi oluşturur. Damla yüzeyindeki buharlaşmadan kaynaklı damlanın viskozitesi artar ve kalın çaplı bir nanolif de düzlem üzerinde oluşur. Uygulama basittir. Fakat uniform nanolif eldesi için zor bir metoddur. Çünkü proses sürekliliği yoktur ve her nanolif için işlem baştan uygulanmalıdır.

Ondarcuhu ve Joachim [147] yaptıkları bir çalışmada sitrat moleküllerinden çekme metodu ile nanolif üretmişlerdir ve bu üretimde kullandıkları çekme hızı $1,10^4$ m/sn değerindedir.

2.3.5 Elektrospın Metodu

Elektrospın metoduna dair ilk patent 1934 yılında Anton Formhals tarafından alınmıştır. Fakat patentin içeriği, yani metodun disiplini, elektrostatik kuvvet kullanarak polimer filamentlerinin üretimi şeklinde belirtilmiştir[143].



Şekil 2.8 Elektrosin metodu prosesi [136]

Fakat elektrosin metodunun tanımı ilk kez Lord Rayleigh tarafından 1897 yılında yapılmıştır [148]. Daha sonra 1914 yılında ise Zeleny, 1960'lı yıllarda Sir Geoffrey Taylor belirli bir elektriksel alan içindeki polimerlerin hareketlerini incelemişlerdir [149] .

Lifler bu şekilde döndürmek için kullanıldığında, süreç elektrosin (elektrospinning) olarak adlandırılmaktadır. Başka bir deyişle, elektrik yüklü bir polimer çözeltisi veya polimer eriyiği ile nanofiberler oluşturulan bir prosestir. Nanolifler bu metod süresince hem elektrostatik parametre ve kuvvetlerden hem de hazırlanan polimer çözeltisinin tekstürel ve reolojik özelliklerinden etkilenmektedir. Polimer çözeltisi konsantrasyonu, viskozite, nanolif oluşturma ortamı, plaka enjektör arası mesafe, voltaj, akım, besleme çözeltisi hızı, şırınga ve iğne ucunun çapı, enjektör pompasının itme kuvveti gibi özellikler üretilen nanolifin morfolojik özelliklerinde değişime sebep olmaktadır[140] .

Şekil 2.8'den de görüldüğü üzere, ana hatlarıyla bir adet toplayıcı plaka, enjektör, enjektör iğnesi, besleme çözeltisi ve manyetik alan oluşturan akümülatörden oluşmaktadır. Yüksek voltajlı elektriksel alan enjektör iğnesinin ucundan çıkan her bir damlayı toplayıcı plakaya çekerek lif oluşturmakta ve topraklanmış toplayıcı

plaka üzerinde biriktirmektedir [136]. Toplanan lifler lif ağını oluşturmaktadır. Başka bir deyişle enjektör iğne ucundaki besleme çözeltisi damlacığı indüklenen elektrik tarafından eşit parçalara ayrılır ve manyetik alan içerisinde toplayıcı plakaya doğru lif oluşturur [150], [151] .

Elektrospın yöntemi nanolif üretmek için diğer metotlara göre daha avantajlıdır. Çünkü üretilen nanoliflerin morfolojik özelliklerinin kapasitesi oldukça geniştir. Aynı zamanda metod parametrelerinin istenen değişimi ile elde edilen nanoliflerin özellikleri değiştirilebilmektedir [152], [153] .

Nanoliflerde istenen en temel özellikler olan yüksek yüzey alanı, ve gözenek kontrolü gibi durumları kapsayan mekaniksel olgular elektrospın metoduyla sağlanabilmektedir [141].

Tablo 2.1 Nanolif üreten farklı işleme tekniklerinin karşılaştırılması [143]

İşleme Teknikleri	Endüstriye uygunluk	Süreci ölçeklendirme	Tekrarlanabilme	İşlem müdahalesi uygunluğu	Lif boyutu kontrolü
Çekme Metodu	Hayır	Hayır	Evet	Evet	Hayır
Şablon Sentez Metodu	Hayır	Hayır	Evet	Evet	Evet
Faz Ayrımı Metodu	Hayır	Hayır	Evet	Evet	Hayır
Kendiliğinden Tutunma Metodu	Hayır	Hayır	Evet	Hayır	Hayır
Elektrospın Metodu	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet

Doğal dokulara benzer istenilen çapta nanolif üretilmesi, çeşitli polimerlerin, polimer çözeltilerinin, organik, inorganik veya biyomoleküllerle karışımı rahatlıkla bu metotta uygulanabilmektedir. Özellikle doku destek yapılarının etkileşimlerini, hücre kültürlerinin değişimlerini ve materyal-doku ilerleyişini etkileyen, kontrol edebilen ve parametreleri bu durumlara göre değiştirilebilen bir metoddur.

Elektrospın yöntemi kullanılarak elde edilen nanolif çalışmalarına pek çok örnek verilebilir [1], [6], [154]–[158] .

Tablo 2.1’den de görüldüğü üzere elektrospın metodunun endüstriyel ölçeklerde proseslenebilmesi, işlem sürecinin zamanının ayarlanabilmesi, işlem boyunca istenilen süreçte prosese dahil olunabilmesi ve lif boyutlarının kontrolü, özellikle uzun ve istenen çapta olabilmesi, gözenek durumunun fazlalığı ve devamlı nanolif üretebilme imkânı [143] gibi sebepler dolayısıyla bu çalışmada nanolif üretim tekniğı olarak elektrospın metodu kullanılmıştır.

2.3.5.1 Elektrospın Metodunu Etkileyen Parametreler

Elektrospın metodunu etkileyen parametrelerin başında besleme çözeltisinin konsantrasyonu gelir. Çünkü çözelti viskozitesi diğer parametreler sabit tutulduğunda direkt nanolif çapını etkilemektedir. Çözelti konsantrasyonu ne kadar fazla olursa nanolif çap kalınlığı da o kadar fazla olur. Fakat besleme çözeltisinin konsantrasyonu elektriksel kuvvetin (voltajın) yenemeyeceğı kadar yüksek değerde ise çözelti yüzey gerilimi gerçekleşmez ve nanolif oluşmaz. Ayrıca iğne ucunda tıkanmalar meydana gelebilir. Konsantrasyonun çok düşük olması ise damlacıklı bir nanolif yapısının oluşmasına neden olur. Düzgün bir ağ tabakası oluşmaz. Bu nedenle polimer çözeltisi konsantrasyonu optimum konsantrasyona sahip olmalıdır [159]–[164] .

Moleküler ağırlık da elektrospın metodunda önemli olan diğer bir parametredir [164]. Moleküler ağırlığın yüksek oluşu konsantrasyonu artırdığından konsantrasyon ile benzer sonuçlar göstermektedir. Moleküler ağırlığın düşük olması nanolif ağında damlacıklı yapı oluşturmaktadır. Molekül ağırlığı yüksek olan besleme çözeltilerinin ise daha kalın çapta nanolif ürettiğı gözlemlenmiştir [141],[158].

Yüzey gerilimi besleme çözeltisi yüzeyini gergin tutan kuvvet olduğundan elektrospın metodunu etkileyen önemli parametrelerden bir diğeridir. Yüksek yüzey gerilimi nanolif oluşumunu doğrudan etkilemektedir [157],[159]. Yüzey geriliminin düşürülmesi, besleme çözeltisinin konsantrasyonunun artırılmasıyla sağlanabilir [167]. Yüksek yüzey gerilimi düşük konsantrasyonun sonuçlarına benzer sonuçlar vermektedir. Yüksek yüzey gerilimi, damlacıklı ve düzensiz bir

yapı oluşmasına sebep olur. Fakat çok düşük yüzey gerilimine sahip polimer çözeltileri de uygun nanolif yapısı oluşturmaz. Çünkü çözeltilerde görünen kayma basıncı etkileri nanolif ağını da etkilemektedir [10].

Elektriksel akıma gösterilen direnç o maddenin elektriksel iletkenliğinin ölçütüdür. Bir başka deyişle çözeltinin elektrik iletme gücü çözeltinin elektriksel iletkenliğini göstermektedir. Elektriksel iletkenlik çözeltinin tipi, konsantrasyonu ve sıcaklık değerlerinden etkilenir. Çözeltinin düşük direnci yüksek elektriksel iletkenliğinin olduğunun belirtisidir. Aynı zamanda polimer çözeltisinin içerdiği iyonize tuzlarda elektriksel iletkenliğin var olduğu belirtilerindendir. Yapılan bir araştırmada polimer çözeltisine iyonize tuz ilavesinin nanolif çapını 200 nm'den 1000 nm'ye kadar arttığı gözlemlenmiştir [168]. Fakat diğer parametreler gibi elektriksel iletkenliğinde çok yüksek ya da çok düşük olması istenmez. Çünkü yüksek iletkenlik nanolif çapını düşürürken, düşük elektriksel iletkenlik jeti kararsızlığa iterek damlacıklı nanolif oluşumuna sebebiyet verebilir [164].

Elektrospin metodunu etkileyen önemli bir işlem parametresi olan voltaj nanolif oluşumunu etkilemektedir. Çünkü belirli bir voltaj değerinden sonra çözelti elektrikle yüklenmekte ve nanolif oluşumu başlamaktadır. Proseste voltaj değeri arttıkça nanolif çapında azalma gözlemlenmektedir. Fakat belirli bir voltaj değerinden sonra jet düzensizliğe girer ve nanolif ağına damlacıklı yapı gözlemlenir [157],[162]. Bunların dışında voltaj değeri arttıkça nanolif çapının da arttığını [138], aynı zamanda damlacıklı nanolif oluştuğunu belirten çalışmalar mevcuttur [170].

Besleme çözeltisinin hızı ve besleme çözeltisiyle toplayıcı plaka arasındaki mesafe de önemli parametreler arasındadır. Besleme çözeltisinin hızının yüksek olması nanolif çap kalınlığını artırmakta aynı zamanda damlacıklı yapı oluşumuna sebebiyet vermektedir. Ayrıca hızın yüksek olması elektriksel kuvvetlerin yüklenebilmesi için gereken süreyi kısaltmaktadır. Bu nedenle besleme çözeltisinin debisi mümkün olduğunca düşük uygulanmalıdır. Yeterli düşük hızda enjektörden hareket ettirilen çözelti elektriksel alan içerisinde daha kolay buharlaşabilir ve daha dengeli nanolif oluşumuna sebebiyet verir [10]. Besleme çözeltisiyle toplayıcı plaka arasındaki mesafenin uygunluğu çok önemlidir. Çünkü enjektör ucundan çıkan besleme çözeltisi damlacığı bu mesafe aralığında buharlaşır ve toplayıcı

plakaya doğru elektriksel kuvvetle lif oluşumunu gerçekleştir. Mesafenin az olması çözgenin yeterince buharlaşamaması ve damlacıkta yeterli elektriksel kuvvet ayrılığı sağlanamamasından ve toplayıcı plakada damlacıklı yapı oluşturabilme ihtimalinden dolayı istenmeyen bir durumdur. Mesafenin olması gerekenden uzun olması da nanolif, çapının çok inceltmesine rağmen toplayıcı plakaya ulaşamaz ve istenmeyen başka alanlara birikir [155],[164].

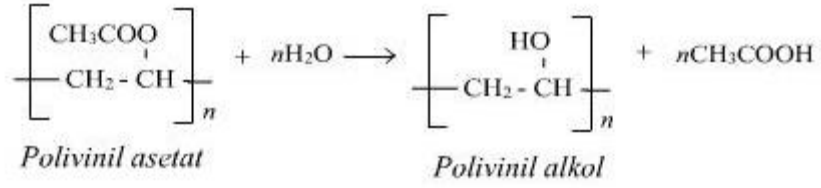
Çevresel faktörler de en az işlem parametreleri kadar nanolif morfolojisini etkileyen etmenler arasındadır. Sıcaklık ve nemin nanolif morfolojine etkisi oldukça güçlüdür. Çünkü sıcaklığın artışı doğrudan vizkoziteyi etkileyen bir durumdur. Yapılan çalışmalara göre; sıcaklık artışının nanolif çapında azalmaya sebep olduğu ve ortamın nem değerinin artmasının da nanolif ağında damlacık oluşturduğu belirtilmiştir [10], [172]. Bağlı nemin nanolif çapına etkisi araştırılan bir araştırma sonucuna göre; ortamın bağlı neminin yüksek olması, nanolif ağının daha düzgün ve homojen olduğunu ve nanolif çapının bağlı nem arttıkça arttığı belirlenmiştir [151].

2.4 PVA

Polivinil alkol, (PVA); dirençli termal özelliklere özelliklere sahip son derece hidrofilik, toksik olmayan ve biyo-uyumlu bir yarı kristalli polimerdir [173]–[176].

2.4.1 PVA'nın Kimyasal Yapısı

PVA, beyaz küçük granüler yapıdadır. Özgül ağırlığı 1,19-1,31 g/dm³, camsı geçiş sıcaklığı 85°C'dir. Ticari PVA yüksek hidroliz derecesine (%98'in üzerinde) sahiptir. Temel uygulama alanlarında oksijene karşı dirençli filmler, yapıştırıcılar, tuz arıtım membranları ve gıda ambalajlama materyalleri vardır [177]. PVA yüksek kimyasal kararlılığa ve mekanik mukavemete ve esnekliğe sahiptir. PVA'nın nanolif üretiminde polimer olarak kullanılması, hidrojen bağlarıyla moleküler seviyede güçlü iletişim kurması ve sulu çözeltilerinin kolaylıkla nanolif üretebilme kapasitesinin yüksek olması nedenler arasındadır [178]. PVA uzun süreli termal ve mekanik stabiliteye sahiptir [179] ve çözelti karışımlarında enzim reaksiyonlarına diğer polimerlere göre olumsuz yan etki göstermemektedir. Bu nedenle protein içerikli bileşenlerle rahatlıkla kullanılabilir [180].



Şekil 2.9 Polivinil alkole ait kimyasal yapı

Şekil 2.9'dan da görüldüğü üzere PVA tekrarlanan vinil alkol biriminden oluşan bir polimerdir ve vinil asetatın polivinil asetata polimerizasyonu ve daha sonrasında polivinil asetatın hidrolizi yoluyla polivinil alkol elde edilmektedir.

2.4.2 PVA'nın Nanoteknoloji ile İlişkisi

Sentetik, biyolojik olarak parçalanabilir (biyobozunur), ve yenilebilir kaynaklardan elde edilen polimerler, başta çoğunlukla biyomedikal ve tarımsal uygulamalar için geliştirilse de aynı zamanda gıda ambalaj endüstrisinde de uygulamaları bulunmaktadır [174],[175]. Doğal polimerlere göre daha fazla avantajlara sahiptir. Çünkü istenilen özelliklere göre uyarlanabilirler ve istenildiği gibi parçalanabilir veya dönüştürülebilirler. Ayrıca elde edilmesinde kullanılan hammadde kaynaklarına ulaşım daha kolay ve ucuzdur [176],[177]. Suda çözünür polimer tiplerinden elektrospin metodunda kullanılan polimerlerden en yaygın olanları polivinilpirolidon (PVP), polivinil alkol (PVA) poliakrilik asit (PAA), polietilen oksit (PEO) ve jelatindir [185]. PVA'nın yapısının açık uçlu zincirlerden oluşması sebebiyle polielektrolit özellik göstermesi nanolif üretmek için uygun bir polimer olduğunu göstermektedir [186]. Polietilenoksit ve polivinilpirolidon gibi diğer polimerlerde elektrospin yoluyla düzgün lif ağları oluşturabilse de, belirli uygulamalardaki suya karşı gösterdikleri hassasiyet, yani hızlı parçalanma durumu onları PVA 'ya göre dezavantajlı durumda göstermektedir [187]. Polivinil alkol biyo-uyumlu bir polimer tuzudur ve ticari olarak polivinil asetatdan alkali hidroliz yoluyla elde edilir. PVA düşük gaz (oksijen ve karbondioksit) geçirgenliğine sahip olduğu için özellikle gıda ambalajlama uygulamalarında kullanılmaktadır [181]-[183].

PVA polimeri fiziksel ve mekaniksel özelliklerini geliştirmek için başka matrikslerle veya farklı ajanlarla örneğin gıda katkı maddeleriyle (sitrik asit, tartarik asit) birlikte birleştirilebilir [191]. Bu mekaniksel özellikler su geçirgenliği,

denge sorpsiyonu, yayımlı hareketlilik gibi endüstride önem arz eden faktörlerdir [192]. PVA yüksek hidroliz gücüne sahiptir. Diğer polar polimerler ile etkileşime girme potansiyelinin yüksek olması, hidroliz derecesinden kaynaklanan bir fonksiyon olduğu düşünülmektedir [193]. Bu yüksek hidroliz gücünden kaynaklı uygun sıcaklık ve çözgünde çözünebilen PVA ile hazırlanan polimer çözeltileri reolojik analiz parametreleri sonucuna bağlı olarak, elektrospin metoduyla çok geniş yelpazede lif üretebilirler [194]. PVA polimeri ve farklı kimyasal ve fiziksel özelliklerin ayarlanabilmesi için avantajlar sağlayan işlevsel bir polimerdir [187]. PVA sadece fiziksel güçlendirmeler değil yapısal güçlendirmeler içinde pek çok çalışmada kullanılmıştır. Örneğin, selüloz nanokristalleri içeren PVA nanokompozitinin, antibakteriyel aktivitesi araştırılan bir çalışmada, kompozitin *E. coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olduğu bildirilmiştir [195],[196]. PVA polimerinin istenilen morfolojik yapıda nanolifler üretmesinden kaynaklı, pek çok çalışma da farklı amaçlarla nano ölçekteki partiküller ile karışımları mevcuttur. PVA/AgNO₃ (gümüş nitrat) karışımının elektrospin yöntemiyle üretilen nanoliflerinin yaralar üzerindeki antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, UV ışınlamaya maruz bırakılan nanoliflerin yapısında olumlu değişiklikler gözlemlenmiştir. Çünkü PVA'nın UV ışınlama sonucunda hidrojen atomları sayısında artış olduğunu ve PVA'nın hidrojen atomlarının gümüş iyonlarına göre daha güçlü interaksiyonlara sahip olduğu belirtilmiştir[197].

Elektrospin yöntemiyle üretilen PVA nanoliflerinin su stabilitesi ve hidroliz derecesi ile etkileşiminin araştırıldığı bir çalışmada, PVA polimer çözeltisindeki PVA konsantrasyonunun besleme çözeltisi yüzey gerilimini etkilemediği sonucuna varılmıştır [193]. Bu değerlendirme; PVA'nın konsantrasyonunun, üretilen nanolif ağını olumsuz etkilemeyeceği kanısına vardırabilir. Çünkü parametre etkilerinde de açıklandığı üzere, elektrospin yöntemi parametrelerinden diğerleri sabitken, yüzey geriliminin olması gerekenden yüksek veya olağan dışı çok düşük olması nanolif ağ yapısını olumsuz etkilemektedir.

PVA'nın moleküler ağırlığının, glutaraldehit ile çapraz bağlanmış nişastadan üretilen filmlerin üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, PVA'nın molekül ağırlığının ve veya depolama günlerinin PVA'nın su buharı geçirgenliği üzerinde önemli bir etkisi olmadığı belirtilmiştir [198]. Yine PVA'nın hidroliz derecesinin ve

moleküler ağırlığının, balık miyofibriler proteinler ile PVA karışımından üretilen filmler üzerinde etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada PVA'nın molekül ağırlığının büyüklüğünün filmler üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı rapor edilmiştir [199].

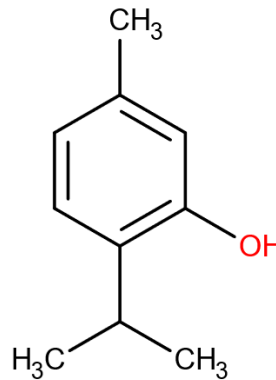
Gıda güvenliği ve paketlenmesinde nanoteknolojik uygulamaları konu alan bir çalışma da PVA polimerinin gümüş nano partikülleriyle farklı karışımlarından üretilen nanoliflerin antimikrobiyal etkisi olduğu belirtilmiştir [66]. Buna ek olarak gümüş nanopartikülleriyle PVA'nın gıda ambalajlamada kullanıldığı pek çok çalışma mevcuttur [200]–[202].

2.5 Timol

Thymus vulgaris ten elde edilen timol, güçlü antioksidatif [27] ve antiseptik özelliklere, aromatik bir kokuya ve keskin bir tada sahip monoterpenoid fenol türevidir.

2.5.1 Timolün Kimyasal Yapısı

Timol (5-methyl-2- isopropylphenol) monoterpenler grubuna ait bir fenol türevidir (Şekil 2.10). Kekik (*Thymus vulgaris*) esansiyel yağının en etkili bileşenidir [203]. Moleküler formülü $C_{10}H_{14}O$ şeklinde gösterilir. Kaynama noktası $232,5^{\circ}C$ 'dir [197],[198]. $20^{\circ}C$ 'deki suda çözünürlüğü 900 mg/L' dir [206]. Önerilen depolama koşullarında stabildir ve kararlıdır [207].



Şekil 2.10 Timole ait kimyasal yapı

Timol, *Lamiaceae* grubuna dahil bitkilerde de bulunabilir [208]. Timolün antifungal, antibakteriyel, antioksidan ve antiseptik özelliklerinin incelendiği pek çok çalışma mevcuttur [206]–[217].

2.5.2 Timolün Gıda Teknolojisi Çalışmalarındaki Yeri

Mikroorganizmalara karşı en çok aktivite gösteren bitkiler; karanfil, tarçın, oregano ve kekiktir ve ana bileşenleri sırasıyla öjenol, sinnamaldehid, karvakrol ve timoldür [218]–[220]. Kekik yağının (timol[5-metil-2-(1-metil)-fenol]) antimikrobiyal aktivitesi, genellikle % 45 konsantrasyonlarda etkilidir [221]. Ama bu durum kekiğin hasat edilme zamanına, kekikten esansiyel yağın çıkarılması zamanına, coğrafik bölgelere ve iklim koşullarına göre farklılık göstermektedir [222]. Bir çalışmaya göre baharatlar antimikrobiyal güçlerine göre 3 sınıfa ayrılmıştır. Güçlü sınıfta; tarçın, karanfil, hardal, orta sınıfta; yenibahar, defne yaprağı, kekik, kimyon ve biberiye ve zayıf sınıfta ise: karabiber, kırmızı biber ve zencefil bulunmaktadır [223]. Güçlü patojenler olarak bilinen *Aspergillus* spp., *Aspergillus parasiticus*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, , *Shigella sonnei*, ve *Shigella flexneri* gibi türlere, güçlü sınıfta yer alan tarçın, karanfil ve hardalın etkisinin olabileceği belirtilmiştir [224].

E.coli O157:H7'nin gelişimine karşı çeşitli baharat özlerinin (kimyon, defne, mersin, kekik, adaçayı ve kekik) antimikrobiyal aktivitesini araştırıldığı bir çalışmada sadece kekiğin, hem kağıt disk analizinde hem de karıştırılmış sıvı kültür analizinde bakteri üremesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir [225].

Bazı peynir çeşitleri üzerinde yapılan timol ve timol içeren esansiyel yağ karışımlarının antifungal etkisi araştırılmış ve bu çalışmalarda timolün etkili bir inhibitör olduğu belirtilmiştir [26],[217],[218].

Timolün, bu çalışmada kullanılan *Aspergillus parasiticus*'a karşı antifungal etkisinin araştırıldığı çalışma az olsa da *Aspergillus* türlerine karşı timolün etkisinin olduğunu rapor eden pek çok çalışma mevcuttur [228]–[233].

Kekik, kimyon, karanfil, kimyon, biberiye ve adaçayından elde edilen uçucu yağların, *Aspergillus parasiticus* 'un sentetik bir ortamda gelişimine antifungal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *Aspergillus parasiticus*'un gelişmesinin

tamamen önleildiği ve kekik esansiyel yağı olan timolün, diğer yağlar arasında en etkilisi olduğu rapor edilmiştir [234].

Gıdayı korumaya yönelik çalışmalarda yer bulan antimikrobiyal/antifungal etkisi olan bu esansiyel yağlarla, artık gıdayı yeni koruma yöntemleri geliştirilmektedir. Farklı yöntemlerle gıda ambalajlama ve paketleme gibi alanlarda kullanılmaktadırlar. Timol ve benzeri esansiyel yağlar antifungal ve antibakteriyel özellikleri göz önünde bulundurularak bazı yenilebilir film üretimlerinde de kullanılmıştır. Örneğin, karidesin raf ömrünü artırmak için yapılan bir çalışmada peynir altı suyu tozu proteini, soya proteini, trans sinamaldehyd ve timol karışımının karidesin raf ömrüne olumlu yönde etki ettiği rapor edilmiştir [235]. Başka bir çalışmada da; modifiye atmosfer paketleme ile ambalajlanmış kuzu etine %0,1 kekik yağı ilavesinin, gıdanın raf ömrünü uzattığı belirtilmiştir [236].

%1-2,5 konsantrasyon aralığında kekik, kimyon ve tarçın esansiyel yağları ile peynir altı suyu tozu proteininden elde edilen yenilebilir filmlerin çiğ ete kaplandığı ve 12 gün 5°C sıcaklıkta depolandığı bir çalışmanın analiz sonuçlarına göre, çiğ etin raf ömrünün iki kat arttığı rapor edilmiştir [237].

Bu çalışmalara ek olarak gün geçtikçe önem kazanan nanoteknoloji alanında da antimikrobiyallerin kullanımı mevcuttur. Çünkü antimikrobiyal, antifungal etki gösteren maddelerin nanopartiküller içine kapsüllenmesi, bu maddelerin antimikrobiyal/antifungal etkinlik ve kararlılık derecesini artırabilir. Bu nedenle antimikrobiyal enkapsüle edilen nanoyapılarla veya antimikrobiyal aktiviteyi kendiliğinden barındıran nanoyapılarla ilgili süreçte, antimikrobiyal aktiviteyi karakterize etmek için uygun yöntemi seçmek çok önemlidir. Nanopartiküler sistem; lipozomlar veya polimerler tarafından oluşturulan kolloidal yapı olarak tanımlanmaktadır. Polimerlerin lipozomlara göre daha çok tercih sebebi olması ise depolama sırasında, biyolojik sıvılarda stabilitelerinin artıyor olmasıdır. Yöntemlerde kullanılan taşıyıcı yani polimer de bu nedenle önemlidir.

Nanoenkapsülasyon, katı, sıvı veya gaz halindeki maddelerin küçük parçacıklar halinde (mikro ve nano ölçekli) kapsüllerde paketlenmesi şeklinde tanımlanır. Biyoaktif maddelerin gıda bileşenleri ile kapsüllenmesi, bileşiklerin stabilizasyonunu sağlar ve etkileşimler nedeniyle bozunmasını engelleyebilir. Ayrıca uçucu yağları stabilize edebilir, kontrollü salınımlarını sağlayabilir ve

bileşikleri bozunmaya neden olabilecek ışık ve oksijen gibi çevresel faktörlerden koruyabilir [238]. Yapılan bir çalışmada β -siklodekstrin içine kapsüllenmiş timol uçucu yağının, kapsüllenme neticesinde mevcut kokunun azaldığı ve kontrollü salınımların yapılabildiği rapor edilmiştir [239]. Yine bir çalışmaya göre tarçın yaprağı ve sarımsak uçucu yağları B-siklodekstrin içine kapsüllenmiş ve meyve ve sebzelerin depolama sırasında çürümelerine neden olan *Alternari alternata*'ya karşı antibakteriyel etkisi rapor edilmiştir [240]. Buna ek olarak timolün keskin aromatik kokusunun, gıdada oluşturabileceği olumsuz tat ve aromanın da, gıdalarda kullanımı sınırlamaktadır. Bu olumsuzlukların azaltılması ve biyoaktif maddelerin yüzey alanını artırarak özelliklerinin geliştirilmesi için, kapsülleme teknikleri önerilmektedir [34], [35]. Mikrobiyal gelişimi sınırlamak için nanolif üreterek gıda yüzeyinin kaplandığı birkaç çalışma mevcuttur [36], [37]. Bu çalışmalardan yola çıkarak peynir yüzeyindeki antifungal gelişme, timol uçucu yağının biyoaktif madde olarak kapsüllemesi ve elektrospın metodu ile üretilen nanoliflerle sınırlandırılabilir.

2.6 Peynir Altı Suyu Proteinleri (PASP)

Gıda proteinleri enkapsülasyon matriksleri olarak mükemmel kaynaklardır, çünkü biyoaktif maddeler üzerindeki taşıyıcı ve koruyucu etkilerine ek olarak, hem besin değerleri yüksektir, hem de faydalı yüksek fonksiyonel özellikler gösterirler [241]–[243].

2.6.1 PAS Proteinlerinin Kimyasal Yapısı

Peynir altı suyu proteinleri peynir endüstrisinden bir yan ürün olarak elde edilen bir protein türüdür. Peynir altı suyu proteinleri, kazeinatın pıhtılaştırılmasından sonra geriye kalan β -laktoglobulin, α -laktalbumin, bovin serum albümini ve immünoglobulinler çeşitli proteinlerin bir karışımından oluşan çözünabilir proteinlerdir [234],[235]. Hidrofilik yapıdadırlar küçük moleküller dahil kendiliğinden bağlanma, yüksek yüzey aktivitesi ve iyi jelleşme özelliklerine sahiptirler [246]. PAS proteinleri globüler proteinlerdir. Suda rahatlıkla çözünabilirler. İyonik oldukları için elektrostatik etkileşimlere geçebilirler, katılabilirler. Fakat pH (4,7-5,0) durumlarına göre, çözelti izoelektrik noktaya denk

gelirse çözünmezler [247]. Emülgatör görevi görebilmeleri fonksiyonlarıyla, kapsüllemenin emülsifikasyon işlemini kolaylıkla gerçekleştirirler. Bu nedenle farklı kapsülleme yöntemleriyle etkinliklerini kaybetmeden kapsüllenebilirler [248].

2.6.2 PAS Proteinlerinin Gıda Teknolojisindeki Yeri ve Önemi

Yenilebilir film üretiminde ve gıda koruma amaçlı kaplamalarında, fonksiyonlarına bağlı olarak pek çok bileşen kullanılabilir. Başlıca bileşenler; polisakkaritler (nişasta ve türevleri, selüloz türevleri, aljinat, karragenan, kitosan, pektin ve zamklar), proteinler (kazein ve peynir altı suyu proteini, buğday glütenu, soya proteini) ve lipitlerdir [249]–[251].

PAS proteinleri biyolojik olarak parçalanabilirliği yüksek olduğu için, elastik filmler oluşturabilir ve gıda ambalajlama için hammadde olarak kullanılabilir [252]. Yenilebilir film olarak veya gıda ambalajlamadaki bu kullanımın sebebi dış reaksiyonlara az hassasiyet göstermesinden kaynaklanıyor olabilir. Proteinin propilen glikol ile çapraz bağlanmasıyla, kovalent bağlar yoluyla protein ve polisakkarit arasında fonksiyonel kovalent bağların durumu, bunların pH, tuz konsantrasyonu ve sıcaklık gibi değişkenlere daha az hassas olmasını sağlar [243],[244].

Enkapsülasyon yöntemlerinde bitkisel proteinlere oranla daha çok hayvansal proteinler tercih edilmektedir. Yüksek çözünürlük, geniş pH aralığı, düşük moleküler ağırlık ve matriks olarak daha elastik olmaları, tercih edilme sebepleri arasındadır [255]. Bitkisel proteinlerin tercihi ise, daha ucuz olmaları ve bitkisel kaynaklı (tüketici özel tercihi sebebiyle) olmalarındandır. Süt proteinlerinin, enkapsülasyon etkinliği metod ve trendlerinden bahsedilen bir çalışmada en çok kullanılan proteinler PAS proteinleri ve kazeinlerdir şeklinde rapor edilmiştir [256].

α -linoleik asidin kapsülasyonu için matriks (taşıyıcı) ve emülsiyon stabilizatörleri olarak PAS ve soya proteinlerinin kıyaslandığı bir çalışmada; her iki protein de başarılı bir şekilde enkapsülasyon etkinlik değeri (%60) vermişlerdir. Fakat serbest α -linolenik asit, elektrospinlenmiş PAS proteinleri içinde %67, soya

proteinleri içinde ise %43'e varan oranlarda bozulmadan stabil kalabilmişlerdir [257].

Balık yağının emülsifikasyonu ve püskürterek kurutma ile Omega-3 yağ asitlerinin sütte kapsüllenmesinin çalışıldığı bir araştırmada kapsüllenmenin yağın stabilitesini artırdığı [258] ve keten tohumu yağının, peynir altı suyu proteinine enkapsüle edilmesinin yağın termal stabilitesini geliştirdiğini [259] belirten bu iki çalışmada; peynir altı suyu tozu proteinlerinin istenen organoleptik özellikleri gösteren ve yüksek oksidatif stabiliteyi sağlayan çok iyi bir taşıyıcı olduğunu vurgulanmıştır.

PAS proteinlerinin, probiyotik bir *Lactobacillus plantarum*'un mikrokapsüllenmesi için matriks olarak kullanıldığı çalışmada elektrospin parametreleri tespit edilmiştir [260]. Bu çalışmaya göre PAS'ın (%80 protein içeren) matriks olarak kullanılmasına; karakteristik fonksiyonel özelliklerinin çok olması ve daha önce yapılan bir çalışmada *Bifidobacterium animalis*'in PAST matriksine enkapsüllenmesinin başarılı bir şekilde yapılmış olması sebepler arasında gösterilmektedir [251],[252].

Lactobacillus plantarum suşlarının, peynir altı suyu proteinleri ile kaplanmış kalsiyum aljinat taneciklerine enkapsüllenmesini konu alan çalışmada; peynir altı suyu proteinlerinin bakterilerle yüklü alginat taneciklerini kaplamak için uygun, ucuz ve etkili bir materyal olduğunu rapor edilmiştir [263].

Biyopolimerik sistemdeki probiyotik bakterilerin enkapsülasyonunu konu alan bir çalışmada, PAS proteinlerinin enkapsülasyon metodlarına göre farklılık göstereceği göz önünde bulundurularak, enkapsülasyon için iyi bir matriks/taşıyıcı olduğundan ve bu durumun insan sağlığını olumsuz etkilemeyeceğinden ve hatta karakteristik özelliklerinin fayda sağlayabileceğinden bahsedilmiştir [264].

Kaküle esansiyal yağının peynir altı suyu proteini izolatu matriksinde tek başına ve guar gam ve karregen gam ile kombinasyonlarından oluşan matrikste enkapsüle edilmesi ve enkapsülasyon etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, Sadece PAS proteinleri içeren mikro kapsüllerin en yüksek sıkıştırılmış yağa (%7.5) ve mikrokapsülleme verimliliğine (%98.5) sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda %30 PAS proteinleri ve %30 PAS proteinleri + Guar gam

mikrokapsülleri, depolama süresince iki depolama sıcaklığında (20, 35°C) kaküle esansiyel yağını en iyi koruyan konsantrasyon oranı olarak belirtilmiştir. Kaküle esansiyel yağını kapsülleyen en iyi formülasyonun %30 PAS proteinleri olduğu rapor edilmiştir [265].

Likopenin yenilebilir farklı matriksler içine (dekstrin, PAST, kitosan) sprey-kurutma ve elektrospin metotları kullanılarak enkapsülasyonun yapıldığı bir çalışmada likopenin stabilitesi ve morfolojisi incelenmiştir. Tüm matriksler ile kapsülleme işlemi gerçekleştirilmiş olsa da, sprey-kurutma yöntemindeki yüksek sıcaklık uygulaması likopenin etkinliğini ve stabilitesini düşürmüştür. Buna ek olarak PAST'ın en yüksek enkapsülasyon etkinliğine/verimine (%75) sahip olduğu belirtilmiştir. Dahası PAST'ın likopeni termal ve nem kaynaklı bozulmalara karşı daha iyi koruduğu rapor edilmiştir [266].

2.7 Kaşar Peyniri

İşlenmiş gıdalarda oluşan olası mikrobiyal bozulmaları engellemek veya sınırlandırmak için hâlâ yaygın bir şekilde ısısal işlem kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan ısısal işlem uygulamaları en çok süt endüstrisindedir. Fakat gıda işleme sürecinde uygulanan ısısal işlem, işlenmiş ürün için artık etkili değildir. Oluşturulan süt ürünleri tüketilene kadar korunmaya devam ettirilmelidir. Bu nedenle süt ve süt ürünleri güvenliği için yeni teknolojilerin uygulanması önem kazanan gıda sektörlerinden biridir [267]. Yeni teknolojileri uygulamanın yanı sıra süt bazlı ürünlerin korunmasında, esansiyel yağların önemli rol oynadığı, süt ürünlerinin güvenliği ve kalitesine olumlu etkiler yapabileceği belirtilmiştir[268].

Süt ürünleri arasında en yaygın tüketilen ürün peynirdir [269]. Dünya Sağlık Örgütünün verilerini baz alan bir çalışmaya göre, 20 (1990-2009) yıllık bir örnekleme Türkiye'de kişi başına düşen, yıllık peynir tüketim miktarının azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmaya göre peynir üretiminin ve ithalat/ihracatın en fazla ABD ve AB ülkelerinde olduğu istatistiki verilere göre verilmiştir [270]. Peynir, süt ürünleri arasında besin içeriği yönünden zengin olması yani besleyici değerinin diğer süt ürünlerine göre daha yüksek olması sebebiyle beslenmede çok önemlidir. Ayrıca çeşitliliği ve çeşitliliğinden kaynaklı farklı özellikler sergilemeleri nedeniyle en zorlu mandıra ürünü peynirdir. Peynir biyokimyasal olarak

dinamiktir ve stabilitesi kolay etkilenir kararsızlığa daha yatkındır [271]. Türkiye'nin bu gündemde geride kalmasının sebebi peynir muhafazasının dolayısıyla taşınım ve depolama durumlarının yeterli olmayışı olabilir. Bu nedenle peynir muhafaza yöntemlerinde yeni stratejiler geliştirmek önemli olabilir.

2.7.1 Kaşar Peynirinde Olan Bozulmalar

Aflatoksin içeren yemlerle beslenen hayvanlar, karaciğerlerinde AFB1'i metabolize ederler ve monohidroksi türevi olan Aflatoksin M1 (AFM1)'e dönüştürürler [17], [272]. Özellikle gelişme çağındaki bebek ve çocuklar tarafından daha çok tüketilen bu sütlerin önemini artıran nokta ise AFM1'in pastörizasyon işleminden etkilenmemesidir [273]. Ayrıca kontamine olmuş yemlerden kaynaklı, sütlerde AFM1 bulunmasının yanı sıra, bu süt ve süt ürünlerinde depolama ve olgunlaşma sırasında AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 gibi toksinleri üreten küflerin gelişimi de, bu duruma sebep olmaktadır [23].

Süt ürünlerinden en çok tüketilen ürün olan peynirler arasında Türkiye 'de en çok tüketilen peynirler sırasıyla beyaz peynir ve kaşar peynirdir [274]. Literatürde yer alan bir çalışmaya göre ise; Türkiye'de en yaygın tüketilen süt ürününün kaşar peyniri olduğu bildirilmiştir [275]. Araştırmalara göre aflatoksin içeren peynirlerin tüketimiyle olası aflatoksikozis oluşması sağlık açısından çok tehlikelidir. Literatürde peynirlerde aflatoksin tespiti yapıldığı sayısız çalışma mevcuttur [13], [276]–[278].

Peynirlerin (200 kaşar peyniri, 200 beyaz peynir, 200 işlenmiş peynir) AFM1 düzeyinin belirlenmesine yönelik bir çalışmada, 600 örnek ELİSA yöntemiyle incelenmiş, en yüksek AFM1 miktarı 800 ng/kg olarak kaşar peynirinde bulunmuştur [279]. Bu riskin kaşar peynirlerinde daha çok rastlanmasının neticesi olarak özellikle kaşar peynirlerinde aflatoksin tespiti yapıldığı pek çok çalışma mevcuttur. Çalışılan örnek sayısı ve AFM1 miktarları sırasıyla, 75 örnekte, 55-850 ng/kg [280]; 125 örnekte, 10-740 ng/kg [11]; 14 örnekte 7-68 ng/kg [13]; 200 örnekte 120-800 ng/kg [279]; 132 örnekte 50-690 ng/kg [281] aralığında tespit edilen değerler bu tarz çalışmalardandır.

Bu nedenle aflatoksin riskini azaltmak maksadıyla çeşitli kontrol araştırmaları yapılmaktadır [16]. Bu araştırmalar ya hayvan yemlerinin kontaminasyonunun

önlenmesi, ya da ürünlerdeki küf gelişiminin engellenmesi amacıyla yapılmaktadır. Hayvan yemlerinin olası kontaminasyonu önlemek, çok geniş hakimiyet isteyen bir alandır. Fakat süt ürünlerindeki küf gelişimini önlemeye yönelmek, daha olası ve nihai üründe istenen sonuca ulaşmak için daha uygundur. Bu nedenle, özetle; mikotoksin riskini azaltmak için, süt ürünleri üzerindeki küflerin gelişimini engellemek ve yeni yöntemler geliştirmek çok önemlidir.

2.7.2 Kaşar Peynirinin Raf Ömrünü Etkileyen Çalışmalar

Kaşar peynirlerinin raf ömrünü uzatmak, onları olası küf oluşumlarından korumak için yapılan, pek çok çalışma mevcuttur.

Kaşar peynirinin raf ömrünün arttırılması üzerine yapılan bir çalışmada bir grup peynir örneği %5-10 K-sorbat çözeltisi ile muamele edilip, vakum paketlenme ile ambalajlanmıştır. Bir grup örnek de aynı çözeltiyle muamele edilip waks ile kaplanmıştır. %10 K-sorbat içeren ve waks laminasyonu yapılan kaşar peynirlerinde küflerin istatistiki açıdan anlamlı bir şekilde etkilendiğini fakat kombinasyonun raf ömrünü etkilemek için yeterli olmadığını ve waks ile muamelenin kaşar peyniri duyusal karakterini tat ve koku açısından olumsuz etkilediği rapor edilmiştir [282].

Natamisin ve PVC (Sperdex-Ref:99017) ile ambalajlanan kaşar peynirlerinin bozulma etmenlerinin incelendiği bir çalışmada paketlenme materyalinin, kaşar peynirlerindeki toplam mezofilik bakteri sayısına etki etmediği fakat küf gelişimini inhibe ettiği belirtilmiştir [283].

Peynir altı suyu protein izolatu ve natamisin ile baharat uçucu yağı içeren yenilebilir filmlerin kaşar peynirine uygulandığı bir çalışmanın sonucuna göre; filmlerin *L. plantarum*, *S. enteritidis*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkilerinin olduğu belirtilmiştir. *Penicillium* sp. bulaştırılmış kaşar peynirinde ise en fazla etki natamisin ilaveli örnekte tespit edilmiştir (1. günde 0,33 log, 7. günde 1,45 log düşüş). Depolama süresinin 1. gününde küf bulaştırılmış peynirlerde natamisin dışındaki karışımlarda bir azalma saptanmamıştır. Kekik ekstraktı ilaveli yenilebilir film içeren örnekte ise; 7. günde 0,92 log azalma belirlenmiştir. Depolamanın 7. gününden sonra ise bütün gruplarda istatistiki olarak önemli bir artış tespit edilmemiştir [284].

Kaşar peynirlerinin depolama sürelerine (90 gün) mikrobiyal yükünün etkisinin incelendiği bir çalışmada, küflenmeyi önlemek için kaşar peynirlerine farklı şekillerde (spreyleme, daldırma, katı halde üzerine serpmeye) potasyum sorbat muamele edilmiştir ve test sonucunda maya-küf sayısında önemli düzeyde azalma olduğunu bildirilmiştir [285].

Balmumundan elde edilen film ile kaplanan ve 10-12°C'de depolanan kaşar peynirlerinin organoleptik özelliklerinin incelendiği bir çalışmaya göre; ancak 7. günün kaşar peynirlerinin duyu özelliklerinin olumlu gelişiminin gözlemlenmesi için en uygun gün olduğu rapor edilmiştir [286].

Sorbitol ve sodyum kazeinat ile yenilebilir film üretilen ve bu filmler ile kaplanan kaşar peynirlerinin 90 gün boyunca incelendiği araştırmada ise; pH, titrasyon, kuru madde, tuz, protein, yağ, %kayıp miktarı ve mikrobiyal testler gibi analizler yapılmıştır. Bu süreç boyunca takip edilmiş ve sonuç olarak kaplanan filmin kaşar peyniri üzerinde fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik olumlu değişiklikler gösterdiğini belirtmiştir [287].

Doğal antimikrobiyal (kekik ve karanfil uçucu yağı) bileşenler ile kitosandan hazırlanan yenilebilir filmlerin, 5 log kob/g düzeyinde *Listeria monocytogenes* bulaştırılan kaşar peynirlerine kaplandığı bir diğer çalışmada; *L. Monocytogenes* sayısının 1,18-2,39 log kob/g değerlerine düştüğü ve kekik uçucu yağının karanfil uçucu yağına göre daha etkili olduğu rapor edilmiştir [288].

Kaşar peynirinin kurumadde miktarının artırılarak, dayanaklılığının artabileceği hipoteziyle yola çıkan bir çalışmada, kaşar peynirine üretimi aşamasında kazein ilave edilmiş ve 8°C'de 90 gün depolanmıştır. Mikrobiyolojik sonuç verileri göre; 4,67-6,25 log kob/g değerinde TAMB, 5,39-7,25 log kob/g LAB 3,66-4,88 log kob/g değerinde küf tespit edilmiş ve *S. aureus* ve koliform grubu bakterilerine ise rastlanılmamıştır [289].

Natamisin içeren buğday gluteni ve metil selüloz biyopolimerlerinden üretilen filmler ile, *Aspergillus niger* ve *Penicillium roquefortii* inoküle edilmiş kaşar peynir örneklerinin kaplandığı bir çalışmada üretilen filmlerin bu küfler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Her 10 gramında 5-20 mg natamisin içeren metil selüloz filmleriyle sarılan *A. niger* inoküle edilen kaşar peynirlerinde; yaklaşık 2 log azalma olmuştur.

2 mg natamisin içeren her 10 gramlık buğday gluteni filmleri ise kaşar peyniri yüzeyindeki *A. niger*'i verimli bir şekilde elimine etmiştir. Fakat her iki filmin de *P. roquefortii* üzerinde anlamlı bir azalma göstermediği rapor edilmiştir [275].

Çalışmalardan da görüldüğü üzere, kaşar peynirine ve kaplama materyaline gıda katkı maddesi veya antimikrobiyal ilavesi, biyo esaslı yenilebilir film veya farklı biyopolimerlere dayalı kaplama materyalleri ile kaplanması ve geliştirilmiş ambalaj materyalleri ile paketlenmesi gibi yöntemler kullanılarak kaşar peynirinde olası fiziksel, kimyasal ve mikrobiyal bozulmaları önlemek ve raf ömrünü uzatmak için çalışmalar yapılmıştır. Uygulanan çok farklı metotların mevcudiyetine rağmen, peynir muhafazası halen gıda teknolojisinde bir sorundur [290].

Bu çalışmaların dışında, ambalaj malzemelerinin performansını artırmak, üründe istenen özelliklerin elde edilmesi için biyopolimerlerin yanında nanomateriyallerin kullanımı dikkat çeken bir yaklaşım olmaktadır [291].

Gümüş-montmorillonit nanoparçacıkları içeren biyo-bazlı kaplama materyalinin Fior di latte peynirine modifiye atmosfer paketlenme (%30 CO₂, %5 O₂ ve %65 N₂) ile ambalajlanması üzerine yapılan bir çalışmada, gümüş nanopartiküllerin (0.25, 0.50 ve 1.00 mg/mL) farklı konsantrasyonları, sodyum alginik asit solüsyonu (%8 w/v) içinde disperse edilmiştir. Sonuç olarak gümüş nanopartiküllerinin konsantrasyondan bağımsız önemli bir etkisi bulunmamıştır. Fior di latte peynirinin raf ömrünü 3 günden, 5 güne çıkardığı rapor edilmiştir [292].

Coalho peynirlerinin, aljinat/lizozom nano-laminat (levha) ile kaplanması ve Coalho peynirlerinin raf ömürlerinin değerlendirildiği bir çalışmada, ilk olarak aminolize/polietilen tereftalat içinde beş farklı aljinat ve lizozim tabakası birleştirilmiştir ve nanolaminatların fiziksel özelliklerinin karakterize edilmesi için, UV/VIS spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskopisi kullanılmıştır. Araştırmanın sonucuna göre; kaplanmış peynirlerin kaplanmamış peynirlere göre, daha düşük ağırlık kaybı, pH, lipid oksidasyonu ve mikrobiyal yüke, fakat daha yüksek titrasyon asitliğine sahip olduğu belirtilmiştir. Aljinat/lizozom nanoyapısının Coalha peynirlerinin raf ömrünü artırması için kullanılabilecek bir metod olduğu bildirilmiştir [293].

Literatürde nanoteknolojik ürün kullanılarak peynirin kaplanmasına yönelik çok az çalışma mevcuttur. Ayrıca, kaşar peynirlerinin raf ömrünü uzatmayla ilgili herhangi bir nanolifle uygulaması yapılan bir çalışma mevcut değildir. Nanoteknolojinin sağladığı faydalar, çalışmanın önceki bölümlerinde de açıklandığı üzere çok önemlidir. Bu nedenle kaşar peynirlerinin raf ömrünü uzatmak için peynirin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri göz önünde bulundurularak, antimikrobiyal ve uygun polimerlerden üretilen nanoyapılar ile kaplanması, kaşar peynirinin raf ömrüne olumlu etki edebilir.

2.8 Aspergillus parasiticus

2.8.1 *Aspergillus parasiticus*'un Morfolojisi

A. parasiticus 6-45°C değerinde geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilirler. Su aktivitesi değerleri ise 0,78-0,95 aralığındadır [294].

2.8.2 *Aspergillus parasiticus*'un Zararları

Mikotoksinler, insan ve hayvanlarda, akut toksik, karsinojenik, mutajenik ve teratojenik olmak üzere pek çok olumsuzluğa neden olurlar [273]. Bu tip sağlık sorunlarına yol açan mikotoksinleri üreten, başlıca *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* cinsleridir. Özellikle *Aspergillus* cinsine mensup *A. flavus*, *A. parasiticus*, ve *A. nomius* sağlık açısından en tehlikeli mikotoksijenik küflerdir. *A. flavus* yalnızca AFB1 ve AFB2 üretebilir. Fakat *A. parasiticus* hem AFB1 ve AFB2, hem de aflatoksin G1 ve aflatoksin G2'yi üretmektedir [295]–[299]. Aflatoksin B1 (AFB1), *Aspergillus* türlerinin tarımsal ürünlerde ürettiği oldukça toksik ve kanserojen bir metabolittir [300]. Epidemiyolojik çalışmalara göre, aflatoksinler pek çok ciddi hastalıklara (akut toksikoz, reye sendromu, karsinom, solunum kanseri ve kwashiorkor) sebep olmaktadır [301]–[303]. Özellikle fazla tüketilen ürünlerde aflatoksin miktarının ve aflatoksijenik etkilerin çok olmasından dolayı, aflatoksin üreten bu küflerin kesinlikle kontrol altında tutulması gerekmektedir [304]–[307].

Başta çocuklar olmak üzere tüketimi insan sağlığı için çok önemli olan süt ve süt ürünlerinde AFM1 seviyeleri çok önemlidir [279]. Gençlerin süt ve süt ürünlerine

artan ilgisi son zamanlarda yapılan bir çalışma ile bildirilmiştir[19]. Bu durum süt ürünlerindeki ve özellikle süt ürünlerinden peynirde aflatoksin varlığının önemini ortaya çıkarmaktadır. Peynir örneklerinde yüksek AFM1 seviyesinin bulunduğu pek çok çalışma mevcuttur [277], [308]. Özellikle kaşar peynirlerinde AFM1 varlığının diğer peynirlere göre daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalar da literatürde yer almaktadır [11], [281], [308], [309]. Aflatoksinin söz konusu belirtilen toksik zararları nedeniyle bu çalışmada, AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2 üretme potansiyeline sahip *A. parasiticus* gelişimini önlemek maksadıyla, kaşar peynirleri antifungal etkiye sahip biyoaktif madde içeren nanoliflerle kaplanabilir ve kaşar peynirlerinin bu bağlamda raf ömrü uzatılabilir.

2.8.3 *Aspergillus parasiticus*'un Sınırlandırılmasına Yönelik Çalışmalar

Timolden ekstrakte edilen *Thymus eriocalyx* ve *Thymus x-porlock* esansiyel yağlarının *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen aflatoksinler üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada disk difüzyon metodu ile yağların çeşitli konsantrasyonlarının küflerin gelişimine etkisi incelenmiştir. İki yağ çeşidinin de farklı konsantrasyonları gaz kromatografisi ile incelenmiş ve benzer bileşenlere sahip olduğu bildirilmiştir ve söz konusu timolün antifungal etkisinin aflatoksin üretimi seviyesine önemli derecede etki ettiği rapor edilmiştir [310].

Neem yapraklarından elde edilen ekstraktın *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen aflatoksinlere etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; 96 saat sonra aflatoksin konsantrasyonun, 120 saat sonra da fungal hücre büyümesinin maksimum seviyeye ulaştığını ve Neem ekstraktının %1,56 (v/v)'sının, hücre gelişmesini yaklaşık %67 inhibe ettiği rapor edilmiştir [311]. Yine Neem yapraklarından elde edilen ekstraktın %1, %5, %10, %20 ve %50 (v/v) konsantrasyonlarının *Aspergillus parasiticus*'a ve ürettiği aflatoksinlere etkisi üzerine yapılan bir araştırmada; %10 (v/v)'luk hazırlanan ekstraktın *Aspergillus parasiticus*'u %60-70 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu koşullarda hücre (mycelial) kuru ağırlığının anlamlı bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir [312].

Amonyak çözeltisinin farklı konsantrasyonlarının (0,1, 0,2, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 ve 1,0)% (v/v) düşük tuzlu sukroz medyumunda *Aspergillus parasiticus*'a karşı etkisinin araştırıldığı çalışmada; %1 konsantrasyondaki amonyak çözeltisinin

fungus inhibisyon için yeterli olduğunu ve bu konsantrasyonda aflatoxin türlerinin (B1 + B2 + G1 + G2) üretiminin inhibe edildiği bildirilmiştir [313].

Aflatoxin üretimini kontrol etmek için, *Rosmarinus officinalis* ve *Trachyspermum copticum* L.' den elde edilen uçucu yağların minimum inhibisyon ve minimum fungisidal konsantrasyon yöntemleri kullanılarak *A. parasiticus*' un gelişmesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; *T. copticum* L. yağının, *R. officinalis*'den daha güçlü antifungal etki gösterdiği belirtilmiş ve elde edilen yağlarının gaz kromatografisi ile bileşenleri tespit edilmiştir. Sırasıyla piperiton (%23,65), alfa-pinen (%14,94), limonen (%14,89), 1,8-sineol (%7,43) ve timol (%37,2), P-simen (%32,3), gama-terpinen (%27,3) değerleri bulunmuştur. Daha etkili bulunan *T. copticum* L. miktar olarak da en yüksek timol (%37,2) bileşenini içerdiği görünmektedir [232].

Literatür araştırmaları değerlendirilerek ve bileşenlerin nanoboyutlara indirildiğinde, bilinen özelliklerinin gösterebileceği gücün etkinliği öngörülerek çalışma dizaynı belirlenmiştir. *A. parasiticus* üzerinde inhibitör etki gösterebilen timolün biyoaktif madde olarak kullanılması, kaşar peyniriyle duysal yönde uyumluluk gösterecek ve fonksiyonel özellikleri benzersiz olan peynir altı suyu proteininin biyotaşıyıcı olarak kullanılması ve nanoliflerin morfolojik karakterinin uygun olmasını sağlayan PVA'nın biyotaşıyıcı olarak kullanılması uygun görülmüştür. Ayrıca enkapsülasyon etkinliğiyle bu maddelerin aktivitelerinin artacağı düşünüldüğünden; maddelerin enkapsülasyonu ile en uygun nanolif üretme potansiyeline sahip elektrospin yöntemi ile nanolif üretilmesine ve *A. parasiticus* inoküle edilen kaşar peynirlerinin bu nanolif ile kaplanmasına dayalı bir çalışma oluşturulmuştur.

3.1 Materyal

Bu çalışmada biyoçözünür doğal bir polimer olan peynir altı suyu proteini(PASP), (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ), timol (2-[(CH₃)₂CH]C₆H₃-5-(CH₃) OH), M.W.: 150.22 (Merck, Almanya), tween 80 (Merck, Almanya), kaşar peyniri (Yörsan A.Ş., Balıkesir), polivinil alkol (PVA, MW =130,000 Da, Aldrich Chemical, ABD), fosfat tampon çözelti tableti (pH: 7.4; 25 °C, Sigma-Aldrich, ABD), etanol (Düzey LAB Ltd., Türkiye), potato dextrose agar(Merck, Almanya), ringer tablet (Merck, Almanya) ve Folin-Ciocalteau (FC) reaktifi (Sigma Aldrich, ABD) kullanılmıştır. *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 cam tüpler içerisinde yatık agarda (PDA) Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden temin edilmiştir.

3.2 Yöntemler

Polivinilalkol (PVA) ve peyniraltı suyu proteinleri (PASP, whey protein) farklı oranlarda karıştırılarak analizlere bağlı en uygun nanolif yapısını veren karışım elde edilmiş ve biyoaktif madde olarak, yine analizler ile konsantrasyonu belirlenmiş timol, enkapsüle edilerek besleme çözeltisi hazırlanmış ve nanolif üretimi gerçekleştirilmiştir. Elektrospin yöntemi ile üretilen bu nanolifler, küf (*Aspergillus parasiticus*) inoküle edilen kaşar peynirlerine kaplanmıştır.

3.2.1 Besleme Çözeltilerinin Hazırlanması

Ön denemeler sonucunda PAS proteinlerinin çözündürme işlemleri optimize edilmiştir. Ağırlıkça %30 peynir altı suyu proteinleri saf suda (w/v), 20 dakika (dk) boyunca, manyetik karıştırıcıda sabit hızda, oda sıcaklığında homojen olarak çözündürülmüştür. PAS proteinin saf olması nedeniyle, daha önceki çalışmalarda çözündürme işlemleri için yapılan pH ayarlamalarına ihtiyaç duyulmamıştır.

PAS proteini, tek başına elektrospin işlemine tabi tutulabilen bir polimer olmadığı için yardımcı polimer olarak polivinilalkol (PVA) kullanılmıştır. PVA ağırlıkça %30

saf su içinde (w/v), 85°C 'de, manyetik karıştırıcıda sabit hızda, 30 dakika homojen bir şekilde çözündürülmüştür. Elde edilen PVA çözeltisi, hazırlanan peynir altı suyu proteinleri çözeltileriyle farklı oranlarda (PVA:PASP ; 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100) karıştırılmıştır. PASP ve PVA çözeltilerinin karıştırma işlemi manyetik karıştırıcıda ve 20 dakika boyunca sabit hız olarak belirlenmiştir. Karışımı sağlanan çözeltiler, en uygun oranı tespit etmek amacıyla direkt elektrospin işlemine tabi tutulmuştur ve solüsyon halinde de ilgili analizlerde kullanılmıştır.

Kaşar peynirine kaplanacak olan nanolifin üretimi için, kullanılan besleme çözeltisini hazırlarken ise, biyoaktif madde ilave edilene kadar geçen işlem ve süreç aynıdır. Öncelikle ağırlıkça %30 peynir altı suyu proteini saf suda oda sıcaklığında 20 dakika sabit hızda manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözündürülmüştür. Benzer şekilde ağırlıkça %30 PVA saf su içinde 85°C'de 30 dakika sabit hızda çözündürülmüştür. Nanolif örneklerinin morfolojik analizler sonucu belirlenen oranı (PVA/PASP:60/40) baz alınarak, hazırlanan PVA çözeltisi ve peynir altı suyu proteinleri çözeltisi 20 dakika boyunca sabit hızda karıştırılmıştır. Homojen karışımı sağlanan çözeltiye biyoaktif madde olarak timol kurumaddesi ilave edilmiştir. Toplam solüsyondaki Timol/PVA-PASP/Su oranı sırasıyla 10/30/60 şeklinde ayarlanmıştır. Daha sonra karışım homojen hale getirmek için 40°C'de 1 saat manyetik karıştırıcıda sabit hızda karıştırılmıştır. Karışımı sağlanan besleme çözeltisi 10 ml'lik enjektörlere konularak elektrospin cihazı ile nanolif üretim işlemine başlanmıştır.

3.2.2 Elektrospin Yöntemi ile Nanolif Üretimi

Şekil 3.1'de, elektrospin cihazı (Holmarc, Nanofiber Electrospinning Unit, Model No: HO-NFES-043U, ÇİN) ekipmaları ile nanolif üretim süreci görünmektedir. Panel üzerinde yer alan düğmeler ile voltaj ayarlamaları yapılmış ve cihaza entegre software üzerinden ise besleme çözeltisinin hızı ve toplayıcı plaka ile enjektörün ucu arasındaki mesafe ayarlanmıştır. Parametrelerin sayısal değerleri belirlenmeden önce, deneme üretim çalışmaları defalarca yapılmış ve nanolif üretebilen parametre değerleri seçilmiştir.

Nanolif üretimi için hazırlanan besleme çözeltisi, 10 mL'lik 18 ayarlı (gauge) iğnelere sahip enjektör (TOP, Japonya) içine alınmış ve enjektör şırınga

pompasına(HO-SPLF4) yerleştirilmiştir. Toplayıcı plaka ile enjektörün ucu arasındaki mesafe 12 cm, çözelti besleme hızı 0,3 mL/sa ve voltaj(HMPSKV30) değeri 20 kV olarak ayarlanmıştır. Elektrospin cihazı ile nanoliflerin üretiminin gerçekleştiği işlem süresince, sıcaklık oda sıcaklığı olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan çözeltinin tamamı kullanılarak nanolif üretilmiştir. Üretilen nanoliflerin, bu süreçte havadaki nemi hapsedme ihtimallerinden dolayı, absorbe edilen suyu çıkarmak için bir gece boyunca dondurularak kurutulmuştur [32],[305].



Şekil 3.1 Elektrospin cihazı ile nanolif üretimi işlemi

3.2.3 Karakterizasyon Analizleri için Örneklerin Hazırlanması

Peynire kaplanacak nanoliflerin üretiminden önce, en uygun biyotaşıyıcı olarak kullanılacak karışımı tespit etmek için, diğer bir deyişle; biyoaktif madde biyotaşıyıcı enkapsüle edilerek elde edilecek olan nanolifi üretmeden önce, biyotaşıyıcının en uygun nanolif üretebilen karışımın sağlanması gerekmektedir. Bu nedenle biyotaşıyıcı olarak kullanılacak olan PVA çözeltisi ve PASP çözeltisi farklı oranlarda (PVA:PASP ; 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100) karıştırılmıştır. Hazırlanan ve elde edilen bu besleme çözeltilerinden üretilen nanoliflerin karakterizasyonunu, rapor etmek için herbir örnek ayrı ayrı analize tabii tutulmuş ve değerlendirilmiştir.

3.2.4 Besleme Çözeltilerinin Reolojik Analizi

Nanoliflerin kesilme özellikleri (steady shear), peltier ısıtma sistemine sahip, software ile entegre su sıcaklığı ayarlanabilen, gerilme ve gerinim kontrollü reometre cihazı (Anton Paar, MCR 302, Avusturya) kullanılarak belirlenmiştir. Numunelerin kesilmesi için 60 mm çaplı plaka-plaka konfigürasyonu kullanılmıştır. Kesme hızı aralığı, 20°C'de 1-100 s⁻¹'e ayarlanmıştır ve ölçümler buna göre oluşturulmuş ve hesaplanmıştır. Plaka üzerine 1 mL miktarında numunelerin yerleştirilmesinden sonra ölçümler başlatılmıştır. Kesme hızı ve kayma gerilmesi arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak için Ostwald de Waele modeli kullanılmıştır. Aşağıdaki denklemde görüldüğü üzere, K ; kıvam katsayısı, n ; akış davranış indeksi ve σ ; kesme basıncı terimleriyle açıklanmaktadır. Bu terimlerden elde edilen verilere göre denklem kullanılarak hesaplama yapılmıştır.

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

Bu denklemde, σ (Pa); kesme gerilmesi için, K (Pa.sⁿ); kıvam katsayısı için, kesme hızı için ise $\dot{\gamma}$ (s⁻¹) kullanılmaktadır. Akış davranış indeksi ise birimsizdir.

3.2.5 Nanoliflerin Zeta Potansiyel (ζ) ve Elektriksel İletkenlik Değerlerinin Belirlenmesi

Nanolif örneklerinin zeta potansiyel ölçümleri yani koloidal dağılma (ζ -potential) sağlamlığını değerlendirmek için, elektroforetik akışkanlık potansiyeli Nano ZSP (Malvern Instruments Corp., U.K.) cihazı kullanılmıştır. Herbir örnek nanoliften 1 mg tartılarak 5 mL fosfat tampon çözeltisi (PBS) içinde disperse edilmiştir ve elektrot bulunduran zeta potansiyel hücrelerine konulmuştur. Analiz ölçümleri 25°C sıcaklıkta yapılmıştır. Nanoliflerin zeta potansiyelleri ve elektriksel iletkenlikleri aşağıdaki denklemde verilen Smoulokowski model denklemine göre hesaplanmıştır.

$$\xi = \eta\mu/\epsilon \quad (3.2)$$

Bu denklemde η ; viskozite, μ ; elektroforetik hareketlilik ve ϵ ; solventin dielektrik katsayısını ifade etmektedir.

3.2.6 Nanoliflerin ATR-FTIR Spektroskopisi ile Moleküler Karakterizasyonu

Nanolif örnekleri ATR-FTIR (Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy) spektroskopisi (Bruker Tensor 27, Almanya) kullanılarak karakterize edilmiştir. Spektrumların her bir tanesinden 16 tarama biriktirilen 2 cm⁻¹'lik çözünürlüğe sahip ölçümler alınmıştır. Ölçümler dalgasayısı 4000 ile 600 cm⁻¹ arasında uygulanmıştır. Arka plan olarak ölçümlerde hava spektrumu kullanılmıştır. Sistemde KBr ışın dağıtıcı ve DLaTGS detektörü içeren Bruker Tensor 27 spektroskopisi kullanılmıştır. ATR aksesuarı elmas ATR hücresi içermektedir. OPUS programı ile data elde edilmiştir (Windows 7.2, Bruker GmbH, Almanya).

3.2.7 Nanoliflerin Termal Karakterizasyonu

Nanolif örneklerinin termal karakterizasyonu Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) cihazı kullanılarak tespit edilmiştir (DSC, Q100, TA Instruments Inc., ABD). Analizde 5 mg örneğe 20°C ile 250°C arasında sıcaklık uygulanmıştır. Örnekler alüminyum pan içine yerleştirilmiş ve hermetik olarak kapatılmıştır. Sıcaklık artışı 10°C/dk olarak belirlenmiş, referans olarak boş pan kullanılmış ve analiz nitrojen atmosferi basıncı altında 20 mL/dk sabit akış hızı ile gerçekleştirilmiştir. Cihazın veri işlemcisi kullanılarak başlangıç sıcaklığı (T_{onset}), maksimum pik sıcaklığı (T_{peak}), her bir numunenin kristalizasyon ve erime özellikleri (T_{offset}) ve entalpi (ΔH) değerleri elde edilmiştir.

3.2.8 Enkapsülasyon Etkinliği Testi

Timol enkapsüle edilmiş nanolif örneklerinde bulunan timolün enkapsülasyon etkinliğini belirlemek için spektrofotometre (Shimadzu 1800, Japonya) kullanılmıştır. Timol yüklü nanolif (TYN) örnekleri fosfat tampon çözeltisi (PBS) içinde 15 dakika 15 000 g'de santrifüj edilmiştir. Supernatant (üstte kalan kısmı) örnek kısmını oluşturmuştur. Örneklerin 420 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Kör numune olarak fosfat tampon çözeltisi kullanılmıştır. Enkapsülasyon etkinliğinin % değerini hesaplamak için aşağıdaki denklemler kullanılmıştır[153].

$$\text{Timol}_{\text{Enkapsüle}} = \text{Timol}_{\text{Toplam}} - \text{Timol}_{\text{Filtrat}} \quad (3.3)$$

$$\% \text{Enkapsülasyon} = (\text{Timol}_{\text{Enkapsüle}} / \text{Timol}_{\text{Toplam}}) \times 100 \quad (3.4)$$

3.2.9 Nanoliflerin Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Nanoliflerin yüzey morfolojisi ve nanoliflerin boyutları taramalı elektron mikroskobu (SEM, FEI, Quanta Feg 250, ABD) ile belirlenmiştir. Bu emisyon taramalı elektron mikroskobu 10000x ve 20000x büyütülmüş bir alanı kapsamaktadır. PVA ve PAST çözeltilerinin farklı oranlarda karıştırılmasından elde edilen timolsüz nanolif (TSN) ve PVA/PASP oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif (TYN) örneklerinin analizi; düşük vakum altında, 8 mm mesafede ve 20 kV voltaj kullanılarak yapılmıştır. SEM analizi ile öncelikle TSN örneklerinin her birinden paralelli bir şekilde görüntüler alınmış ve morfolojik yapıları incelenerek timol enkapsüle edilecek en uygun PVA/PASP karışım oranı belirlenmiştir. Daha sonra PVA/PASP:60/40 oranından üretilen TYN'ler kullanılarak *in vitro* ve yerinde değerlendirmeler yapılmıştır, çünkü SEM görüntüleri daha sonra tartışılacağı gibi, bu orandaki PVA/PASP polimerleri kullanılarak en iyi nanofiber yapının elde edilebileceğini göstermiştir.

3.2.10 *Aspergillus parasiticus* Spor Çözeltisi Hazırlanması

Peynirlere inoküle edilen küf *Aspergillus parasiticus* (NRRL 2999), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi'nden yatık agarda (PDA) 4°C' de cam tüplerde getirilmiştir. Küf 5 gün boyunca 25°C'de aktive edilmiştir [315]–[318]. Aktivasyon işleminden sonra küf sporları dikkatli bir şekilde sterilize öze kullanılarak toplanmıştır ve toplanan sporlar konsantrasyonu belirlemek için ringer solüsyon kullanılarak hazırlanan steril çözeltiye ilave edilmiştir. Son inokulum konsantrasyonunun belirlenmesi için ise Thoma lamı kullanılmıştır. Hematositometrenin deliğine 0,1 mm yükseklik spor çözeltisi konulmuş ve sayımın sonucu, aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam Hücre Sayısı} = A \times SF \times 10.000 \quad (3.5)$$

A = 16, büyük kare üzerinde sayılan küflerin sayısı ve SF, seyreltme faktörü anlamına gelmektedir. Bu sistem kullanılarak sonra konsantrasyon 1×10^5

spor/mL'ye ayarlanmıştır. İnokülasyon öncesi hazırlanan süspansiyonlar, 30 saniye vorteks karıştırıcı kullanılarak karıştırılmıştır.

3.2.11 *In Vitro* Değerlendirmeler

TYN matlarının antifungal etkisi agar difüzyon metoduna göre belirlenmiştir [37]. Nanolif matları 2 cm çapında ve 4 mg ağırlığında dairesel diskler halinde kesilmiştir. Daha önce belirtildiği üzere, TYN 'ler PVA/PASP:60/40 oranında üretilmiş, SEM analizi ile elde edilen görsellere göre seçilerek 30 dakika boyunca UV ışık altında sterilize edilmiştir. Dilimlenmiş her bir nanolif, sterilize edilmiş PDA besiyeri içeren petri kabının merkezine yerleştirilmiştir. 5 mm çapındaki küf misel diskleri (20 µL, 1×10^5 spor/mL), 7 günlük kültürden alınarak, nanolif matları ile birlikte eş merkezli olarak petri kaplarının merkezine yerleştirilmiştir. Enkapsülasyon etkinliğinin verimini göstermek için, yani enkapsüle edilmiş timol ile serbest timol arasındaki etkinliği belirlemek için, yine merkezinde 5 mm çapında küf sporu (20 µL, 1×10^5 spor/mL) bulunduran sterilize edilmiş PDA içeren petri kapları üzerine serbest timolağırlıkça % 0,01 oranında ilave edilmiştir. Çünkü 4 mg'lık nanoliflerin içerisinde bulunan elektrospinlenmiş ve tamamen suyu buharlaştırılmış timol miktarı 1 mg'dır. Bu değer 10 mL'lik PDA petrilerinde ağırlıkça % 0,01'lik değerdir. Bunların dışında timol enkapsüle edilmemiş PVA ve PASP'dan oluşan besleme çözeltisiyle elde edilen nanolifler (TSN) de antifungal aktivitesini belirlemesi için test örnekleriyle aynı şekilde hazırlanmıştır. Yani TSN matları TYN matları gibi eş merkezli şekilde PDA içeren petri kaplarının merkezine fungal misel diskleriyle eş merkezli olarak yerleştirilmiştir. Kontrol petri kapları ise yalnızca test mikroorganizmalarını (*A. parasiticus*) içermektedir. Bütün petri kapları 25°C' de 5 gün boyunca inkübe edilmiştir. Küf kolonisi gelişmesi, 1., 3. ve 5. günlerin sonunda dijital bir kumpas yardımıyla çapları ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

Timol enkapsüle edilmiş nanoliflerin ve serbest timolün fungisidal ve fungistatik etkilerini belirlemek için yeni örnekler hazırlanmıştır [319]. Farklı konsantrasyonlardaki (0,005, 0,0075, 0,015, 0,025, 0,03, 0,05, 0,075 ve 0,1) % (w/v) serbest timol, cam şişelerdeki 10 ml eriyik haldeki PDA içerisine karıştırılmıştır. TYN matları ise yine ağırlıkça farklı oranlarda (0,005, 0,0075,

0,015, 0,025, 0,03, 0,05, 0,075 ve 0,1) % tartılarak, 10 ml PDA içeren petri kaplarının merkezlerine yerleştirilmiştir. Her iki tarafın hazırlanan örneklerine de 7 günlük kültürden, 5 mm çapında küf (20 µL, 1×10^5 spor/mL) hazırlanan PDA içeren cam şişelere inoküle edilmiştir ve hazırlanan petrilerin de merkezlerine yerleştirilmişlerdir. Bütün örnekler 25°C' de 5 gün boyunca inkübe edilmiştir. 5 günün sonunda gelişme göstermeyen fungal diskler, serbest timol ve timol yüklü nanolif matı içermeyen yeni PDA'lı petri kaplarına aktarılmıştır ve 25°C' de 6 gün boyunca inkübe edilmiştir. Bunun sebebi ise; her bir numunenin hangi konsantrasyonunun fungistatik etkiye sahip olacağını belirlemek içindir. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIK); her bir mikrobiyal büyümeyi tamamen bloke edebilen en düşük konsantrasyonu belirtir. Minimum fungisidal konsantrasyon (MFC) ise; PDA' da küf gelişimi olmayan numunelerin alt kültürlenmesi ve inhibisyonun tersinir veya kalıcı olup olmadığını görmek için 72 saat 25°C'de inkübasyon sonucu gözlemlenmiştir. MFC petrilerde gelişim göstermeyen en yüksek dilüsyon (en düşük konsantrasyon) olarak belirlenmiştir.

3.2.12 *In Situ* Değerlendirmeler ve Yüzey Kaplama Prosesi

Dilimleme işleminden önce, kaşar peyniri örneklerinin yüzeyleri % 1 sodyum hipoklorit çözeltisine daldırılarak 3 dakika boyunca sterile edilmiştir, saf su ile durulanmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır [37]. Ardından, kaşar peyniri örnekleri sterilize edilmiş plastik bir bıçak ile 3 x 3 x 3 cm³ boyutunda küpler halinde dilimlenmiştir. 20 µL'lik *Aspergillus parasiticus* spor süspansiyonu (10^5 spor/mL) kaşar küplerine doğrudan inoküle edilmiştir. *A. parasiticus* sporlarının gelişimine izin vermek için, küplerin yüzeylerinin nanolif kaplanması işleminden önce, inoküle edilmiş küpler 25°C sıcaklıkta 12 saat boyunca %90 RH altında iklimlendirme kabininde bekletilmiştir.

Inoküle edilmiş küpler iklimlendirme kabininden çıkarıldıktan sonra elektrosprin cihazı vasıtası ile yüzey kaplama işlemine tabi tutulmuştur. Toplama plakasının önünde bulunan bir stand üzerine yerleştirilen küpler timol yüklü nanolif (TYN) matları ile kaplanmıştır. Onbeş adet kaplanmış ve onbeş adet kontrol kaşar peyniri küpleri steril bir plastik kutu içerisine yerleştirilerek 7 gün boyunca 25 °C

sıcaklıkta %70 nem altında bekletilmiştir [37]. K f koloni çapındaki gelişim, dijital kumpas kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.13 İstatistiksel Analizler

Veriler JMP 6.0.0 programından yararlanılarak analiz edilmiştir. Değişkenler için aritmetik ortalama ve standart sapmalar bulunmuştur. Değişkenler arasında anlamlı bir fark olup olmadığı $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde bağımsız "t" testi ve tek yönlü varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir.



ARAŞTIRMA BULGULARI

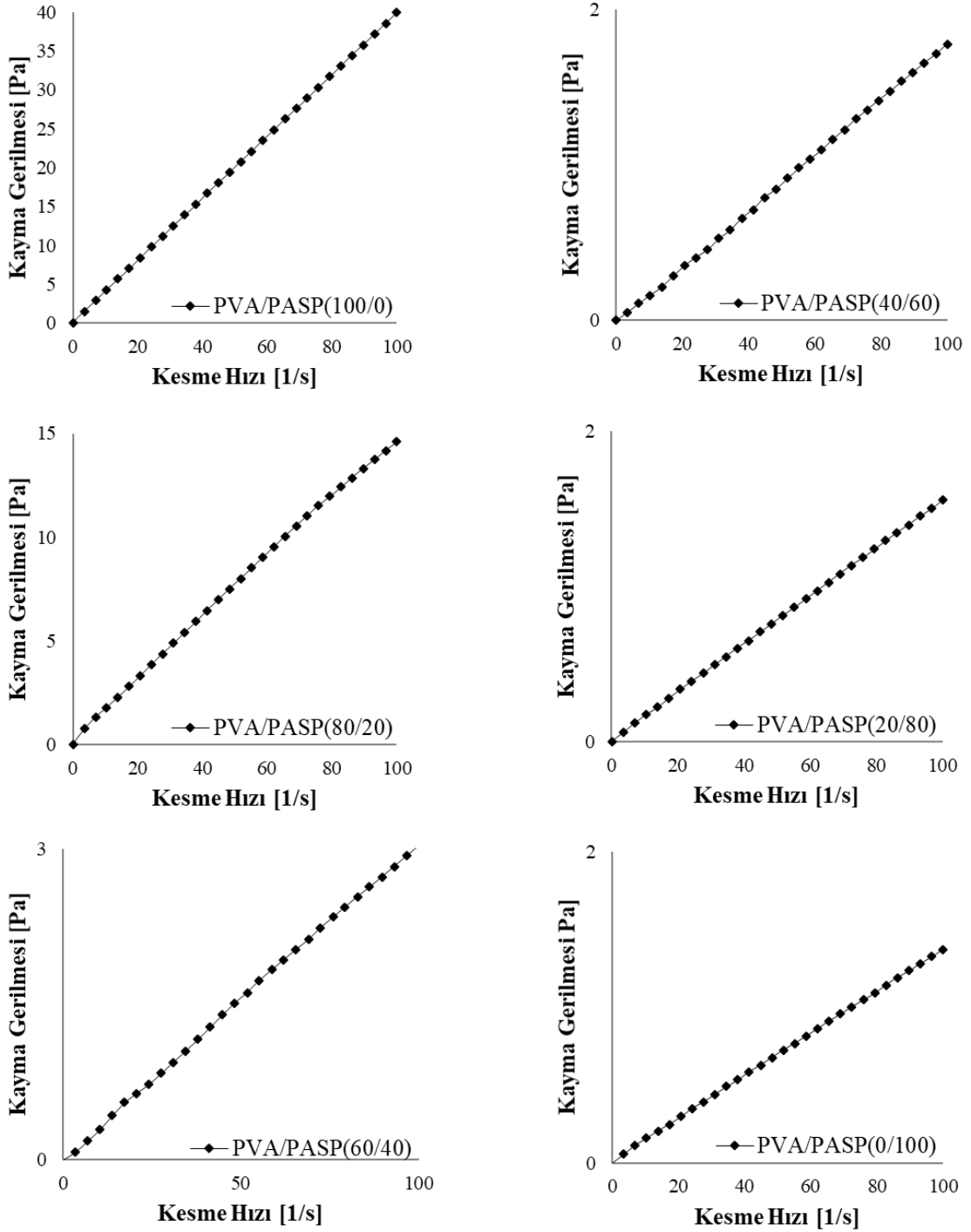
4.1 Besleme Çözeltilerinin Reolojik Özellikleri

Besleme çözeltilerinin, kesilme (steady shear) özellikleri, peltier ısıtma sistemi ile donatılmış gerilme ve gerinim kontrollü reometre kullanılarak belirlenmiştir. Besleme çözeltisi örneklerinin reolojik özelliklerinin reometre ile belirlenmesi ile örneklerin akış davranış biçimleri nanolif üretme yetenekleri hakkında bilgi vermiştir.

Nanolif üretiminde prostesten önce ve proses süresince pek çok parametre etkilidir. Bunlardan bir tanesi de besleme çözeltisinin viskozitesidir. Viskozite çok yoğun olursa ve besleme çözeltisinin enjektörden çıkış hızı viskoziteyi yenebilecek güce sahip değilse enjektörde tıkanmalar olabilir. Buna bağlı düzgün nanolif yapısı elde edilemez. Ayrıca viskozitenin çok düşük olması da istenmeyen bir durumdur. Eğer ki besleme çözeltisinin viskozitesi çok düşükse, besleme çözeltisinin hızı enjektörden çıkan sıvıyı toplayıcı plaka üzerine hızlıca iter ve toplayıcı plaka üzerinde damlacıklı bir yapı meydana gelir. Yine düzgün nanolif ağ yapısı elde edilemez. Bu nedenle besleme çözeltisinin viskozitesi nanolif oluşumu açısından en önemli parametrelerdendir. Buna ek olarak besleme çözeltisi viskozitesi oluşan nanolif çapına da etki etmektedir. Örneğin elektrospin yöntemlerinin işlem parametrelerinin nanolif morfolojisi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada artan viskozite değerinin nanolif çapını artırdığına yönelik bulgular rapor edilmiştir [320]. Bu nedenle besleme çözeltisinin göstereceği akış davranış özellikleri nanolif morfolojisi açısından çok önemlidir.

Şekil 4.1 'de besleme çözeltileri örnekleri (PVA:PASP; 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100) için kesme hızına (shear rate (1/s)) karşılık kayma gerilmesi (shear stress(Pa)) verilerini gösterilmektedir. Şekil 4.1'den de görüldüğü üzere, örneklerin kayma gerilmesi değerleri, kesme hızına karşılık incelendiğinde; kesme hızı değerleri arttıkça kayma gerilmesi değerleri de artmaktadır. Bu durum, bütün örneklerin shear thinning davranış özelliğini gösterdiğini ve besleme çözeltilerinin

kayma ile incelen yapıda (pseudoplastic nature) olduğunu açıklamaktadır [321]. Bu durum aynı zamanda besleme çözeltisi örneklerini oluşturan PVA ve PASP çözeltilerinin de ayrı ayrı kayma ile incelen bir yapıda olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.1 Besleme çözeltilerine ait kesme hızına karşın kayma gerilmesi değerleri

Elde edilen veriler Ostwald de Waale modeliyle, tanımlanan reometre cihazına bağlı yazılımdan alınan ölçüm parametreleri 0,99 gibi yüksek R^2 değerleri ile

tanımlanmıştır [322]. Tablo 4.1’de, model parametreleri; örneklerin kıvam katsayısını (K) ve akış davranış indeksini (n) göstermektedir. Tablo 4.1’den görüldüğü üzere n değerleri 0,933 ile 0,991 arasında değişmektedir. Örneklerin akış davranış indeksi ile aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. K değerlerinin ise 0,016 ile 0,415 Pas^n arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Tablo 4.1 Nanoliflerin Ostwald de Waele modeli parametreleri

Çözelti Örnekleri	$K(\text{Pas}^n)$	n	R^2
PVA/PASP(100/0)	$0,415 \pm 0,0110^a$	$0,991 \pm 0,00^a$	0,9999
PVA/PASP(80/20)	$0,201 \pm 0,0045^b$	$0,933 \pm 0,01^a$	0,9998
PVA/PASP(60/40)	$0,032 \pm 0,0016^c$	$0,988 \pm 0,00^a$	0,9999
PVA/PASP(40/60)	$0,019 \pm 0,0009^d$	$0,989 \pm 0,00^a$	0,9998
PVA/PASP(20/80)	$0,017 \pm 0,0007^e$	$0,980 \pm 0,00^a$	0,9999
PVA/PASP(0/100)	$0,016 \pm 0,0006^e$	$0,966 \pm 0,01^a$	0,9999

¹PVA: Polivinil alkol ²PASP: Peynir Altı Suyu Proteini

a-e Kolondaki farklı harfler istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$)

Tablo 4.1’den de görülebileceği gibi, nanolif karışımlardaki polivinil alkol miktarı arttıkça K değeri de artmaktadır. İstatistiksel analiz sonuçları, K değerleri ile PVA konsantrasyonu arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu, besleme çözeltisinin viskozitesinin PVA konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Morfolojik analizler kapsamında SEM’den alınan çıktılarına göre PVA’nın besleme çözeltisindeki konsantrasyonunun artışı nanolif ağ yapısını iyileştirmektedir. İstatistiki açıdan bu anlamlı ilişki literatürdeki çalışmalarda da kurulmuştur. Polimer çözeltilerinin viskozitesinin incelendiği pek çok çalışmada besleme çözeltilerindeki viskozite artışının nanolif ağ yapısını olumlu etkilendiği rapor edilmiştir [323]-[326].

Aynı zamanda azalan PAST değerine karşılık K değeri arasında da bir korelasyon mevcuttur. Şöyle ki; PVA ‘nın konsantrasyon miktarı arttıkça ve PASP’ın

konsantrasyon miktarı azaldıkça besleme çözeltisinin viskozitesi artığı için, K değeri olan kıvam katsayısı değerinde de rakamsal olarak artış olmaktadır. Bu nedenle PAST ile K değerleri arasında da istatistiki açıdan anlamlı bir ilişki mevcuttur ($p < 0,05$). R^2 değerleri ise tablodan da görüldüğü üzere 0,9998 ile 0,9999 arasında değişmektedir.

4.2 Nanoliflerin Dispersiyon Stabilitesi ve Elektriksel İletkenliği

Nanolif örneklerinin ve timol örneğinin dispersiyon stabilitesini belirlemek için zeta potansiyel analizi yapılmıştır. Serbest timol (ST) örneği, PVA (Polivinil alkol) ve PASP (Peynir altı suyu proteini) çözeltilerinin farklı oranlarda karıştırılmasından elde edilen timolsüz nanolif (TSN) örnekleri ve PVA/PAST oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif (TYN) örneğinin zeta potansiyel analize tabii tutularak yüzey yükleri tespit edilmiştir.

Tablo 4.2 Örneklerin stabiliteleri ve elektriksel iletkenlikleri

Örnekler	(ζ) Zeta Potansiyel (mV)	İletkenlik (mS/cm)
ST ¹	$-7,50 \pm 0,01^e$	$19,16 \pm 0,01^b$
TSN ²		
PVA/PASP(100/0)	$-6,34 \pm 0,01^h$	$17,70 \pm 0,01^d$
PVA/PASP(80/20)	$-6,73 \pm 0,01^g$	$18,06 \pm 0,04^{cd}$
PVA/PASP(60/40)	$-7,44 \pm 0,01^f$	$18,63 \pm 0,01^{bcd}$
PVA/PASP(40/60)	$-7,71 \pm 0,01^c$	$18,76 \pm 0,02^{bc}$
PVA/PASP(20/80)	$-8,51 \pm 0,01^b$	$19,05 \pm 0,02^b$
PVA/PASP(0/100)	$-9,43 \pm 0,01^a$	$20,30 \pm 0,01^a$
TYN ³	$-7,60 \pm 0,01^d$	$18,70 \pm 0,01^{bc}$

¹ST: Serbesttimol.

²TSN:PVA ve PAST çözeltilerinin farklı oranlarda karıştırılmasından elde edilen timolsüz nanolif örnekleri

³TYN:PVA/PAST oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif örnekleri

^{a-e} Kolondaki farklı harfler istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir($p < 0,05$).

Tablo 4.2 'de bu örneklerin zeta potansiyel ve iletkenlik değerleri görünmektedir. Zeta potansiyeli, nanolif örnekleriyle hazırlanan karışımda bulunan emülsiyon damlacıklarında oluşan elektiriksel tabaka emülsiyonun stabilitesi hakkında bilgi verir [327]. Emülsiyon stabilitesini ölçmek için nanoliflerde genel olarak zeta potansiyel değerlerine bakılmaktadır. Nanolifler arasındaki elektiriksel kaymalardan kaynaklı, stabil bir emülsiyon elde etmek için, zeta potansiyelinin yükü ve büyüklüğü sırasıyla elektiriksel tabanın yüküne ve kalınlığına bağlı kaldığından zeta potansiyel değeri -25 mV'den küçük veya +25 mV'den büyük olması gerekmektedir. Eğer ki ölçüm sonucu, bu değerler dışında ise emülsiyon stabil yapıdadır. Fakat zeta potansiyel değeri bu değerler içinde ise emülsiyon kararsız bir yapıya sahiptir [328]. Şöyle ki; taneciklerin düşük zeta potansiyelde olması demek, taneciklerin toplanmasını önleyecek güçleri olmadığından dispersiyon kararsızlığı yani topaklaşarak çökelme meydana gelmesi demektir.

Zeta potansiyelini etkileyen en önemli faktörlerden biri pH'tır. Bu nedenle nanolifler tampon çözelti kullanılarak çözündürülmüştür. Zeta potansiyel değerindeki eksi ve artı değerlerinin rakamsal artışı kararlı yapıya yaklaşıldığını, 0 noktası ise taneciğin çökmesinin olduğunu ve maksimum kararsızlığın olduğunu belirtir. Aynı zamanda 0 noktası, proteinlerin izoelektrik noktasıdır. Bu noktada proteinlerin kararlı yapısı bozulmakta ve proteinler çökelmektedir [328], [329].

Tablo 4.2'den de görüldüğü üzere örneklerin hepsinin zeta potansiyel değerlerine göre nanoliflerin stabil bir dispersiyon oluşturmadığı kararsız bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. TSN örneklerinin zeta potansiyel değerleri -6,34 mV ile -9,43 mV değerleri arasında değişmektedir. Örneklerdeki PASP konsantrasyonu arttıkça ve PVA konsantrasyonu azaldıkça zeta potansiyel değerine bakılarak emülsiyonun daha kararlı bir yapıya sahip olduğu görünmektedir. TSN (PVA/PAST:60/40), ST ve TYN örneklerinin zeta potansiyel değerleri sırasıyla -7,44, -7,50 ve -7,60'dır. TYN örneğinde kullanılan oran olan PVA/PAST:60/40 oranı TSN örneklerinden biri olan aynı PVA/PASP oranına sahip nanolif örneği ile kıyaslandığında; TYN zeta potansiyel değeri daha düşük bir sayısal veriye sahip olduğu için, TYN daha kararlı bir yapıda denilebilir. ST örneğinin de aynı şekilde zeta potansiyel değeri TSN değerlerinden daha düşüktür ve böylelikle zeta potansiyel değerlerine bakıldığında daha kararlı bir yapı göstermektedir. Bu

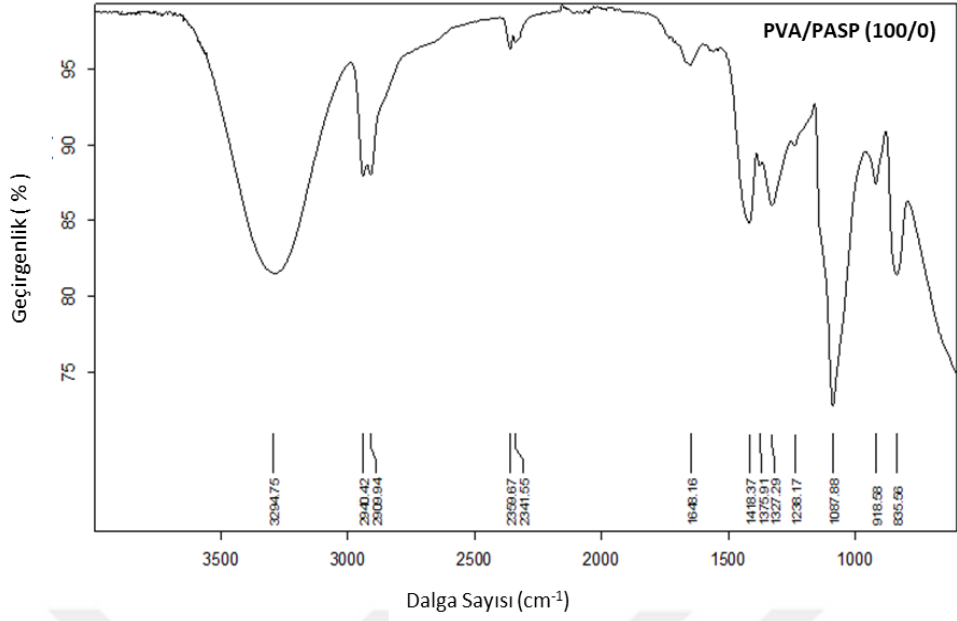
değerlendirmelerden anlaşılacağı üzere; timol yüklü nanolif örneği, timolsüz üretilen nanolif örneğine ve timolün kendisine göre daha kararlı bir yapıdadır denilebilir.

Zeta potansiyel değerlerinin negatif olmasının, peynir altı suyu proteinlerinin varlığından kaynaklandığı düşünülebilir. Daha önce yapılan bir çalışmada peynir altı suyu proteini (PASP) ve peynir altı suyu tozu (PAST) örneklerinin negatif zeta potansiyel değerlerini, farklı işlem koşulları altında test edilen tüm konsantrasyonlarda 12,30 ile 31,0 mV arasında diye rapor edilmiştir [330]. Diğer bir bakımdan, PVA'nın zeta potansiyel değerlerinin düşmesinde etkili olduğu söylenebilir. PVA'nın çok duvarlı karbon nanotüpler yüzeyine (MWCNT) absorbe edildiği bir çalışmada PVA konsantrasyonunun, zeta potansiyel değerlerindeki azalmada güçlü bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir [331]. Buna ek olarak Tablo 4.2'den görüldüğü üzere serbest timolün negatif zeta potansiyel değerlerine sahip olduğu ve beklendiği gibi TYN örneklerinin zeta potansiyel değerlerinin negatif aralıklar içinde olduğu ve TSN örneklerine yakın olduğu belirlenmiştir.

Emülsiyonlardaki kararlı yapıya geçişteki artışla emülsiyon iletkenliği de pozitif yönde artış göstermektedir. Tablo 4.2'den görüldüğü üzere, ST, TSN ve TYN örneklerine ait iletkenlik değerleri sırasıyla 19,16 mS/cm, 18,63 mS/cm (0,017 - 0,020 μ S/cm) ve 18,70 mS/cm değerlerindedir. TSN örneklerinin iletkenlik değerlerine benzer sonuçlar başka çalışmada da rapor edilmiştir. Çalışmada PVA bazlı üretilen nanolif örneklerinin iletkenlik değerleri 0.03, 0.15 ve 0.28 μ S/cm olarak bildirilmiştir [332]. Buna ek olarak Tablo 4.2'den PVA konsantrasyonunun oranı azaldıkça, TSN örneklerinin iletkenlik değerleri arttığı gözlemlenmektedir. Bu durum PASP konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak lif yüzeyindeki PASP oranının arttığını ve bu artış aynı zamanda kararlı yapıya geçiş ve emülsiyon iletkenliğinin de arttığını göstermektedir.

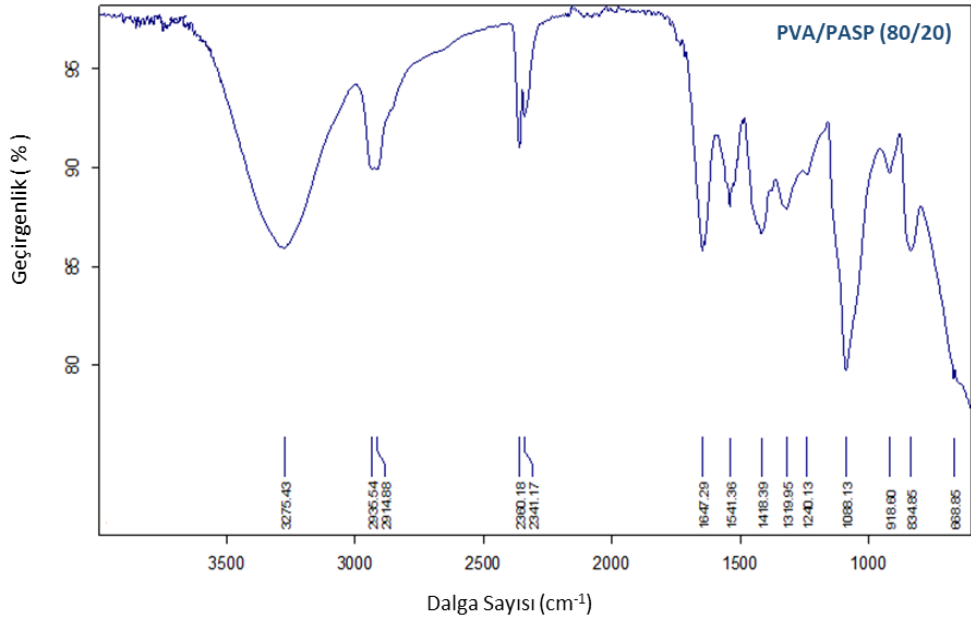
4.3 Nanolif Örneklerinin ATR-FTIR ile Karakterizasyonu

Nanolif örneklerinin her birine ait spektrumlar ise aşağıdaki şekillerde ayrı ayrı gösterilmiş olup önemli spektrumlar belirlenmiştir. İlk şekil olan Şekil 4.2 PVA polimerine ait olan spektrumları göstermektedir.



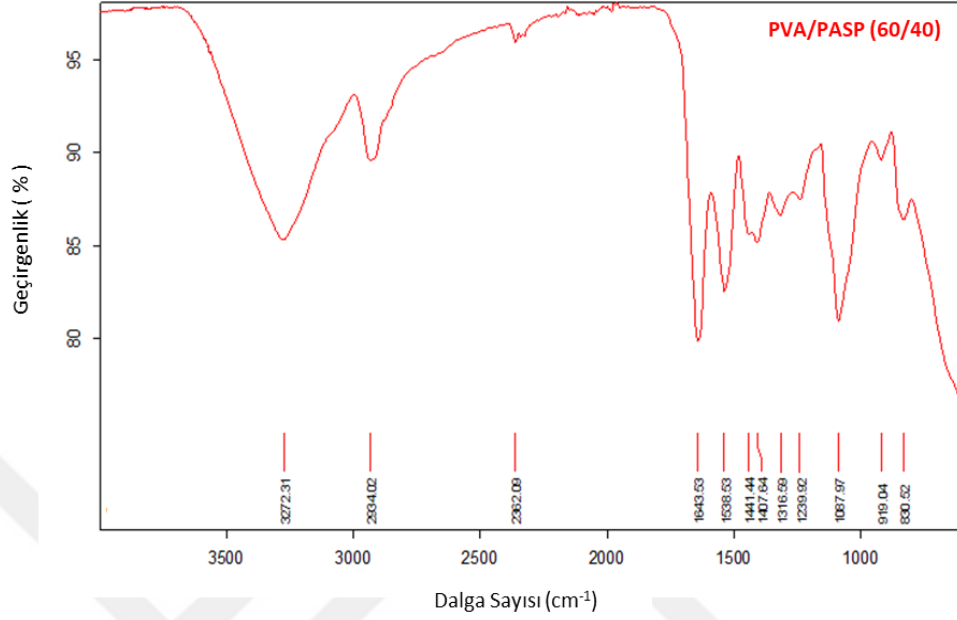
Şekil 4.2 PVA nanolifine ait ATR-FTIR spektrumları

Şekil 4.2 'den görüldüğü üzere PVA nanolifine ait pik değerleri literatürde yer alan pik değerleriyle karşılaştırılmıştır. PVA (100/0)'dan üretilmiş TSN'ler için gözlemlenen pik değerlerinden, 2908 cm^{-1} okunan pik değeri CH'ye atfedilmektedir ve 1412 cm^{-1} de görünen pik değeri de yine CH olarak bilinmektedir. 1096 cm^{-1} ve 1240 cm^{-1} olarak okunan okunan pik değeri de C=O yapısına dayandırılmaktadırlar [333].



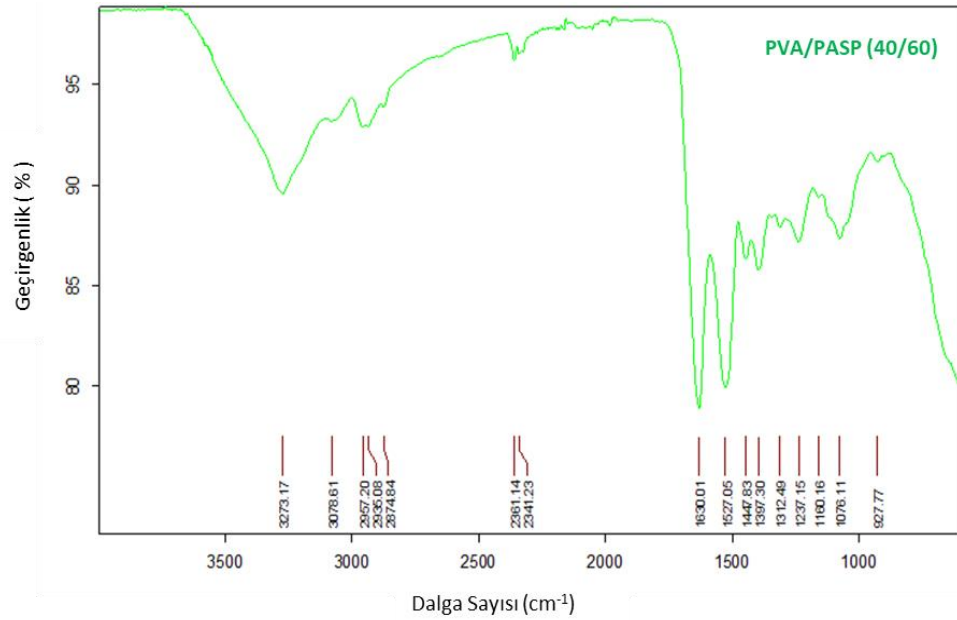
Şekil 4.3 PVA/PASP:80/20 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları

Şekil 4.3'den görüldüğü üzere PVA/PASP:80/20 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları PVA polimerinden elde edilen spektrumlarla benzerlik göstermiştir.



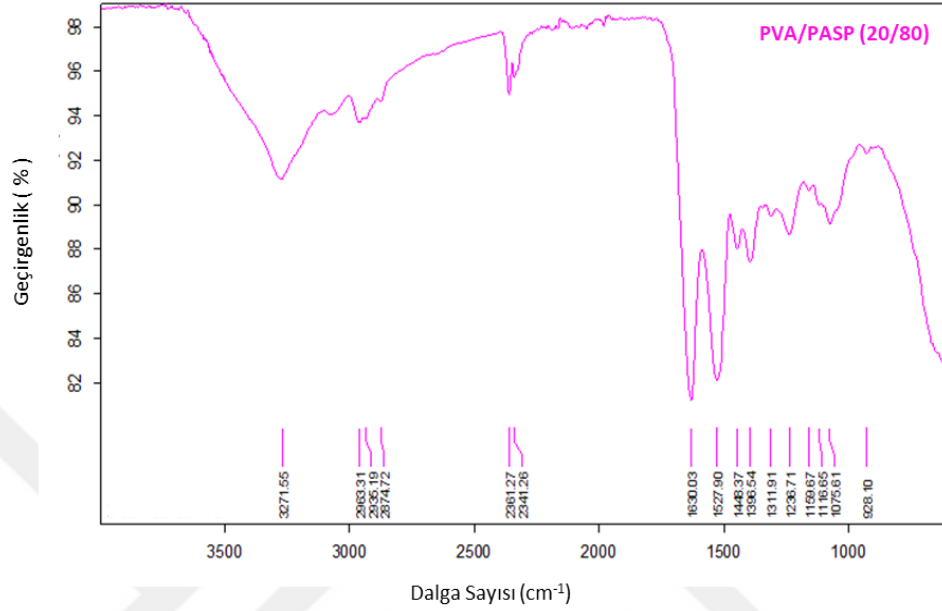
Şekil 4.4 PVA/PASP:60/40 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları

Şekil 4.4'de PVA/PASP:60/40 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları verilmiştir.



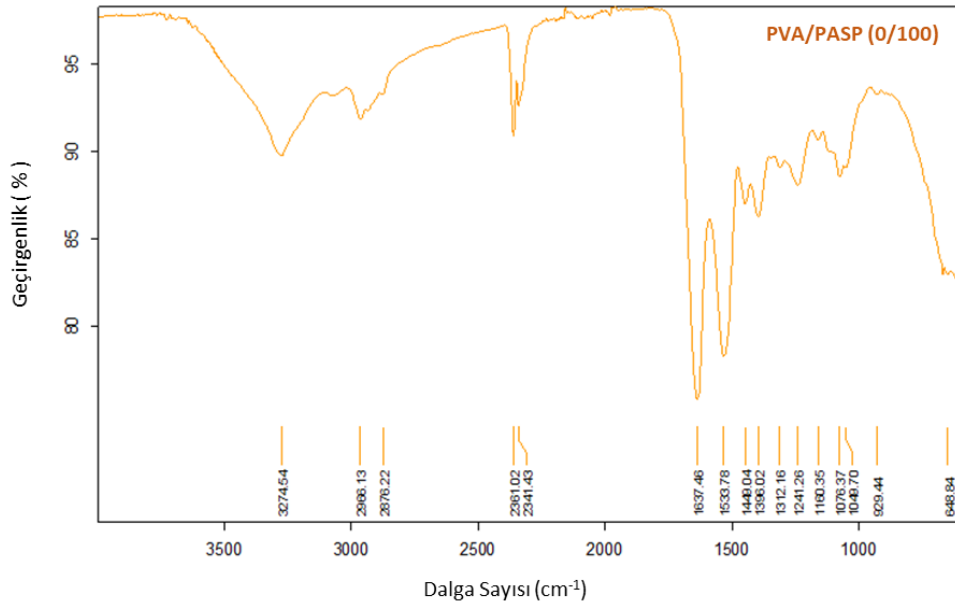
Şekil 4.5 PVA/PASP:40/60 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları

Şekil 4.5’de PVA/PASP:40/60 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları verilmiştir. PASP konsantrasyonunun artmasıyla pik aralıklarının yakınlığı yani pik uç noktalarının keskin olmayışı PAS proteinlerinde muhtemel metil gruplarındaki gerilmelerden kaynaklandığı düşünülmektedir.



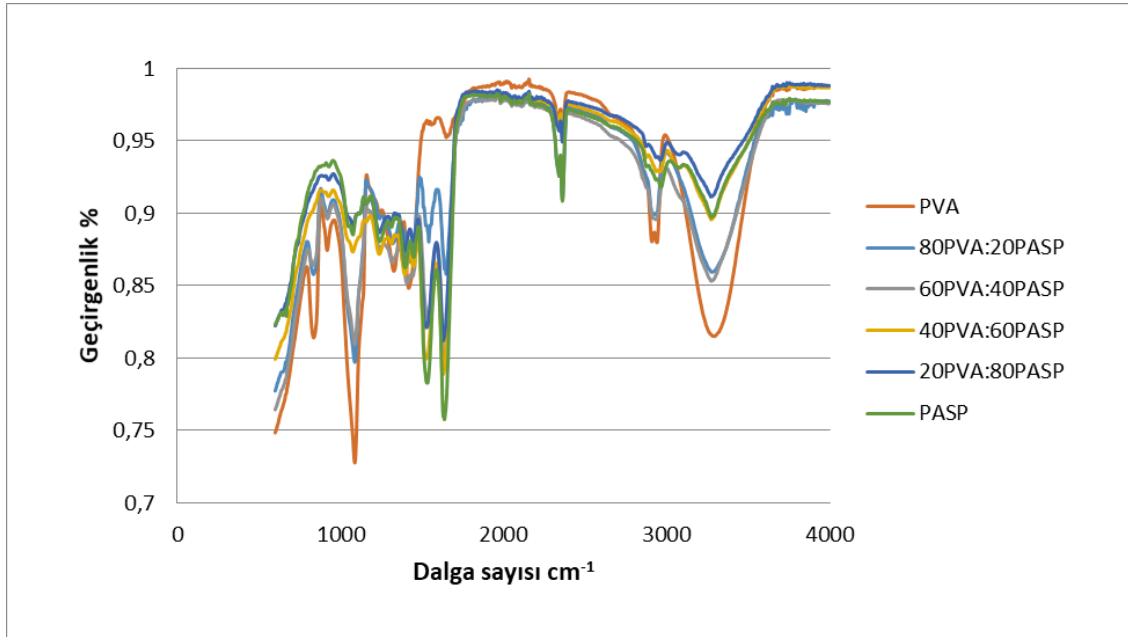
Şekil 4.6 PVA/PASP:20/80 oranında üretilen nanolife ait ATR-FTIR spektrumları

Şekil 4.7’de PAS proteinlerinden elde edilen TSF nanoliflerine ait FTIR spektrumları gösterilmektedir. 2800-3000 cm^{-1} arasındaki gözlemlenen pik değerleri metil gruplarının C-H bağlarının gerilimlerine bağlıdır[334].



Şekil 4.7 PAS proteinleri nanolifine ait ATR-FTIR spektrumları

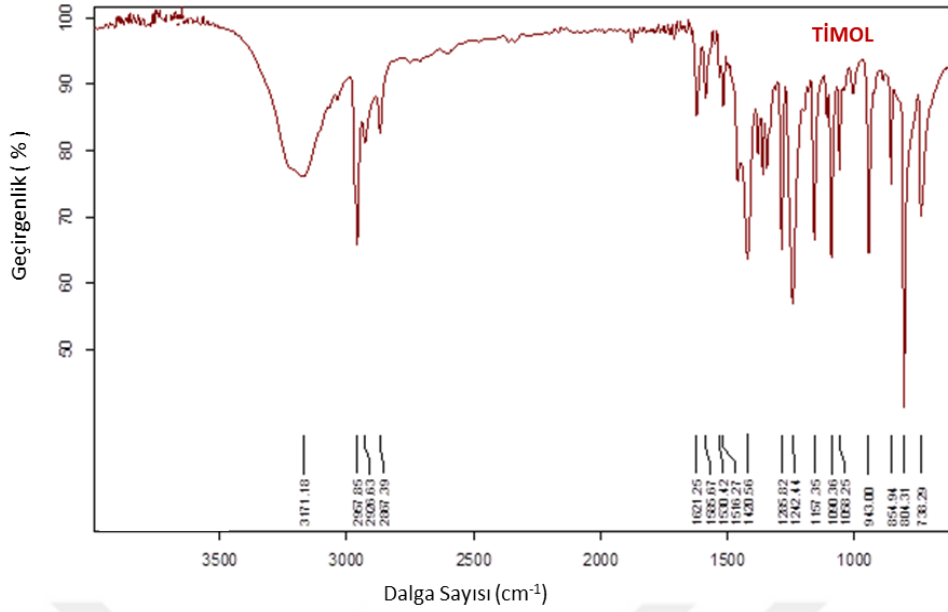
ATR-FTIR spektroskopi analizi nanoliflerdeki moleküler arası etkileşimleri ve yapısal değişiklikleri tespit etmek için yapılmış olup Şekil 4.8'de örneklerle ait spektrumlar toplu bir halde gösterilmektedir.



Şekil 4.8 TSN'ye (PVA:PASP; 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100) ait ATR-FTIR spektrumları

Şekil 4.8 de görüldüğü üzere timol enkapsüle edilecek olan, PVA ve PASP 'ın farklı oranlardaki karışımlarından oluşturulmuş çözeltilerden elde edilen nanoliflerin aynı düzlemdeki ATR-FTIR spektrumları gösterilmektedir.

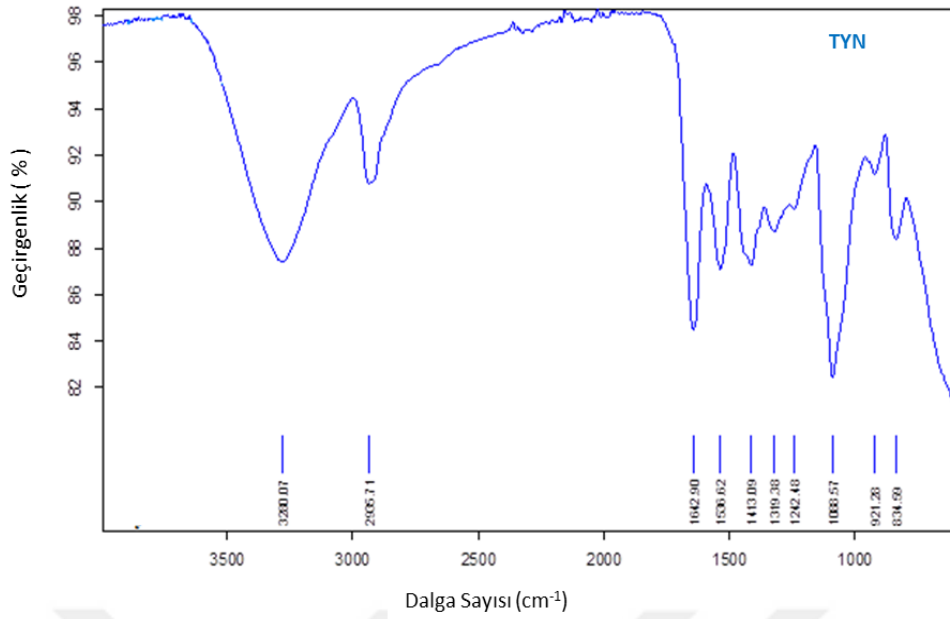
2800-3000 cm^{-1} arasındaki pik değerleri metil gruplarının C-H bağlarının gerilimlerinden kaynaklanmaktadır [334]. 1647 cm^{-1} de gözlemlenen karakteristik pik ise, peptit grubunun C=O gerilme titreşimlerine bağlıdır. 1543 cm^{-1} 'de gözlemlenen pik değeri C-N gerilme titreşimlerinin katkısıyla N-H eğilmelerine atfedilmiştir [334], [335]. 1745 ve 1638 cm^{-1} 'de gözlemlenen pik değerleri sırasıyla esterleşmiş ve esterleşmemiş karboksil gruplarından kaynaklanmaktadır [336]. 1656 cm^{-1} 'deki pik değeri C=O'ya atfedilirken, 1534 cm^{-1} 'deki bant değeri amid II'nin C-H bağı deformasyon titreşimlerinden ve 1390 cm^{-1} 'deki amid I yapılarının C-N gerilmelerinden kaynaklanmaktadır [337]. Diğer PVA/PASP (80/20, 60/40, 40/60 ve 20/80) oranlarından üretilen TSN'ler için gözlemlenen pik değerlerinin, PVA/PASP oranına bağlı olarak değiştikleri ve yukarıda karşılık gelen bantlar ile uyumlu oldukları tespit edilmiştir.



Şekil 4.9 Serbest timole ait ATR-FTIR spektrumları

Şekil 4.9'dan da görüldüğü üzere ST spektrumu, 2957 ve 2926 cm^{-1} ' de; CH ve CH_2 'ye özgü C - H'ye atanan gerilme titreşimine bağlı karakteristik uç noktalarını ve 1623 cm^{-1} ' de C = O; gerilme titreşimini, C-N gerilmesini ve COO^- asimetrik gerilmesini ortaya koymaktadır [338]. Benzen halkasının 1623 cm^{-1} 'deki C=C gerilimi ise timolün aromatik karakterini yansıtmaktadır [339]. Gözlemlenen diğer uç noktaları sırasıyla; 1587 cm^{-1} 'de değerini gösteren pik aromatik özellikler ve N-H bükülmesini, 1420 ve 1380 cm^{-1} 'de gözlemlenen pik; C-O gerilme titreşimlerini (amid) ve fenil grupların C-C gerilmesini ve 996, 940, 862 cm^{-1} ' de gözlemlenen pikler ise isoprenoidlerin düzlem dışı eğilme titreşimlerini temsil etmektedir [338]. 1358 cm^{-1} ve 1223 cm^{-1} ' de gözlemlenen pik noktaları -OH eğilmesine ve phenolik grubun C-O gerilimini temsil etmektedir [339]. Spekturumda bu piklerin gözlemlenmiş oluşu timolün 2-isopropil-5-methylphenol olarak adlandırılan bir fenolik monoterpeneoid olmasından dolayı beklenildiği gibidir [325],[327].

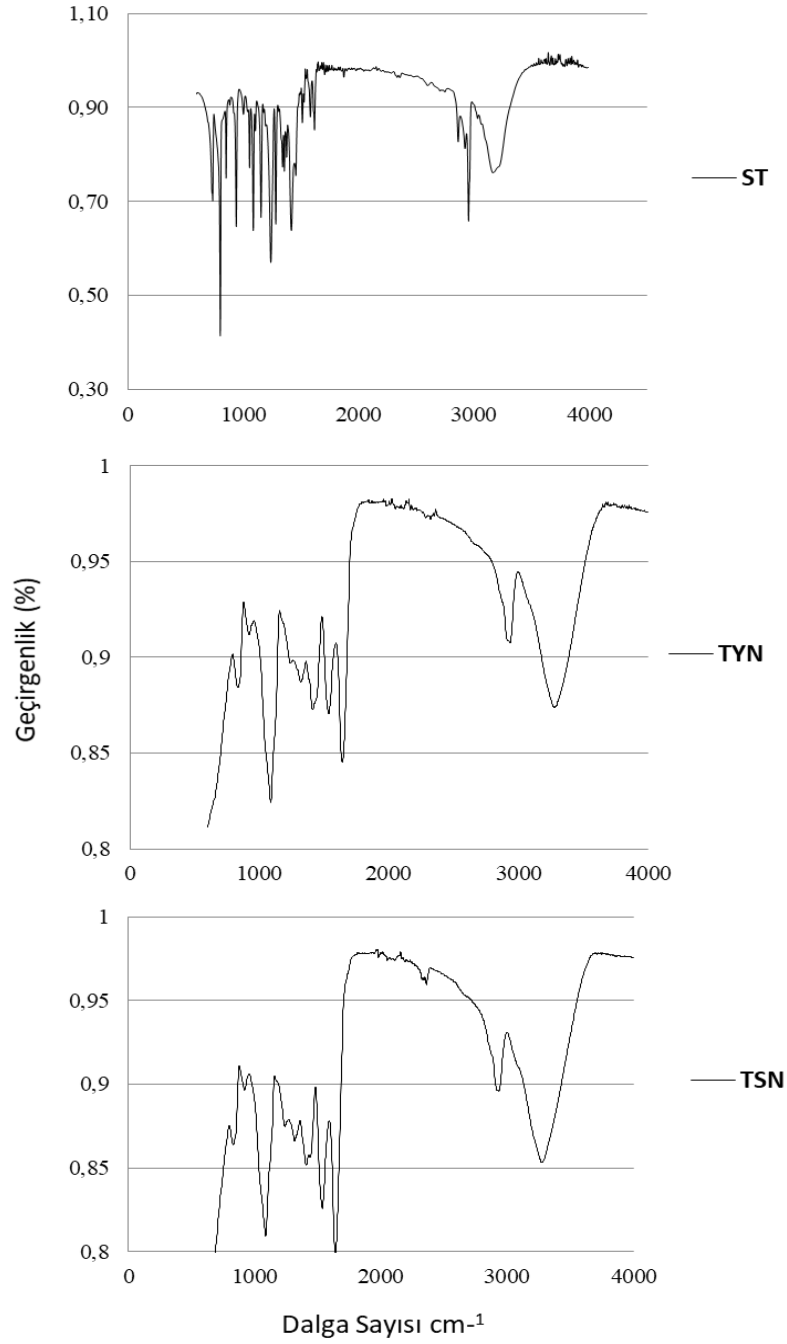
Şekil 4.10'da timol yüklü nanolif örneğine ait ATR-FTIR spektrumları yer almaktadır. Spektrumlar serbest timole göre ve timol enkapsüle edilmeden üretilen nanolif örneklerine göre ısı ve kinetik enerjisi açısından birbirleriyle uyum göstermektedirler. Fakat okunan spektrumlarda farklılıklar barındırmaktadır. Bu durum nanolifi oluşturan bileşenlerin fonksiyonel grupları arasında moleküler arası interaksiyonların olduğunu göstermektedir



Şekil 4.10 Timol yüklü nanolif (TYN) örneğine ait ATR-FTIR spektrumları

Her bir nanolif örneğine ve serbest timol örneğine ait dalga sayısına karşılık % geçirgenlik değerleri ayrı ayrı gösterilerek, örneklere ait önemli spektrumlar incelenmiştir. Bunun üzerine serbest timole (ST), timolsüz üretilen nanolife (PVA/PASP:60/40) ve timol yüklü nanolife ait ATR-FTIR spektrumları aynı düzlem üzerinde toplanmış ve değerlendirilmiştir.

Şekil 4.11 'de görüldüğü üzere PVA / PASP (60/40) oranından üretilen timol yüklü nanolif örneklerinden elde edilen spektrumlar, onu oluşturan her bir polimerden farklı pikler vermiştir. TYN'lerin IR spektrumu, termodinamik açısından birbirleriyle uyumlu olduklarını ve timol ile PVA ve PASP'ın fonksiyonel grupları arasında moleküller arası etkileşimler olduğunu göstermektedir. Bu fenomen etkileşimler literatürde yer alan daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir [334], [341].



Şekil 4.11 ST (Serbest timol), TSN (PVA ve PASP oranı 60/40 olan timolsüz nanolif örnekleri) ve TYN (PVA/PASP oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif örnekleri)' örneklerine ait ATR-FTIR spektrumları

4.4 Nanoliflerin Termal Özellikleri

Serbest timol (ST), PVA ve PASP çözeltilerinin farklı oranlarda karıştırılmasından elde edilen timolsüz nanolif örnekleri (TSN) ve PVA/PASP oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif örnekleri (TYN)'lerin DSC analizi ile elde edilen T_{onset} ; başlangıç

sıcaklığı, T_{peak} ; pik sıcaklığı, T_{offset} ; ofset sıcaklığı ve ΔH ; entalpi değerleri Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3 Timol ve nanolif örneklerinin termal karakterizasyon parametreleri

Örnekler	Termal parametreler			
	T_{onset} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{peak} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{offset} ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH (J/g)
ST ¹	192 ^a	217 ^a	223 ^a	321 ^a
TSN ²				
PVA/PASP(100/0)	43 ^f	86 ^g	126 ^h	229 ^b
PVA/PASP(80/20)	76 ^b	115 ^b	167 ^e	226 ^{bc}
PVA/PASP(60/40)	47 ^e	94 ^f	159 ^f	225 ^{bc}
PVA/PASP(40/60)	48 ^e	98 ^e	182 ^b	220 ^d
PVA/PASP(20/80)	39 ^g	82 ^h	175 ^c	222 ^{cd}
PVA/PASP(0/100)	51 ^d	101 ^c	169 ^d	225 ^{bc}
TYN ³	61 ^c	99 ^d	145 ^g	112 ^e

ST¹: Serbest timol.

TSN²: PVA ve PASP çözeltilerinin farklı oranlarda karıştırılmasından elde edilen timolsüz nanolif örnekleri

TYN³: PVA/PASP oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif örnekleri

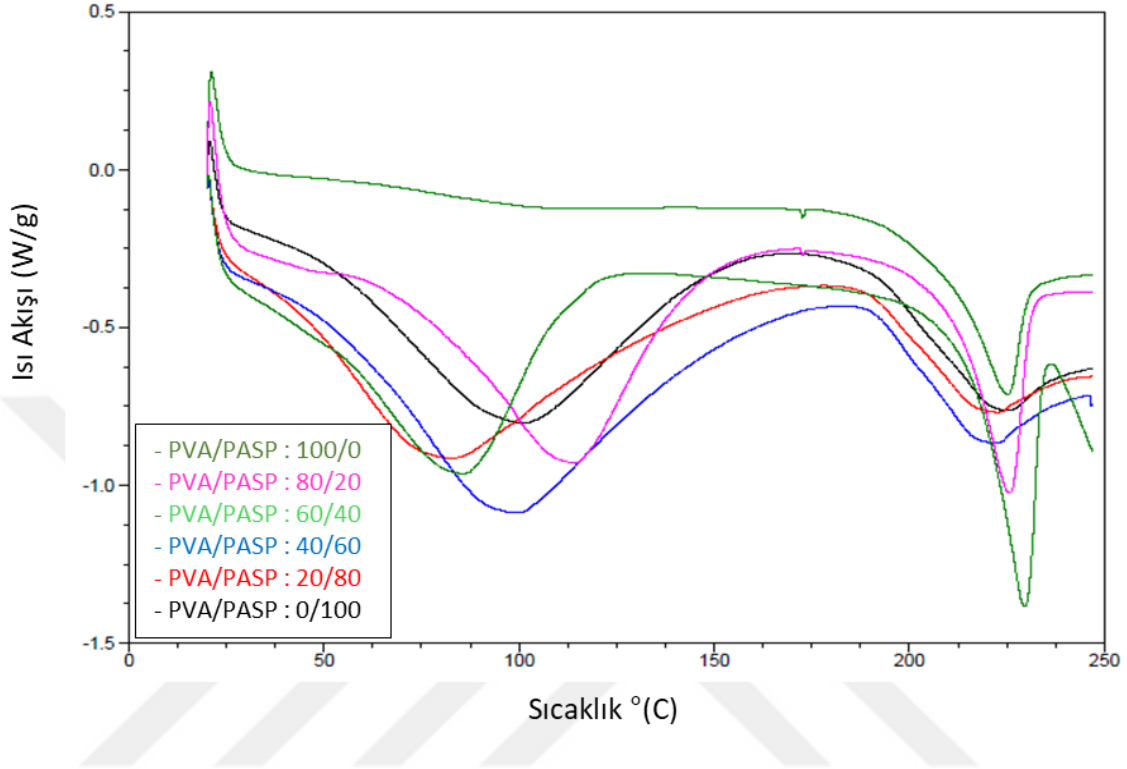
a-e Kolondaki farklı harfler istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

Tablo 4.3'ten de görülebileceği gibi, ST en yüksek T_{onset} , T_{peak} , T_{offset} ve ΔH değerlerini göstermiştir. Timolün, T_{onset} ve T_{peak} değerleri, sırasıyla 192 ve 217 $^{\circ}\text{C}$ olarak belirlenmiştir. Biofield ile işlem görmüş timol ve mentolün yapısal ve fiziksel özelliklerinin incelendiği başka bir çalışma da ise T_{onset} ve T_{peak} değerleri, sırasıyla 123,28 ve 148,4 $^{\circ}\text{C}$ bulunmuştur [342]. Timolün bu değerlerinin daha yüksek bulunmasının sebebi, bileşiğin oksidasyonundan kaynaklanıyor olabilir.

PVA/PASP oranındaki değişiklik T_{onset} , T_{peak} , T_{offset} ve ΔH değerleri üzerine artırma veya azaltma yönünde açık bir etki etmemiştir. Diğer bir yandan, tüm TSN örneklerinin bu değerleri, nanolif matların kristalleşme ve erime özelliklerinin DSC tekniği kullanılarak ayırt edilebileceğini gösteren, anlamlı ($p < 0.05$) bir farklılığa sahiptir. Yine Tablo 4.3 'den görüldüğü üzere timol'ün nanoliflere enkapsüle edilmesi, TYN'nin bu değerlerini dikkate alındığında kayda değer şekilde artmadığı

görülmektedir. (Tablo 4.3). En düşük entalpi değeri ise TYN örneklerinde belirlenmiştir.

Şekil 4.12 ST, TSN'ler ve TYN'lerin DSC termogramlarını göstermektedir.

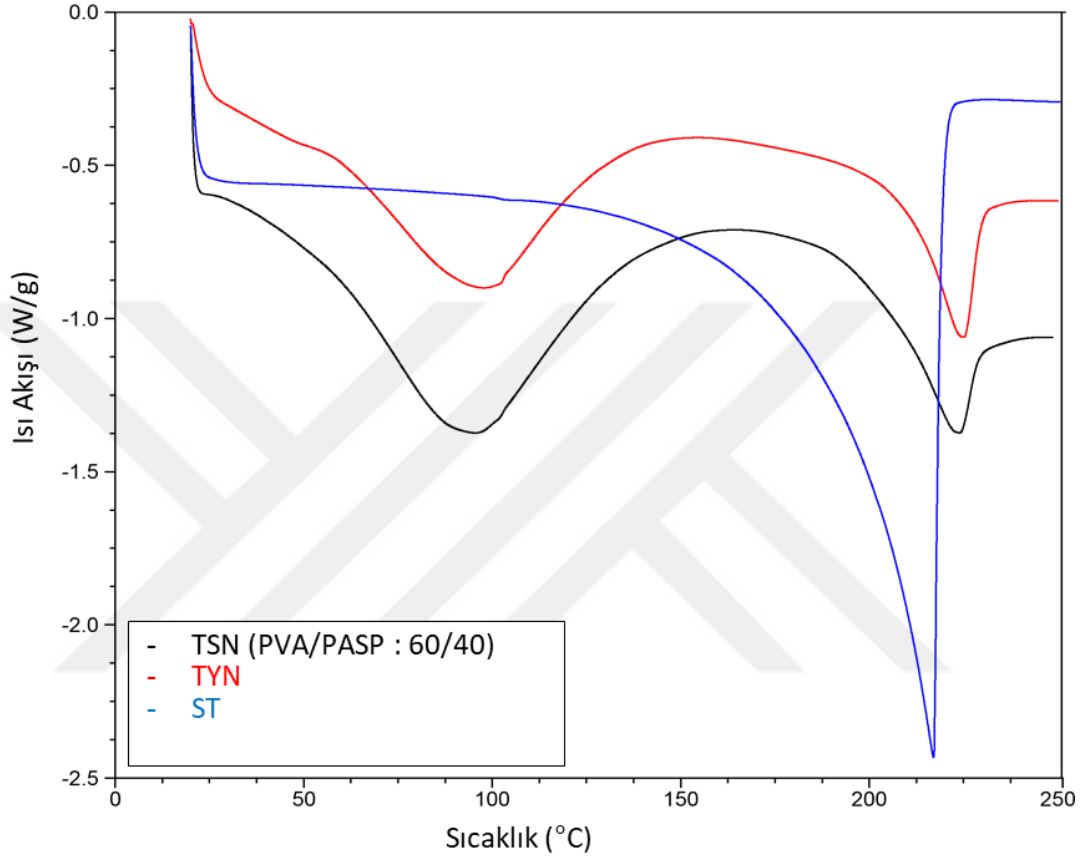


Şekil 4.12 TSN (PVA:PASP; 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100) örneklerine ait DSC termogramı

Şekil 4.12'den de görüldüğü üzere PVA / PASP oranındaki değişimin, T_{onset} ve T_{peak} değerleri üzerinde net bir etkisi olmadığı açıktır. PVA polimerinin (100/0) 88 ° C civarında bir endotermik cam geçiş zirvesi gösterdiğini belirlenmiştir. İkinci pik, 217 ° C 'de keskin bir endotermik erime geçişidir. PVA homopolimeri için de benzer bir pik değeri da önce raporlanmıştır [343]. Öte yandan, PASP (0/100), yaklaşık olarak 75°C'de, β -laktoglobülinin denatürasyonundan kaynaklanan bir pik değeri göstermiştir. Denatürasyonun bir sonucu olarak, moleküliçi bağlar (kovalent (disülfür) ve kovalent olmayan bağlar) endotermik bir işlem olarak adlandırılan süreç içerisinde ayrışır [344]. Bunlara ek olarak, denatüre moleküllerin toplanması, yeni moleküller arası bağların oluşmasına yol açarak DSC ölçümlerinde ekzotermik bir pike neden olur [345]. Bu beklentiye rağmen, bu çalışmada ekzotermik bir pik görülmemiştir. Ancak, bu iki reaksiyonun aynı anda

meydana geldiklerinde tek bir endotermik pik ile sonuçlanabileceği de bilinmektedir [346].

Şekil 4.13 'te ise ST (Serbest timol), TSN (PVA ve PASP oranı 60/40 olan timolsüz nanolif) ve TYN (PVA/PASP oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif) örneklerine ait DSC termogramı verilmiştir.



Şekil 4.13 ST (Serbest timol), TSN (PVA ve PASP oranı 60/40 olan timolsüz nanolif) ve TYN (PVA/PASP oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif) örneklerine ait DSC termogramı

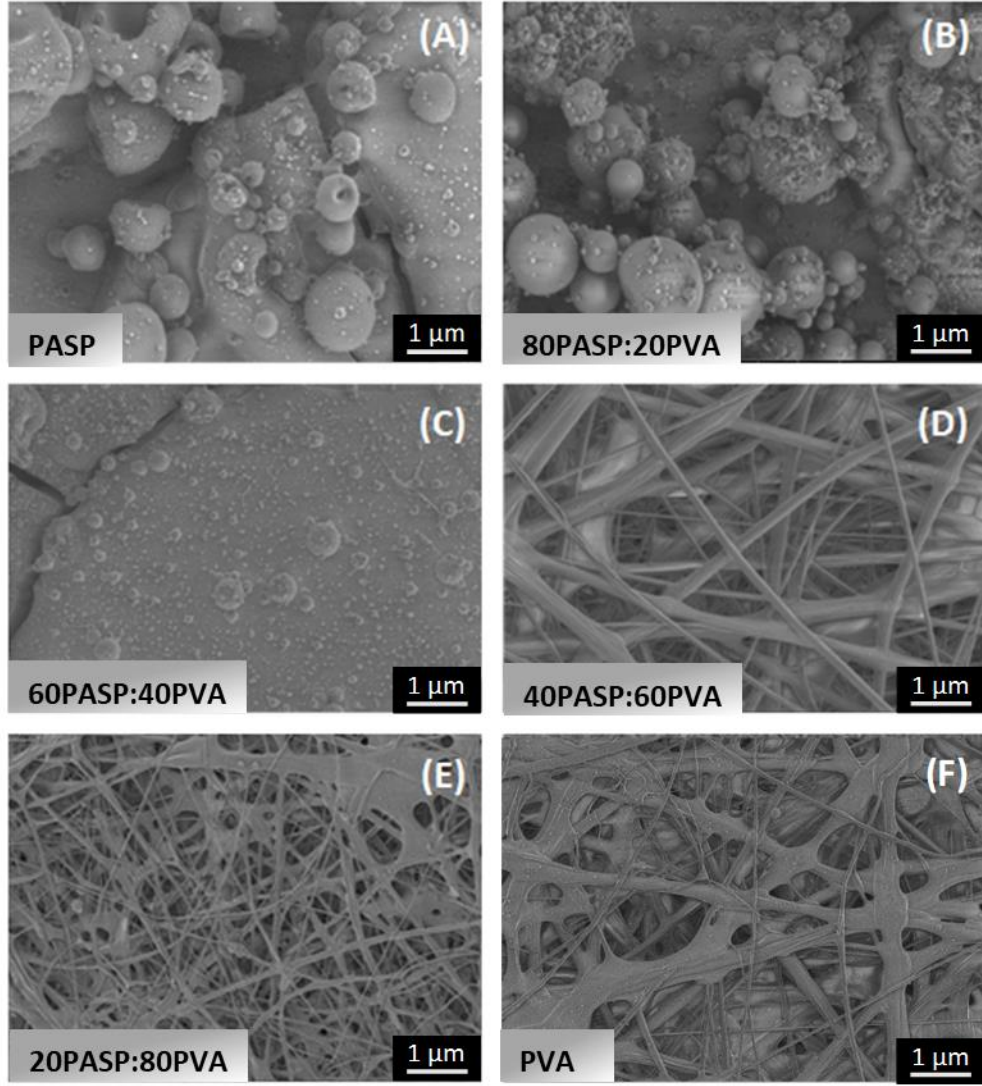
Şekil 4.13'den de görüldüğü üzere, DSC termogramı; serbest timolün (ST), erime noktasına karşılık gelen 217°C'de bir endotermik pik gösterdiğini ortaya koymaktadır. TSN'ler ve TYN'ler, kristalleşme ve erime noktalarına karşılık gelen, yaklaşık 100°C ve 225°C'lerde iki ana endotermik pik göstermiştir. TSN'ler ve TYN'ler için elde edilen sonuçlar genel olarak her bir polimeri PVA ve PASP için elde edilen sonuçları yansıtmaktadır. Bu sonuç, timolün nanolif matlara kapsüllenmesinin nanofiber matların erime noktasını önemli ölçüde değiştirmedığını göstermektedir.

4.5 Enkapsülasyon Etkinliği

Timol yüklü nanoliflerin enkapsülasyon etkinliği değeri denklem 3.3 ve 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır. Timolün % enkapsülasyon etkinliği $74 \pm 1,02$ olarak hesaplanmıştır. Literatürde timol öjenol ve timolün zein ve kazeine enkapsülasyon etkinliğinin ölçüldüğü bir çalışmada, % enkapsülasyon etkinliği %21,49 olarak hesaplanmıştır [347]. Bunun dışında bu çalışmayı destekleyen timol enkapsülasyon etkiliğini belirleyen çalışmalar mevcuttur. Karvakrol ve timolün zein kullanılarak enkapsülasyonun yapıldığı bir çalışmada timolün enkapsülasyon etkinliği %70-90 olarak bulunmuştur [348]. Uçucu yağların enkapsülasyon etkinliği değerleri, enkapsülasyon yöntemlerinin veya üretim poseslerinin farklı olmasından ve uçucu yağın enkapsüle edildiği farklı polimerlerin farklı etkileşim ve interaksiyonlarından kaynaklanabilir. Kekik ve tarçın uçucu yağlarının zein proteinine enkapsüle edildiği bir çalışmada; enkapsülasyon etkinliğinin gücünün uçucu yağları daha stabil ve kararlı yaptığını rapor edilmiş, bunun sebebi ise enkapsüle olmuş uçucu yağların diğer bileşenlerle daha az etkileşime girdiğine bağlanmıştır [349]. Elektrodöndürme metodu ile üretilen nanoliflerdeki enkapsülasyon etkinliği değerlerinin %50'den yüksek olması beklenir. Bu çalışmadaki %74 değeri enkapsülasyon etkinliğinin verimini göstermektedir. Enkapsülasyon etkinliğinin yüksek olması, enkapsüle edilen biyoaktif maddenin polimer çözeltileri içinde iyi disperse olduğuna ve stabilitesini koruduğuna dair bilgiler verebilir.

4.6 Nanoliflerin Morfolojik Özellikleri

PVA ve PASP çözeltilerinin farklı oranlarda karıştırılmasından elde edilen timolsüz nanolif (TSN) örnekleri timol yüklü nanolif (TYN) örneklerinin SEM analizi ile morfolojik yapısı belirlenmiştir. Şekil 4.14 PASP ve PVA polimerlerinden ve farklı oranlarda karışımlarından elde edilen nanoliflerin morfolojik yapısını göstermektedir.



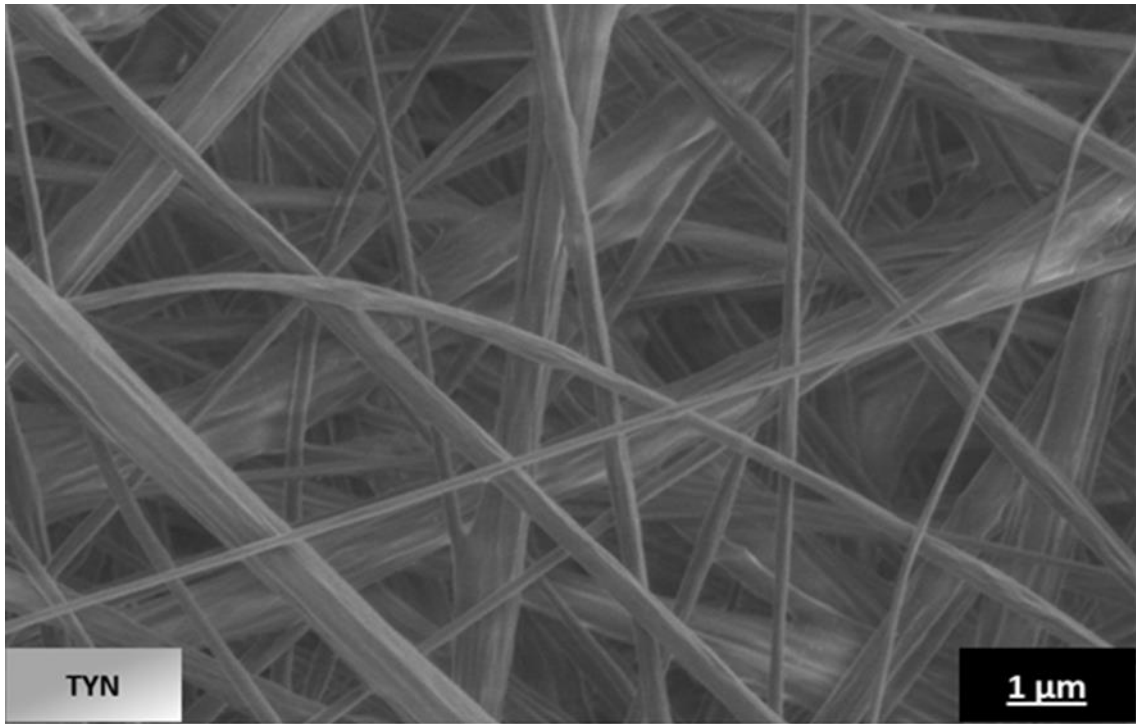
Şekil 4.14 TSN (A:100PASP ; B:80PASP/20PVA ; C:60PASP/40PVA ; D:40PASP/60PVA ; E: 20PASP/80PVA ; F: 100PVA oranlarda karıştırılmasından elde edilen timolsüz nanolif örneklerine ait SEM görüntüleri (10.00 K X)

Şekil 4.14 'de görünen A, B, C, D, E ve F harfleriyle işaretlenmiş olan görüntüler sırasıyla PASP/PVA : 100/0, 80/20, 60/40, 40/60, 20/80 ve 0/100 konsantrasyon oranlarıyla hazırlanan besleme çözeltilerinden elde edilen nanoliflere aittir.

Şekil 4.14'den görülebileceği gibi, nanofiber yapıyı yalnızca PASP'dan (A) üretmek mümkün değildir. Aynı zamanda PASP'ın yüksek konsantrasyonlarında (B,C) da nanolif üretilmemiştir. Şekilden de görüldüğü üzere A, B ve C'de sadece damlacıklıklı yapılar görünmekte hiçbir şekilde nanolif oluşuma gözlemlenmemektedir. Ancak, PVA oranı arttıkça, nano lif yapısının oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.14 (D)). Şekilden de görüldüğü üzere PVA/PASP:60/40 örneğinde kullanılan oran düzgün ağ yapılı nanolif üretmiştir. Fakat PVA'daki artış

arttıkça nanolif ağ yapısı tekrar olumsuz etkilenmiştir. Çünkü PVA oranındaki artış, nanofiber çapında bir artışa neden olmuştur. Başka çalışmalarda da PVA çözeltisinin konsantrasyonundaki artışın, nanofiber matların çapında büyümeye yol açtığı bildirilmiştir [319],[337]. PVA oranındaki daha fazla artış, düzensiz ve birleştirilmiş nano lif yapısının oluşmasına neden olarak, bozulmuş bir yapı meydana gelmesine yol açmıştır (E ve F). Aynı zamanda PVA konsantrasyonunun yüksek olduğu nanolif yapılarında (E ve F) nanolif çapının büyümesiyle birlikte damlacıklı yapılar görünmektedir. Bu nedenle, elektrospin ile üretilen nanolif matların morfolojisi ve çapının, PVA/PASP'ın konsantrasyon oranından ciddi şekilde etkilendiği sonucuna varılabilir. Görüntülerden anlaşılabileceği üzere en homojen nano lif yapısının 60/40:PVA/PASP oranından üretilen TSN'lerde gözlenebildiği sonucuna varılabilir (Şekil 4.14 (D)). Bu nedenle, TYN'ler 60/40 oranında PVA ve PASP polimerlerinden üretilmişlerdir.

En uygun biyotaşıyıcı oranı belirlendikten sonra timol biyoaktif maddesi enkapsüle edilerek elektrospin yöntemiyle üretilen nanoliflerin (TYN) morfolojik yapısı incelenmiştir. Şekil 4.15 TYN örneklerinin morfolojik yapısını göstermektedir.



Şekil 4.15 TYN (Timol Yüklü Nanolif (60PVA:40PASP) örneklerine ait SEM analiz görüntüleri (10.00 K X)

Şekil 4.15'ten görüldüğü üzere TYN matlarından damlacıksız ve homojen bir nanolif yapısı elde edilmiştir. Çalışmanın ilerleyen bölümlerinde tartışılacağı gibi, bu nanofiber matlarda *in vitro* ve *in situ* testler yapılmıştır. PVA ve PASP'ın 60/40 oranından üretilen nanofiber matların ortalama çapı 300 nm'dir (Şekil 4.14 (D)). Timolün nanoliflere enakpsüle edilmesi nanoliflerin (TYN) ortalama çaplarını 371 nm (Şekil 4.15) yükseltmiştir. Bu durum, timolün nanolif polimer yapıları içerisinde toplanmaya sebep olmadan, iyi bir şekilde dağıldığını ortaya koymuştur. Timol yüklü nanolif matlarının düzgün ağ yapısı, sıkı ve dirençli görünümeleri, nanolif çaplarının yeterli oluşu ve damlacıklı yapı göstermemesi kaplama materyali olarak kullanılabilen uygun karışımın belirlendiği sonucunu vermektedir.

4.7 Yüzey kaplama malzemesi olarak nanofiber matların *in vitro* ve *in situ* antifungal aktivitesi

Bu çalışmada, nanofiber matların antifungal aktivitesi, mikotoksijenik bir küf olan *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 'a karşı test edilmiştir. Tablo 4.4, serbest timolün (ST), timol enkapsüle edilmeden üretilen nanoliflerin (TSN) ve timol enkapsüle edilerek üretilmiş nanoliflerin (TYN), *Aspergillus parasiticus* 'un misel gelişimine karşı oluşturdıkları antifungal aktiviteyi göstermektedir.

Kontrol grubu olarak belirlenen örnekler metod kısmında da anlatıldığı üzere herhangi bir nanolif muamelesi yapılmamış sadece *Aspergillus parasiticus* diğer örneklerle aynı miktarda muamele edilmiştir. Tablo 4.4'den de görüldüğü üzere küflerin en fazla gelişme gösterdiği örnekler kontrol grubu örnekleridir (5. gün: 5,6 cm). Bu beklenen ve istenen bir durumdur. Normal şartlar altında küfün bu oranlarda gelişim göstermesi gerekmektedir. Timol yüklü nanolif (TYN) içeren örnekler ile serbest timol (ST) içeren örnekler kıyaslandığında ise TYN örneklerinin küfün gelişimini daha fazla etkilediği Tablo 4.4 'den görülmektedir. TYN matları içeren örneklerde ölçümü yapılan bütün günlerde serbest timole göre daha az küf gelişimi gözlemlenmiştir. Bu durum enkapsülasyonun etkinliğini göstermektedir.

Tablo 4.4 Timol ve nanolif matların farklı inkübasyon sürelerinde *A. parasiticus*'un misel gelişimine ve peynir küplerinde oluşan küf kolonilerinin çap değerlerine karşı *in vitro* antifungal aktivitesi

Nanolif örnekleri	Hücre Büyüklüğü(cm)				Koloni Çapı	Fungistatik Aktivite	Fungisidal Aktivite
	İnkübasyon Periyotları				(cm)	MIK ^o (%)	MFC ^o (%)
	1.gün	3.gün	5.gün	7.gün			
Kontrol†	0,9 ^{Ac}	3,1 ^{Ab}	5,6 ^{Aa}	8,1 ^A		-	-
ST‡	0,4 ^{Bc}	1,5 ^{Cb}	3,2 ^{Ca}	4,1 ^C		0,025	0,05
TSN§	0,8 ^{Ac}	2,7 ^{Bb}	4,8 ^{Ba}	7,5 ^B		-	-
TYN‡	0,4 ^{Bc}	1,2 ^{Db}	2,3 ^{Da}	0,0 ^D		0,015	0,03

Kontrol† : Sadece küf içeren örnek grubu,

ST‡: Serbest timol,

TSN§: PVA ve PASP oranı 60/40 olan timolsüz nanolif örnekleri,

TYN‡ : PVA/PASP oranı 60/40 olan timol yüklü nanolif örnekleri,

MIK^o : Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (w/v) %

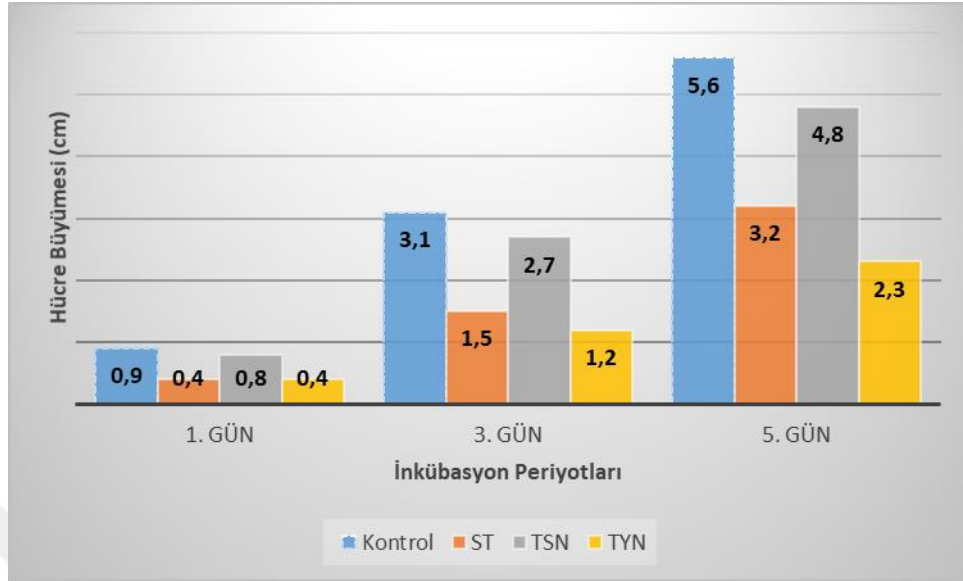
MFC^o : Minimum Fungisidal Konsantrasyon (w/v) %

^{A-D} Her sütunda, farklı üst simge büyük harfleri, her inkübasyon süresi içinde örnekler arasındaki farkları göstermektedir. ($p < 0.05$)

^{a-c} Her satırda, farklı üst simge küçük harfleri, her bir örnek için inkübasyon periyotları arasındaki farkları göstermektedir. ($p < 0.05$)

Şekil 4.16'dan da daha net görüldüğü üzere enkapsüle edilen timol, serbest timole göre daha fazla etki göstermektedir. TSN matları içeren örneklerde ise kontrol örneklerine göre yine daha az gelişim söz konusudur. Timol içermeyen bu nanoliflerin küfün gelişimine etkisi PVA ve PASP'tan kaynaklanıyor olabilir. Özetle; misel büyüme değerleri, timol yüklü nanolif (TYN) matların antifungal etkililiğinin, kontrol, serbest timol (ST) ve timol yüklü olmayan nanolif (TSN) matlarınınkinden önemli ölçüde ($p < 0.05$) daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur ve bu etkinlik her inkübasyon döneminde gözlemlenmiştir (Tablo 4.4). Bu sonuç, kapsülleme işleminin etkili olduğunu, timolün nanofiber matlara kaplanması, antifungal etkinliğini önemli ölçüde artırabileceğini göstererek,

durumu açıkça ortaya koymaktadır. Bunlara ek olarak, misel büyüme değerleri, beklenildiği gibi inkübasyon süresiyle paralel artış göstermiştir.



Şekil 4.16 Timol ve nanolif matların farklı inkübasyon sürelerinde *A. parasiticus*'un misel gelişimine karşı *in vitro* antifungal aktivitesi

Bu duruma uygun olarak yapılan bir çalışmada 500 µg/mL'nin (%0,05) üzerindeki timol konsantrasyonunun *A. parasiticus* üretimini tamamen inhibe ettiğini, düşük konsantrasyonlarının ise kısmi veya geçici büyüme inhibisyonu ile sonuçlandığını bildirmiştir [351]. Bu sonuçlar yayınlanmış diğer çalışmalar tarafından da desteklenmektedir. Daha önce rapor edilen bir çalışmada, 500-1000 ppm (% 0,05-0,1) kekik yağlarının *A.parasiticus*'a karşı öldürücü bir etkisi olduğu rapor edilmiştir [352]. Yapılan başka bir çalışmaya göre kekik veya timol esansiyel yağının %2'sinin (ağırlık/hacim), büyük çoğunluğu *Aspergillus* türü olan küflerini inhibe edebildiğini göstermiştir [353]. Bu raporlardan, timol yüzdesinin 0,05 ila 0,1 arasındaki bir miktarın *A. parasiticus*'u tamamen inhibe etmek için yeterli olduğu açıktır. Bu çalışmada da, *in vitro* antifungal aktivite testleri benzer sonuçlar vermiştir. Serbest timolün ve enkapsüle edilmiş timolün kullanım oranı %0,01 dir. Bu oran antifungal aktiviteyi gözlemlemek için yeterlidir. Bununla birlikte, aynı şartlar altında yapılan testler sonucuna bağlı olarak, kapsülleme işleminin daha yüksek antifungal aktivite gösterebildiğini belirlemiştir ($p<0.05$). Tablo 4.4'den de görüldüğü üzere, büyüme çaplarının inkübasyon periyodundaki 5. gününe bakılacak olursa ST ve TYN matlarının değerleri sırasıyla 3,2 ve 2,3 cm değerlerindedir. Yani ST, control grubuna göre yaklaşık % 42 etkinlik gösterirken,

TYN matları kontrol grubuna göre yaklaşık % 59 değerinde etkinlik göstermiştir. Bu sonuçlar, timol yüklü nanolif matlarının antifungal aktiviteyi önemli ölçüde artırmasından dolayı enkapsülasyon prosesinin verimli olduğunu açıkça göstermektedir.

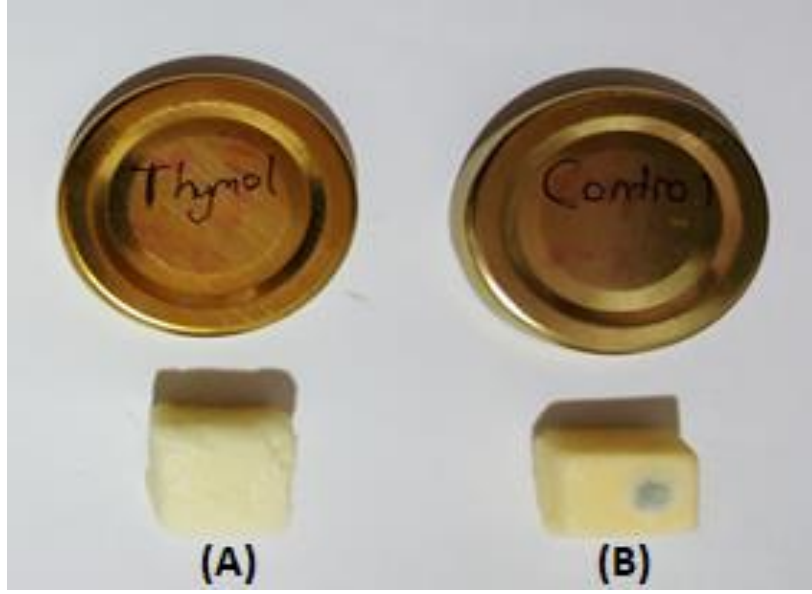
Enkapsüle edilmiş timolün, serbest timole göre nispeten daha fazla antifungal etkinlik göstermesi, kapsüllendiği nanofiber yapıdan (TYN) timolün, yavaş ve sürekli bir şekilde kontrollü salınımından kaynaklandığı, daha önce yapılan başka çalışmalara dayandırılarak açıklanabilir [354]- [350].

Nano malzemenin çok küçük boyutlara sahip olmasıyla birlikte, daha fazla yüzey alanı oluşturuyor olması, kapsüllenen aktif bileşenlerle mikroorganizmaların hücre yüzeyleri arasında daha büyük etkileşimlere neden olabileceğinden dolayı, antifungal etkinliğin artmasının bir başka nedeni olarak gösterilebilir [357] .

ST ve TYN'nin *A. parasiticus*'a karşı fungisidal ve fungistatik etkinliğini gösteren MİK ve MFC değerleri Tablo 4.4'te verilmiştir. Söz konusu küfe karşı en yüksek antifungal aktivite %0,015 değeri ile yani en düşük MİK değerini veren TYN örneklerinde gözlemlenmiştir. MFC değerlerine bakıldığında ise, *A.parasiticus* üzerindeki öldürücü etkinin timol yüklü nanolif içeren örneklerde %0,03, serbest timol içeren örneklerde ise %0,05 değerlerinde olduğu gösterilmektedir.

TYN'lerin *A. parasiticus*'a karşı *in situ* bir şekilde antifungal etkililiğini göstermek için, materyal metod kısmında ayrıntılı açıklandığı üzere inoküle edilmiş kaşar peyniri küpleri TYN'ler ile kaplanmıştır. Bu peynirler A grubu örneklerini içermektedir. Kontrol grubunda ise aynı şekilde inoküle edilen kaşar peyniri küpleri kaplanmamıştır. Kontrol grubu ise B grubu örneklerini temsil etmektedir. İnokülasyon periyodu tamamlandıktan (7 gün) sonra kaşar peynirleri küpleri üzerindeki gelişim gözlemlenmiştir. Şekil 4.17'de bu antifungal etki gözlemlenebilmektedir.

Şekil 4.17 (A) ve (B), sırasıyla *A.parasiticus* (NRRL 2999) inoküle edilmiş, timol yüklü nanolif ile kaplanmış ve kaplanmamış (kontrol) örneklerinin 7.günde çekilen fotoğraflarını göstermektedir. Şekilden de görüldüğü üzere kaşar peynirine kaplanan TYN'ler bu mikotoksijene karşı antifungal etki göstermiştir.



Şekil 4.17 TYN'lerin 7. depolama gününde *A. parasiticus* inoküle edilmiş peynir küpleri (yüzeyi kaplanmış (A) ve yüzeyi kaplanmamış (B)) peynir küpleri üzerine etkisi

Kaşar peyniri küplerini TYN'lerle kaplamanın, küp yüzeyindeki küf büyümesini, kaplanmamış küplere kıyasla sınırladığı görülmüştür. Yüzeyi kaplanmamış kaşar peyniri küplerinin büyüme çapı 8,1 mm olarak ölçülmüştür. Kaplama süreci, TYN'lerin *in situ* antifungal etkililiği ile de kanıtlandığı üzere, küf kolonilerinin büyüme çaplarında dikkate değer bir azalma ile neticelenmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda ön plana çıkan nanoteknoloji çalışmaları, gıdalarda nanoyapıların kullanımını da beraberinde getirmiştir. Nanoteknolojik uygulamalar, gıdalarda kalite gelişiminin nano-bileşenlerle sağlanması, biyoaktif maddelerin; besin değerinin korunması, özelliklerini kaybetmeden taşınması ve hedefe yönelik kontrollü salınımları, olası kontaminasyon ve bozulmaların önceden nanosensörlerle belirlenmesi ve bariyer özelliklerini geliştirmek için nanoyapıların ambalaj materyallerinde kullanılması gibi çalışmalarla yerini almıştır. Ayrıca nanoboyutlara inen bileşenlerin kütle başına düşen yüzey alanları arttığı için, gıdalarda gösterdikleri fonksiyonel özelliklerin olumlu yönde arttığı çalışmalarla belirtilmiştir. Nanoteknoloji alanındaki bu çalışmalar pek çok farklı metod ve farklı nanoyapılarla uygulanmaktadır. Bu metodlardan biri de enkapsülasyon etkinliğini esas alan, biyoaktif madde enkapsüle edilen polimer veya polimerlerden elde edilen besleme çözeltisinin elektrospin yöntemi kullanılarak nanolif üretilmesidir. Yöntemde kullanılan biyoaktif madde ve polimerlerin nanoboyutlara inmesi ile fonksiyonel özelliklerinin artması beklendiğinden, gıdanın biyoyararlılığına, stabilitesine ve raf ömrüne olumlu etki edebileceği kanısına varılmıştır.

Bu çalışmada; biyoaktif madde olarak timolün, taşıyıcı olarak kullanılan; peynir altı suyu proteini ve polivinil alkol polimerlerine enkapsüle edilerek, elektrospin yöntemiyle nanolif üretilmiştir. Sonrasında üretilen bu nanoliflerin moleküler, reolojik, termomekanik, biyoaktif ve morfolojik karakterizasyonları belirlenmiştir ve çalışmaya en uygun nanolif üreten karışımı bulunmuştur. Ayrıca üretilen bu nanoliflerin kaşar peynirlerine inokule edilen *A. parasiticus* küfüne karşı göstereceği antifungal etki belirlenmiştir. Söz konusu yürütülen bu çalışmadan aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Nanolif üretme kapasitesi yüksek ve sistem uygulanabilirliği kolay olan, nanolif üretim süreci sürekliliği kontrolü sağlanabilen ve nanolif

boyutlarının ve homojen nanolif dokusunun cihaz parametreleri değiştirilerek kontrol edilebilen en uygun metod olarak, elektrospin yöntemi belirlenmiştir.

2. Literatür değerlendirmeleri yaparak *A. parasiticus*'a antifungal etkisi nedeniyle ve ön denemeler analiz değerlendirme ve neticesi olarak nanolif üretilen besleme çözeltisinin içerdiği bileşenlerin yüzdesel oranları timol/PVA-PASP/su ; 10/30/60 olarak kullanılmıştır.
3. *A. parasiticus* mikotoksijeni üzerindeki antifungal etkinliği belirleme gereği timolün, son ürünlerdeki değeri %0,01 olarak kullanılmıştır.
4. Kaşar peynirindeki duyuusal aromaya yakın olması, fonksiyonel özelliklerinin geniş bir yelpaze sunması ve iyi bir taşıyıcı polimer olması sebebiyle biyotaşıyıcı polimer olarak peynir altı suyu proteinleri (%30 w/v) kullanılmıştır.
5. Suda çözünür, biyobozunur ve homojen nanolif ağı oluşturma kapasitesi yüksek olması gibi sebeplerle diğer bir taşıyıcı olarak polivinil alkol polimeri (%30 w/v) kullanılmıştır.
6. Elektrospin yönteminde kullanılacak olan besleme çözeltilerinin davranış biçimleri, gerilme ve gerinim kontrollü reometre kullanarak belirlenmiştir. Karışım oranları PVA:PASP ; 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100 olan polimer çözeltilerinin kayma gerilmesi değerlerinin kesme hızı arttıkça sabit bir şekilde arttığı belirlenmiştir. Bütün besleme çözeltilerinin shear thinning davranış özelliği gösterdiği kayma ile incelen bir yapıda oldukları belirlenmiştir.
7. Reoloji analizi sonuçlarına göre, K (kıvam katsayısı) değerleri ile PVA konsantrasyonu arasında anlamlı bir korelasyon olduğu ve besleme çözeltilerindeki PVA konsantrasyonunun, çözelti viskozitesiyle anlamlı bir ilişkide olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ölçüm parametreleri 0,99 gibi yüksek R^2 değerleri ile tanımlanan Ostwald de Waale modeli ile oluşturulmuştur.
8. Nanoliflerin ve serbest timolün dispersiyon stabilitesini belirlemek için zeta potansiyel analizi yapılmış ve sonuç olarak timol yüklü nanoliflerin, timolsüz üretilen nanoliflere ve serbest timole göre daha kararlı bir yapıda

olduğu görülmüştür. Ayrıca PVA konsantrasyonu arttıkça ve PASP konsantrasyonu azaldıkça nanolif örneklerinin daha kararlı bir yapıya sahip olduğu belirlenmiş ve besleme çözeltisi polimerlerinin konsantrasyon oranlarının zeta potansiyel değeri ile anlamlı bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir.

9. Zeta potansiyeli sonuçlarına göre, emülsiyonlardaki kararlı yapıya geçişteki artışla emülsiyon iletkenliği de pozitif yönde artış göstermiştir. Ayrıca PVA konsantrasyonunun azaldıkça, TSN (Timolsüz PVA/PASP'ın farklı karışımlarından üretilen nanolifler) örneklerinin iletkenlik değerleri arttığı belirlenmiştir.
10. ATR-FTIR spektroskopisi ile moleküler karakterizasyonu yapılan PVA/PASP:60/40 oranından üretilen timol yüklü nanolif (TYN) örneklerinden elde edilen spektrumlar, onu oluşturan her bir polimerden farklı pikler vermiştir. TYN'lerin IR spektrumu, termodinamik açısından birbirleriyle uyumlu olduklarını ve timol ile PVA ve PASP'ın fonksiyonel grupları arasında moleküller arası etkileşimler olduğunu göstermiştir.
11. Nanoliflerin DSC ile termal karakterizasyonu analizi sonuçlarına göre; timolün başlangıç ve pik sıcaklığı değerlerinin yüksek olmasının bileşiğin oksidasyonundan kaynaklandığını, tüm TSN örneklerinin sıcaklık ve entalpi değerlerinin, nanolif matların kristalleşme ve erime özelliklerinin DSC tekniği kullanılarak ayırt edilebileceğini gösteren, anlamlı bir farklılığa sahip olduğunu ve PVA polimerinin (100/0) 88 °C civarında bir endotermik cam geçiş zirvesi gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca TSN'ler ve TYN'ler için elde edilen sonuçlar PVA ve PASP için elde edilen sonuçları yansıtmaktadır. Bu durum, timolün nanolif matlara kapsüllenmesinin nanofiber matların erime noktasını önemli ölçüde değiştirmedığını ve PVA ve PASP'ın nanolifler içinde iyi disperse olduğunu göstermiştir.
12. Enkapsülasyon etkinliği analiz sonuçlarına göre timolün, timol yüklü nanoliflerdeki enkapsülasyon etkinliği değeri %74 olarak bulunmuştur.
13. Nanoliflerin morfolojik analiz sonuçlarına göre, PASP (%100) 'ın ve PASP'ın yüksek konsatrasyon oranlarının nanolif üretemediği ve PVA oranı arttıkça

nanolif üretiminin olduğu ve PVA oranındaki bu artışın, nanolif çapında bir artışa neden olduğu sonucuna varılmıştır. En homojen nanolif yapısının PVA/PASP:60/40 oranlarına sahip nanoliflerde (TSN) gözlemlendiği belirlenmiştir. Ayrıca timolün enkapsülasyonunun TYN'lerin nanolif çapını artırdığı bu durumun da timolün nanolif polimer yapıları içinde homojen bir şekilde disperse olduğunu göstermiştir.

14. *In vitro/in situ* antifungal etkinlik testi sonuçlarına göre, TYN'lerin *A. parasiticus*'u inhibe etmede etkili olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda, nanofiber matların içine yerleştirilen timolün, *A. parasiticus*'a karşı serbest timolden daha güçlü bir antifungal etkinliğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu sonuçlar, öncelikli olarak enkapsülasyon işleminin etkililiğini ortaya koymuştur. Kaşar küplerinin TYN'lerle kaplanması, test edilen depolama süresi boyunca *A. parasiticus* (NRRL 2999) gelişimini çok büyük ölçüde engellemiştir. Bu sonuçlara dayanarak, timol yüklü nanofiber matların bir antifungal yüzey kaplama malzemesi olarak kullanılabileceği ve sentetik küf ilaçlarına bir dereceye kadar alternatif bir araç olarak kullanılabileceği, sonucuna varılabilir. Ayrıca üretilen bu nanoliflerin *A. parasiticus* benzeri başka küflere etki edebileceği düşünülebilir ve başka küfler için, üretilen bu nanoliflerin etkisi incelenebilir. Dahası üretilen nanolifler kaşar peyniri tekstürüne ve kimyasal özelliklerine benzer yapıdaki peynirler içinde kaplama materyali olarak kullanılabilirliği incelenebilir. Bunlara ek olarak bu yöntemle elde edilecek olan kaplama materyali için biyoaktif madde olarak timol benzeri uçucu yağlar kullanılabilir ve bu uçucu yağların antifungal etkinlik dereceleri benzer metodlarla incelenebilir.

KAYNAKÇA

-
- [1] Z. M. Huang, Y. Z. Zhang, S. Ramakrishna, and C. T. Lim, "Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers," *Polymer (Guildf)*, 2004.
 - [2] J. Ramsden, "Nanotechnology: an introduction," in *Gene Therapy*, 2016.
 - [3] M. A. Markowitz, G. M. Chow, and A. Singh, "Nanoparticle synthesis at membrane interfaces," in *Nanotechnology: Molecularly Designed Materials*, 1996.
 - [4] J. Watanabe, S. Iwamoto, and S. Ichikawa, "Entrapment of some compounds into biocompatible nano-sized particles and their releasing properties," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 2005.
 - [5] G. B. Sukhorukov, *Controlled Synthesis of Nanoparticles in Microheterogeneous Systems. By Vincenzo Turco Liveri*. 2006.
 - [6] Z. M. Huang, Y. Z. Zhang, M. Kotaki, and S. Ramakrishna, "A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites," *Compos. Sci. Technol.*, 2003.
 - [7] S. G. Kumbar, R. James, S. P. Nukavarapu, and C. T. Laurencin, "Electrospun nanofiber scaffolds: Engineering soft tissues," *Biomed. Mater.*, 2008.
 - [8] J. Zeng, "Meso-and nano-scaled polymer fibers and tubes: fabrication, functionalization, and characterization," Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg, 2003.
 - [9] F. K. Ko, "Nanofibres technology," in *Nanotubes & Nanofibers*, 2006.
 - [10] N. Bhardwaj and S. C. Kundu, "Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique," *Biotechnology Advances*. 2010.
 - [11] U. Günşen and I. Büyükyörük, "Piyasadan temin edilen taze kaşar peynirlerinin bakteriyolojik kaliteleri ile aflatoxin M1 düzeylerinin belirlenmesi," *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 27, 4, 821-825, 2003.
 - [12] R. S. Shukla, R. J. Verma, and D. N. Mehta, "Kinetic and mechanistic investigations on reductions of aflatoxins by lactic acid," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, 2002.
 - [13] M. Gürses, A. Erdoğan, and B. Çetin, "Occurrence of aflatoxin M1 in some cheese types sold in Erzurum, Turkey," *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 2004.
 - [14] F. Galvano, V. Galofaro, A. Ritieni, M. Bognanno, A. De Angelis, and G. Galvano, "Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy: Second year of observation," *Food Addit. Contam.*, 2001.
 - [15] C. Atasever, M., Nizamlioğlu, M., Özturan, K., Karakaya, Y., & Ünsal, "Erzurum bölgesinde tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinin aflatoxin M1 yönünden incelenmesi," in *II. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi*, 2006, 231-240.
 - [16] H. H. Oruç, "Aflatoxin M1 (AFM1) in milk and milk products and situation in

- Turkey,” *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 22, 121–125, 2003.
- [17] M. L. Martins and H. M. Martins, “Aflatoxin M1 in yoghurts in Portugal,” *Int. J. Food Microbiol.*, 2004.
- [18] J. Fink-Gremmels, “Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: A review,” *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.*, 2008.
- [19] K. K. Tekinşen and G. Uçar, “Aflatoxin M1 levels in butter and cream cheese consumed in Turkey,” *Food Control*, 2008.
- [20] Evren M., “Aflatoksinlerin etki şekilleri, gıdalarda bulunma durumları ve önleme çareleri,” *O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Derg.*, 14, 2, 159–172, 1999.
- [21] R. Jordano, R., Jodral, M., Martinez, P., Salmeron, J. & Pozo, “Aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* in yogurt,” *J. Food Prot.*, 52, 11, 823–824, 1989.
- [22] M. G. Barrios, M.J., Medina L.M. & Cordoba, “Aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* isolated from cheese,” *J. Food Prot.*, 60, 2, 192–194, 1997.
- [23] S. Güley, Z., Uysal, H.R., & Kılıç, “Investigation of the presence of aflatoxin M1, aflatoxin B1 and aflatoxigenic moulds in some naturally mould-ripened traditional cheeses,” *Ege J. Agric. Res.*, 50, 2, 145–152, 2013.
- [24] M. Soković, O. Tzakou, D. Pitarokili, and M. Couladis, “Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece,” *Nahrung - Food*, 2002.
- [25] P. Falcone, B. Speranza, M. A. Del Nobile, M. R. Corbo, and M. Sinigaglia, “Study on the antimicrobial activity of thymol intended as a natural preservative,” *J. Food Prot.*, 2005.
- [26] O. Sağdıç, “Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols,” *LWT - Food Sci. Technol.*, 2003.
- [27] T. Gumus, S. Albayrak, O. Sagdic, and M. Arici, “Effect of gamma irradiation on total phenolic contents and antioxidant activities of *Satureja hortensis*, *Thymus vulgaris*, and *Thymbra spicata* from Turkey,” *Int. J. Food Prop.*, 2011.
- [28] O. Sağdıç, H. Cankurt, F. Törnük, and M. Arıcı, “Effect of thyme and garlic aromatic waters on microbiological properties of raw milk cheese,” *J. Tekirdag Agric. Fac.*, 14, 2, 2017.
- [29] B. I. Vázquez, C. Fente, C. M. Franco, M. J. Vázquez, and A. Cepeda, “Inhibitory effects of eugenol and thymol on *Penicillium citrinum* strains in culture media and cheese,” *Int. J. Food Microbiol.*, 2001.
- [30] F. Tornuk, O. Sagdic, M. Hancer, and H. Yetim, “Development of LLDPE based active nanocomposite films with nanoclays impregnated with volatile compounds,” *Food Res. Int.*, 2018.
- [31] O. Sagdic and I. Ozturk, “Kinetic modeling of *Escherichia coli* O157:H7 growth in rainbow trout fillets as affected by oregano and thyme essential oils and different packing treatments,” *Int. J. Food Prop.*, 2014.

- [32] S. Soylu, H. Yigitbas, E. M. Soylu, and Ş. Kurt, "Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*," *J. Appl. Microbiol.*, 2007.
- [33] C. S. Mathela, K. K. Singh, and V. K. Gupta, "Synthesis and in vitro antibacterial activity of thymol and carvacrol derivatives," *Acta Pol. Pharm. - Drug Res.*, 2010.
- [34] P. Sanguansri and M. A. Augustin, "Nanoscale materials development - a food industry perspective," *Trends in Food Science and Technology*. 2006.
- [35] L. Chen and M. Subirade, "Chitosan/ β -lactoglobulin core-shell nanoparticles as nutraceutical carriers," *Biomaterials*, 2005.
- [36] A. F. De Faria, F. Perreault, E. Shaulsky, L. H. Arias Chavez, and M. Elimelech, "Antimicrobial Electrospun Biopolymer Nanofiber Mats Functionalized with Graphene Oxide-Silver Nanocomposites," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2015.
- [37] A. Yilmaz, F. Bozkurt, P. K. Cicek, E. Dertli, M. Z. Durak, and M. T. Yilmaz, "A novel antifungal surface-coating application to limit postharvest decay on coated apples: Molecular, thermal and morphological properties of electrospun zein-nanofiber mats loaded with curcumin," *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2016.
- [38] Z. Ceylan, G. F. Unal Sengor, O. Sağdıç, and M. T. Yilmaz, "A novel approach to extend microbiological stability of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets coated with electrospun chitosan nanofibers," *LWT - Food Sci. Technol.*, 2017.
- [39] E. Ha and M. B. Zemel, "Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: Mechanisms underlying health benefits for active people (Review)," *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2003.
- [40] D. Guggisberg, P. Eberhard, and B. Albrecht, "Rheological characterization of set yoghurt produced with additives of native whey proteins," *Int. Dairy J.*, 2007.
- [41] H. İlyasoğlu and S. N. El, "Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, Yapıları Ve Kollodial Salınım Sistemleri Olarak Gıda Sektöründe Kullanım Alanları," *Gıda*, 35, 2, 143–150, 2010.
- [42] R. Feynman, "There's plenty of room at the bottom," *Eng. Sci.*, 23, 5, 22–36, 1960.
- [43] A. Zarzycki, "At source of nanotechnology," *Tecno Lógicas*, 17, 32, 2014.
- [44] N. Taniguchi, "On the basic concept of nanotechnology," *Japan Soc. Precis. Eng.*, 1974.
- [45] A. P. Nikalje, "Nanotechnology and its Applications in Medicine," *Med. Chem. (Los Angeles)*, 5, 2, 2015.
- [46] E. Drexler, "Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology," *Двигатели Созидания*, 1987.
- [47] E. Regis, *Nano: The Emerging Science of Nanotechnology*. Diane Publishing Company, 1995.

- [48] G. Atmaca, "Nanoteknolojinin Tarihi," 2011. [Online]. Available: <http://www.kuark.org/2011/05/nanoteknolojinin-tarihi/>. [Accessed: 18-Oct-2018].
- [49] The Royal Society, "Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties," London, 2004.
- [50] G. Hunt and M. D. Mehta, *Nanotechnology risk, ethics and law*. 2013.
- [51] M. Bayindir, "Yeni Bir Teknoloji Devrimi Olarak Nanoteknoloji, Yeni Bir Nanofabrikasyon Tekniği: Fiber Tabanlı Optoelektronik ve Termal Aygıtlar," in *İTÜ Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü Semineri*, 2006.
- [52] M. Roco, "National Nanotechnology Initiative — Past, Present, Future," 2010.
- [53] M. Erol Demirbilek, "Tarımda ve Gıdada Nanoteknoloji," *J. Food Feed Sci. - Technol.*, 15, 46–53, 2015.
- [54] J. Weiss, P. Takhistov, and D. J. McClements, "Functional materials in food nanotechnology," *Journal of Food Science*. 2006.
- [55] A. Yükseltürk, "Gıdalar ve Nanoteknoloji," 2010.
- [56] G. Mileer and R. Senjen, "Nanotechnology in Food & Agriculture," *Friends of the Earth*, 10, 3–8, 2008.
- [57] C. F. Chau, S. H. Wu, and G. C. Yen, "The development of regulations for food nanotechnology," *Trends in Food Science and Technology*. 2007.
- [58] O. Renn and A. Grobe, "Nanotechnology: Risk Perception, Risk Communication and Consumer Participation ," in *American Association for the Advancement of Science Annual Meeting 2008*, 2008.
- [59] M. Das, N. Saxena, and P. D. Dwivedi, "Emerging trends of nanoparticles application in food technology: Safety paradigms," *Nanotoxicology*, 2009.
- [60] M. Pal, "Nanotechnology: A New Approach in Food Packaging," *J. Food Microbiol. Saf. Hyg.*, 2017.
- [61] J. Tager, "Nanomaterials in food packaging: FSANZ fails consumers gain," *Chain React.*, 122, 16–17, 2014.
- [62] B. S. Sekhon, "Food nanotechnology - an overview," *Nanotechnology, Science and Applications*. 2010.
- [63] G. Asadi and M. Mousavi, "Application of Nanotechnology in Food Packaging," in *IUFoST World Congress 13th World Congress of Food Science & Technology*, 2006.
- [64] N. Malathi, A.N, Santhosh K.S, Udaykumar, "Recent trends of Biodegradable polymer: Biodegradable films for Food Packaging and application of Nanotechnology in Biodegradable Food Packaging," *Curr. Trends Technol. Sci.*, 2014.
- [65] S. J. Wesley, P. Raja, A. A. Raj, and D. Tiroutchelvamae, "Review on - Nanotechnology Applications in Food Packaging and Safety," *Int. J. Eng. Res.*, 2014.
- [66] T. V. Duncan, "Applications of nanotechnology in food packaging and food

- safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors," *J. Colloid Interface Sci.*, 2011.
- [67] N. Cioffi *et al.*, "Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties," *Chem. Mater.*, 2005.
 - [68] F. A. Sheikh, M. A. Kanjwal, S. Saran, W. J. Chung, and H. Kim, "Polyurethane nanofibers containing copper nanoparticles as future materials," *Appl. Surf. Sci.*, 2011.
 - [69] A. Mihaly Cozmuta *et al.*, "Active packaging system based on Ag/TiO₂ nanocomposite used for extending the shelf life of bread. Chemical and microbiological investigations," *Packag. Technol. Sci.*, 2015.
 - [70] J. Byrne, "Nanosensors offer rapid detection of Salmonella, claims ARS," 2009. [Online]. Available: <https://www.foodnavigator-usa.com/Article/2009/01/06/Nano-sensors-offer-rapid-detection-of-Salmonella-claims-ARS#> [Accessed: 18-Oct-2018].
 - [71] Z. Ceylan, M. Yaman, O. Sağdıç, E. Karabulut, and M. T. Yilmaz, "Effect of electrospun thymol-loaded nanofiber coating on vitamin B profile of gilthead sea bream fillets (*Sparus aurata*)," *LWT*, 2018.
 - [72] P. D. Poncelet, A. Picot, and S. El Mafadi, "Encapsulation: an essential technology for functional food applications," *Innov. Food Technol.*, 2011.
 - [73] I. Bhatt and B. N. Tripathi, "Interaction of engineered nanoparticles with various components of the environment and possible strategies for their risk assessment," *Chemosphere*. 2011.
 - [74] H. Chen, J. Weiss, and F. Shahidi, "Nanotechnology in nutraceuticals and functional foods," *Food Technology*. 2006.
 - [75] M. Qhobosheane, S. Santra, P. Zhang, and W. Tan, "Biochemically functionalized silica nanoparticles," *Analyst*, 2001.
 - [76] P. Podsiadlo, S. Y. Choi, B. Shim, J. Lee, M. Cuddihy, and N. A. Kotov, "Molecularly engineered nanocomposites: Layer-by-layer assembly of cellulose nanocrystals," *Biomacromolecules*, 2005.
 - [77] D. Arora, N. Sharma, V. Sharma, V. Abrol, R. Shankar, and S. Jaglan, "An update on polysaccharide-based nanomaterials for antimicrobial applications," *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016.
 - [78] H. M. C. Azeredo, M. F. Rosa, and L. H. C. Mattoso, "Nanocellulose in bio-based food packaging applications," *Ind. Crops Prod.*, 2017.
 - [79] Prateek, V. K. Thakur, and R. K. Gupta, "Recent Progress on Ferroelectric Polymer-Based Nanocomposites for High Energy Density Capacitors: Synthesis, Dielectric Properties, and Future Aspects," *Chemical Reviews*. 2016.
 - [80] F. Dalmas, J. Y. Cavaillé, C. Gauthier, L. Chazeau, and R. Dendievel, "Viscoelastic behavior and electrical properties of flexible nanofiber filled polymer nanocomposites. Influence of processing conditions," *Compos. Sci. Technol.*, 2007.

- [81] F. Rafieian and J. Simonsen, "Fabrication and characterization of carboxylated cellulose nanocrystals reinforced glutenin nanocomposite," *Cellulose*, 2014.
- [82] M. R. Schütz *et al.*, "Shear stiff, surface modified, mica-like nanoplatelets: A novel filler for polymer nanocomposites," *J. Mater. Chem.*, 2011.
- [83] P. R. Chang, R. Jian, J. Yu, and X. Ma, "Starch-based composites reinforced with novel chitin nanoparticles," *Carbohydr. Polym.*, 2010.
- [84] S. K. Swain, A. K. Pradhan, and H. S. Sahu, "Synthesis of gas barrier starch by dispersion of functionalized multiwalled carbon nanotubes," *Carbohydr. Polym.*, 2013.
- [85] G. Cárdenas, J. Díaz V., M. F. Meléndrez, C. Cruzat C., and A. García Cancino, "Colloidal Cu nanoparticles/chitosan composite film obtained by microwave heating for food package applications," *Polym. Bull.*, 2009.
- [86] N. Lin, J. Huang, and A. Dufresne, "Preparation, properties and applications of polysaccharide nanocrystals in advanced functional nanomaterials: A review," *Nanoscale*. 2012.
- [87] S. K. Esthappan, M. K. Sinha, P. Katiyar, A. Srivastan, and R. Joseph, "Polypropylene/zinc oxide nanocomposite fibers: Morphology and thermal analysis," *J. Polym. Mater.*, 2013.
- [88] G. Doğan and G. Başal, "Espun Biopolymer Nanofibers and Applications in Drug Release Systems, Wound Dressings, and Scaffolds," *Electron. J. Text. Technol.*, 3, 58–70, 2009.
- [89] E. Özdoğan, A. Demir, and N. Seventekin, "Nanotechnology and Its Applications in Textile Industry," *Tekstil ve Konfeksiyon* 3, 159–168, 2006.
- [90] W. Luther, "International Strategy and Foresight Report on Nanoscience and Nanotechnology," 1–49, 2006.
- [91] M. N. Rittner, "Market Analysis of Nanostructured Materials," *Am. Ceram. Soc. Bull.*, 81, 3, 33–36, 2002.
- [92] C. N. R. Rao, A. Müller, and A. K. Cheetham, "Nanomaterials - An Introduction," in *The Chemistry of Nanomaterials*, 2005.
- [93] A. N. Goldstein, *Handbook of nanophase materials*, Print book. New York: Marcel Dekker, 1997.
- [94] H. S. Nalwa, Ed., *Handbook of Nanostructured Materials and Nanotechnology*. Academic Press, 2000.
- [95] A. Gupta, H. B. Eral, T. A. Hatton, and P. S. Doyle, "Nanoemulsions: formation, properties and applications," *R. Soc. Chem.*, 2016.
- [96] P. Izquierdo *et al.*, "Formation and Stability of Nano-Emulsions Prepared Using the Phase Inversion Temperature Method," *Langmuir*, 18, 1, 26–30, 2002.
- [97] M. Antonietti and K. Landfester, "Polyreactions in miniemulsions," *Prog. Polym. Sci.*, 2002.
- [98] F. J. U. Schork, G. W. Poehlein, S. Wang, J. Reimers, and J. Rodrigues,

- "Miniemulsion polymerization," *Colloids and Surfaces*, 27, 39–45, 1999.
- [99] K. Landfester, M. Willert, and M. Antonietti, "Preparation of polymer particles in nonaqueous direct and inverse miniemulsions," *Macromolecules*, 2000.
- [100] N. Usón, M. J. Garcia, and C. Solans, "Formation of water-in-oil (W/O) nano-emulsions in a water/mixed non-ionic surfactant/oil systems prepared by a low-energy emulsification method," in *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2004.
- [101] J. M. Asua, Ed., *Polymeric Dispersions: Principles and Applications*, 335. /Nato Science Series E: Heidelberg: Springer Netherlands, Heidelberg, 1997.
- [102] M. S. El-Aasser and C. M. Miller, "Preparation of Latexes Using Miniemulsions," in *Polymeric Dispersions: Principles and Applications*, 2012.
- [103] M. J. G.-C. C. Solans, P. Izquierdo, J. Nolla, N. Azemar, "Nano-emulsions," *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2005.
- [104] F. Moghaddasi, M. R. Housaindokht, M. Darroudi, M. R. Bozorgmehr, and A. Sadeghi, "Synthesis of nano curcumin using black pepper oil by O/W Nanoemulsion Technique and investigation of their biological activities," *LWT*, 2018.
- [105] J. M. Gutiérrez, C. González, A. Maestro, I. Solè, C. M. Pey, and J. Nolla, "Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation," *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 2008.
- [106] E. Acosta, "Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery," *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 2009.
- [107] K. P. Velikov and E. Pelan, "Colloidal delivery systems for micronutrients and nutraceuticals," *Soft Matter*. 2008.
- [108] F. Zülili, E. Belser, D. Schmid, C. Liechti, F. Suter, and A. G. Mibelle, "Preparation and Properties of Coenzyme Q10 Nanoemulsions," *Cosmet. Sci. Technol.*, 2006.
- [109] C. C. Chen and G. Wagner, "Vitamin E nanoparticle for beverage applications," *Chem. Eng. Res. Des.*, 2004.
- [110] J. Tiju and M. Mark, "Nanoforum Report: Nanotechnology in Agriculture and Food," 2006.
- [111] X. Wang, Y. Jiang, Y. W. Wang, M. T. Huang, C. T. Ho, and Q. Huang, "Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through O/W nanoemulsions," *Food Chem.*, 2008.
- [112] J. Miller, *THE HANDBOOK OF NANOTECHNOLOGY*. 2005.
- [113] H. Ateş, "Nano Parçacıklar ve Nano Teller," *Gazi Üniversitesi Fen Bilim. Derg.*, 3, 1, 437–442, 2015.
- [114] S. C. Lyu, Y. Zhang, C. J. Lee, H. Ruh, and H. J. Lee, "Low-temperature growth of ZnO nanowire array by a simple physical vapor-deposition method," *Chem. Mater.*, 2003.
- [115] B. Bhushan, *Handbook Springer of Nanotechnology*. 2010.

- [116] C. A. Huber, T. E. Huber, M. Sadoqi, J. A. Lubin, S. Manalis, and C. B. Prater, "Nanowire array composites," *Science* (80-.), 1994.
- [117] M. S. Dresselhaus *et al.*, "Nanowires and nanotubes," *Mater. Sci. Eng.* 23, 129–140, 2003.
- [118] R. Elnathan *et al.*, "Biorecognition layer engineering: Overcoming screening limitations of nanowire-based FET devices," *Nano Lett.*, 2012.
- [119] J. L. P. Vizcaíno and C. G. Núñez, "Fast, effective manipulation of nanowires for electronic devices," *SPIE Newsroom*, 2013.
- [120] N. Saifuddin, A. Z. Raziah, and A. R. Junizah, "Carbon nanotubes: A review on structure and their interaction with proteins," *J. Chem.*, 2013.
- [121] A. Dulda, "II-VI grubu nanoyapıların sentezlenmesi," İstanbul Üniversitesi, 2006.
- [122] D. Nepal, S. Balasubramanian, A. L. Simonian, and V. A. Davis, "Strong antimicrobial coatings: Single-walled carbon nanotubes armored with biopolymers," *Nano Lett.*, 2008.
- [123] P. C. Ma, N. A. Siddiqui, G. Marom, and J. K. Kim, "Dispersion and functionalization of carbon nanotubes for polymer-based nanocomposites: A review," *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, 2010.
- [124] S. Iijima and T. Ichihashi, "Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter," *Nature*, 1993.
- [125] M. B. Koç, "Nanotüpler," Ankara Üniversitesi, 2003.
- [126] R. N. Sangoi, "Nanocomposites based on carbon nanotubes and poly (3-alkylthiophenes) for sensor and charge storage applications," Rochester Institute of Technology, 2003.
- [127] M. T. Byrne and Y. K. Gun'ko, "Recent advances in research on carbon nanotube-polymer composites," *Adv. Mater.*, 22, 15, p. 1672–1688, 2010.
- [128] J. Li, D. Stein, C. McMullan, D. Branton, M. J. Aziz, and J. A. Golovchenko, "Ion-beam sculpting at nanometre length scales," *Nature*, 2001.
- [129] D. Branton *et al.*, "The potential and challenges of nanopore sequencing," *Nature Biotechnology*. 2008.
- [130] J. Li and D. S. Talaga, "The distribution of DNA translocation times in solid-state nanopores," *J. Phys. Condens. Matter*, 2010.
- [131] R. M. M. Smeets, S. W. Kowalczyk, A. R. Hall, N. H. Dekker, and C. Dekker, "Translocation of RecA-coated double-stranded DNA through solid-state nanopores," *Nano Lett.*, 2009.
- [132] E. C. Yusko *et al.*, "Controlling protein translocation through nanopores with bio-inspired fluid walls," *Nat. Nanotechnol.*, 2011.
- [133] J. D. Uram, K. Ke, A. J. Hunt, and M. Mayer, "Submicrometer pore-based characterization and quantification of antibody-virus interactions," *Small*, 2006.
- [134] Z. D. Harms *et al.*, "Nanofluidic devices with two pores in series for resistive-

- pulse sensing of single virus capsids," *Anal. Chem.*, 2011.
- [135] K. Fu, D. Han, C. Ma, and P. W. Bohn, "Electrochemistry at single molecule occupancy in nanopore-confined recessed ring-disk electrode arrays," *Faraday Discuss.*, 2016.
- [136] A. J. Storm, J. H. Chen, X. S. Ling, H. W. Zandbergen, and C. Dekker, "Fabrication of solid-state nanopores with single-nanometre precision," *Nat. Mater.*, 2003.
- [137] F. K. Ko and L. Y. Wan, "Nanofiber technology: Bridging the gap between nano and macro world," in *Nanomaterials Handbook, Second Edition*, 2017.
- [138] Y. Zhang, T. L. Chwee, S. Ramakrishna, and Z. M. Huang, "Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2005.
- [139] R. Dersch, M. Steinhart, U. Boudriot, A. Greiner, and J. H. Wendorff, "Nanoprocessing of polymers: Applications in medicine, sensors, catalysis, photonics," *Polym. Adv. Technol.*, 2005.
- [140] T. Subbiah *et al.*, "Electrospinning of nanofibers," *J. Appl. Polym. Sci.*, 2005.
- [141] S. Shamnugasundaram, K. A. Griswold, C. J. Prestigiacomo, T. Arinzeh, and M. Jaffe, "Applications of electrospinning: Tissue engineering scaffolds and drug delivery system," *Proc. Ieee 30th Annu. Northeast Bioeng. Conf.*, 2004.
- [142] Ö. Tarhan, V. Gökmen, and Ş. Harsa, "Nanoteknolojinin Gıda Bilim ve Teknolojisi Alanındaki Uygulamaları," *Gıda*, 35, 3, 219–225, 2010.
- [143] T.-C. Lim, W.-E. Teo, K. Fujihara, Z. Ma, and S. Ramakrishna, *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*. Singapore: World Scientific, 2005.
- [144] H. Yan, S. H. Park, G. Finkelstein, J. H. Reif, and T. H. LaBean, "DNA-templated self-assembly of protein arrays and highly conductive nanowires," *Science (80-.)*, 301, 5641, 1882–1884, 2003.
- [145] A. Kumar and M. Dek, "Nanofiber Reinforced Composite Polymer Electrolyte Membranes," in *Nanofibers*, 2012.
- [146] L. Feng *et al.*, "Super-hydrophobic surface of aligned polyacrylonitrile nanofibers," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, 2002.
- [147] T. Ondarçuhu and C. Joachim, "Drawing a single nanofibre over hundreds of microns," *Europhys. Lett.*, 1998.
- [148] A. Kumru, "Elektroüretimle Nanolif Eldesine Etki Eden Faktörlerin ve Jelatin-Pektin İçeren Nanoliflerin Model Gıdaların Reolojik Özelliklerine Etkilerinin İncelenmesi," İstanbul Teknik Üniversitesi, 2013.
- [149] A. L. Andradý, *Science and Technology of Polymer Nanofibers*. 2007.
- [150] D. Li and Y. Xia, "Direct fabrication of composite and ceramic hollow nanofibers by electrospinning," *Nano Lett.*, 2004.
- [151] G. S. Kozanoğlu, "Elektrospinning yöntemiyle nanolif üretim teknolojisi," İstanbul Teknik Üniversitesi, 2006.
- [152] M. Mohammadian and A. K. Haghi, "Systematic parameter study for nano-

- fiber fabrication via electrospinning process," *Bulg. Chem. Commun.*, 2014.
- [153] P. K. Çiçek, "Elektrodöndürme Tekniği İle Üretilen Kurkumin Yüklü Gliadin Nanoliflerinin Üretimi Ve Karakterizasyonu," Yıldız Teknik Üniversitesi, 2016.
- [154] A. Suthat and G. Chase, "Nanofibres in filter media," *Chem. Eng.*, 2001.
- [155] D. Chen, R. Wang, W. W. Tjiu, and T. Liu, "High performance polyimide composite films prepared by homogeneity reinforcement of electrospun nanofibers," *Compos. Sci. Technol.*, 2011.
- [156] D. H. Reneker, A. L. Yarin, H. Fong, and S. Koombhongse, "Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning," *J. Appl. Phys.*, 2000.
- [157] A. L. Yarin, S. Koombhongse, and D. H. Reneker, "Bending instability in electrospinning of nanofibers," *J. Appl. Phys.*, 2001.
- [158] F. Yang, R. Murugan, S. Wang, and S. Ramakrishna, "Electrospinning of nano/micro scale poly(l-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering," *Biomaterials*, 2005.
- [159] L. Larrondo and R. St. John Manley, "Electrostatic fiber spinning from polymer melts. III. Electrostatic deformation of a pendant drop of polymer melt," *J. Polym. Sci. Polym. Phys. Ed.*, 1981.
- [160] J. M. Deitzel, J. Kleinmeyer, D. Harris, and N. C. Beck Tan, "The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles," *Polymer (Guildf.)*, 2001.
- [161] S. Sukigara, M. Gandhi, J. Ayutsede, M. Micklus, and F. Ko, "Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning - Part 1: Processing parameters and geometric properties," *Polymer (Guildf.)*, 2003.
- [162] C. S. Ki, D. H. Baek, K. D. Gang, K. H. Lee, I. C. Um, and Y. H. Park, "Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution," *Polymer (Guildf.)*, 2005.
- [163] P. D. Dalton, K. Klinkhammer, J. Salber, D. Klee, and M. Möller, "Direct in vitro electrospinning with polymer melts," *Biomacromolecules*, 2006.
- [164] A. K. Haghi and M. Akbari, "Trends in electrospinning of natural nanofibers," in *Physica Status Solidi (A) Applications and Materials Science*, 2007.
- [165] P. Gupta, C. Elkins, T. E. Long, and G. L. Wilkes, "Electrospinning of linear homopolymers of poly(methyl methacrylate): Exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent," *Polymer (Guildf.)*, 2005.
- [166] M. M. Hohman, M. Shin, G. Rutledge, and M. P. Brenner, "Electrospinning and electrically forced jets. II. Applications," *Phys. Fluids*, 13, 8, 2221–2236, 2001.
- [167] G. Coşkun Üstündağ and E. Karaca, "Production of Electrospun Nanofibrous Mat Containing Alginate and Providing of Water Resistance With Crosslinking," *J. Text. Eng.*, 75, 1–10, 2016.

- [168] X. Zong, K. Kim, D. Fang, S. Ran, B. S. Hsiao, and B. Chu, "Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes," *Polymer (Guildf)*, 43, 4403–4412, 2002.
- [169] K. J. Pawlowski, C. P. Barnes, E. D. Boland, G. E. Wnek, and G. L. Bowlin, "Biomedical Nanoscience: Electrospinning Basic Concepts, Applications, and Classroom Demonstration," *MRS Proc.*, 2004.
- [170] S. Zarkoob, R. K. Eby, D. H. Reneker, S. D. Hudson, D. Ertley, and W. W. Adams, "Structure and morphology of electrospun silk nanofibers," in *Polymer*, 2004.
- [171] X. Geng, O. H. Kwon, and J. Jang, "Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution," *Biomaterials*, 2005.
- [172] C. L. Casper, J. S. Stephens, N. G. Tassi, D. B. Chase, and J. F. Rabolt, "Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: Effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process," *Macromolecules*, 2004.
- [173] B. Ding *et al.*, "Preparation and characterization of a nanoscale poly(vinyl alcohol) fiber aggregate produced by an electrospinning method," *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, 2002.
- [174] E. Chiellini, A. Corti, S. D'Antone, and R. Solaro, "Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials," *Progress in Polymer Science (Oxford)*. 2003.
- [175] C. C. DeMerlis and D. R. Schoneker, "Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA)," *Food and Chemical Toxicology*. 2003.
- [176] A. Koski, K. Yim, and S. Shivkumar, "Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning," *Mater. Lett.*, 2004.
- [177] C. Özder, "Titanyum Dioksitin Polivinil Alkol (PVA) Esaslı Biyobozunur Kompozit Filmlerin Uv-Yaşlanma Üzerine Etkisi," Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, 2016.
- [178] S. Safi, M. Morshed, S. A. Hosseini Ravandi, and M. Ghiaci, "Study of electrospinning of sodium alginate, blended solutions of sodium alginate/poly(vinyl alcohol) and sodium alginate/poly(ethylene oxide)," *J. Appl. Polym. Sci.*, 2007.
- [179] M. Ham, J. C. Kim, and J. H. Chang, "Thermal property, morphology, optical transparency, and gas permeability of PVA/SPT nanocomposite films and equi-biaxial stretching films," *Polym.*, 2013.
- [180] V. I. Lozinsky and F. M. Plieva, "Poly(vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. 3. Overview of recent research and developments," *Enzyme and Microbial Technology*. 1998.
- [181] M. Mitrus, A. Wojtowicz, and L. Moscicki, "Biodegradable polymers and their practical utility," in *Thermoplastic Starch: A Green Material for Various Industries*, L. Janssen and L. Moscicki, Eds. John Wiley & Sons, 2009, 1–29.
- [182] J. Bonilla, E. Fortunati, M. Vargas, A. Chiralt, and J. M. Kenny, "Effects of Chitosan on the Physicochemical and Antimicrobial Properties of PLA

- Films," *J. Food Eng.*, 119, 2, 236–243, 2013.
- [183] K. H. Lee *et al.*, "A Study on the PVAc/FeSO₄ Composite Nanofiber via Electrospinning," *Sen'i Gakkaishi*, 64, 306–311, 2008.
- [184] J. Rydz, W. Sikorska, M. Kyulavska, and D. Christova, "Polyester-based (bio)degradable polymers as environmentally friendly materials for sustainable development," *Int. J. Molecular Sci.*, 16, 564–596, 2015.
- [185] M. Alazab, G. R. Mitchell, F. J. Davis, and S. D. Mohan, "Sustainable Electrospinning of Nanoscale Fibres," *Procedia Manuf.*, 2017.
- [186] N. Okutan, "Elektrodöndürme yöntemiyle elde edilen jelatin nanoliflerinin emülsiyonlarda stabilize edici olarak kullanılması," İstanbul Teknik Üniversitesi, 2013.
- [187] J. Zeng, H. Hou, J. H. Wendorff, and A. Greiner, "Electrospun poly(vinyl alcohol)/poly(acrylic acid) fibres with excellent water-stability," *E-Polymers*, 2004.
- [188] A. Musetti, K. Paderni, P. Fabbri, A. Pulvirenti, M. Al-Moghazy, and P. Fava, "Poly(vinyl alcohol)-based film potentially suitable for antimicrobial packaging applications," *J. Food Sci.*, 79, 4, 577–582, 2014.
- [189] K. K. Gaikwad, J. Y. Lee, and Y. S. Lee, "Development of polyvinyl alcohol and apple pomace bio-composite film with antioxidant properties for active food packaging application," *J. Food Sci. Technol.*, 53, 3, 1608–1619, 2016.
- [190] K. Leja and G. Lewandowicz, "Polymer biodegradation and biodegradable polymers: a review," *Polish J. Environ. Stud.*, 19, 2, 255–266, 2010.
- [191] C. Birck, S. Degoutin, N. Tabary, V. Miri, and M. Bacquet, "New crosslinked cast films based on poly(vinyl alcohol): Preparation and physico-chemical properties," *Express Polym. Lett.*, 2014.
- [192] A. A. Olkhov, S. V. Vlasov, A. L. Iordanskii, G. E. Zaikov, and V. M. M. Lobo, "Water transport, structure features and mechanical behavior of biodegradable PHB/PVA blends," *J. Appl. Polym. Sci.*, 90, 1471–1476, 2003.
- [193] J.-C. Park *et al.*, "Electrospun poly(vinyl alcohol) nanofibers: effects of degree of hydrolysis and enhanced water stability," *Polym. J.*, 2010.
- [194] M. G. McKee, G. L. Wilkes, R. H. Colby, and T. E. Long, "Correlations of Solution Rheology with Electrospun Fiber Formation of Linear and Branched Polyesters," *Macromolecules*, 2004.
- [195] E. Fortunati, D. Puglia, F. Luzi, C. Santulli, J. M. Kenny, and L. Torre, "Binary PVA bio-nanocomposites containing cellulose nanocrystals extracted from different natural sources: Part I," *Carbohydr. Polym.*, 2013.
- [196] A. Sadeghnejad, A. Aroujalian, A. Raisi, and S. Fazel, "Antibacterial nano silver coating on the surface of polyethylene films using corona discharge," *Surf. Coatings Technol.*, 2014.
- [197] K. H. Hong, J. L. Park, I. N. Hwan Sul, J. H. Youk, and T. J. Kang, "Preparation of antimicrobial poly(vinyl alcohol) nanofibers containing silver nanoparticles," *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, 2006.

- [198] P. Gahlawat, C. Sen, and M. Das, "Effect of Molecular Weight of Polyvinyl Alcohol on Properties of Starch Film Cross-linked with Glutaraldehyde," *J. Agric. Eng. Food Technol.* 2350-0263, 2, 1, 12–16, 2015.
- [199] N. Limpan, T. Prodpran, S. Benjakul, and S. Prasarpran, "Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly(vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films," *Food Hydrocoll.*, 2012.
- [200] Z. H. Mbhele, M. G. Salemane, C. G. C. E. Van Sittert, J. M. Nedeljkovic, and A. S. Luyt, "Fabrication and Characterization of Silver-Polyvinyl Alcohol Nanocomposites," *Chem. Mater.*, 2003.
- [201] A. N. Krklješ, M. T. Marinović-Cincović, Z. M. Kačarević-Popović, and J. M. Nedeljković, "Dynamic thermogravimetric degradation of gamma radiolytically synthesized Ag-PVA nanocomposites," *Thermochim. Acta*, 2007.
- [202] E. Fortunati *et al.*, "Ternary PVA nanocomposites containing cellulose nanocrystals from different sources and silver particles: Part II," *Carbohydr. Polym.*, 2013.
- [203] F. Huma, M. Jaffar, and K. Masud, "A modified potentiometric method for the estimation of phenol in aqueous systems," *Turkish J. Chem.*, 1999.
- [204] G. G. Hawley and R. J. Lewis, *Hawley's Condensed Chemical Dictionary 15th Edition*. New York: John Wiley & Sons, 2007.
- [205] R. G. Berger and H. Zorn, "Flavors and Fragrances," in *Advances in Fungal Biotechnology for Industry, Agriculture, and Medicine*, 2011.
- [206] S. H. Yalkowsky, Y. He, and P. Jain, *Handbook of Aqueous Solubility Data-Second Edition*. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2010.
- [207] G. Haeseler *et al.*, "Voltage-dependent block of neuronal and skeletal muscle sodium channels by thymol and menthol," *Eur. J. Anaesthesiol.*, 19, 8, 571–579, 2002.
- [208] R. S. Gokturk *et al.*, "Essential Oil Compositions and Bioactivities of Thymus revolutus and Cyclotrichium organifolium," *J. Essent. Oil-Bearing Plants*, 2013.
- [209] C. F. Bagamboula, M. Uyttendaele, and J. Debevere, "Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards Shigella sonnei and S. flexneri," *Food Microbiol.*, 2004.
- [210] B. S. M. Mahmoud, K. Yamazaki, K. Miyashita, S. Il-Shik, C. Dong-Suk, and T. Suzuki, "Bacterial microflora of carp (Cyprinus carpio) and its shelf-life extension by essential oil compounds," *Food Microbiol.*, 2004.
- [211] M. Sari *et al.*, "Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian Origanum glandulosum Desf," *Flavour Fragr. J.*, 2006.
- [212] V. K. Juneja, M. L. Bari, Y. Inatsu, S. Kawamoto, and M. Friedman, "Control of Clostridium perfringens spores by green tea leaf extracts during cooling of cooked ground beef, chicken, and pork," *J Food Prot*, 2007.

- [213] P. Tippayatum and V. Chonhenchob, "Antibacterial effect of essential oil compounds and nisin to food spoilage bacteria," *Proc. 45th Kasetsart Univ. Annu. Conf. Kasetsart, 30-January - 2 February, 2007. Subj. Agric. Ext. Home Econ.*, 2007.
- [214] S. Kordali, A. Cakir, H. Ozer, R. Cakmakci, M. Kesdek, and E. Mete, "Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene," *Bioresour. Technol.*, 2008.
- [215] P. Janczyk, P. Trevisi, W. B. Souffrant, and P. Bosi, "Effect of thymol on microbial diversity in the porcine jejunum," *Int. J. Food Microbiol.*, 2008.
- [216] J. Gutierrez, C. Barry-Ryan, and P. Bourke, "The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients," *Int. J. Food Microbiol.*, 2008.
- [217] H. Baydar, O. Sağdıç, G. Özkan, and T. Karadoğan, "Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey," *Food Control*, 2004.
- [218] N. Pyrgotou, V. Giatrakou, A. Ntzimani, and I. N. Savvaidis, "Quality assessment of salted, modified atmosphere packaged rainbow trout under treatment with oregano essential oil," *J. Food Sci.*, 2010.
- [219] L. Cao *et al.*, "Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* Maxim," *Food Chem.*, 2009.
- [220] R. A. Holley and D. Patel, "Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials," *Food Microbiol.*, 22, 273-292, 2005.
- [221] C. F. Bagamboula, M. Uyttendaele, and J. Debevere, "Antimicrobial effect of spices and herbs on *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*," *Journal of Food Protection*. 2003.
- [222] R. Belaqqiz, F. Bahri, A. Romane, S. Antoniotti, X. Fernandez, and E. Duñach, "Essential oil composition and antibacterial activity of the different parts of *thymus maroccanus* ball: An endemic species in morocco," *Nat. Prod. Res.*, 2013.
- [223] L. L. Zaika, "Spices And Herbs: Their Antimicrobial Activity And Its Determination," *J. Food Saf.*, 1988.
- [224] P. Lai and J. Roy, "Antimicrobial and Chemopreventive Properties of Herbs and Spices," *Curr. Med. Chem.*, 2004.
- [225] O. Sağdıç, A. Kuşçu, M. Özcan, and S. Özçelik, "Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7," *Food Microbiol.*, 19, 5, 473-480, 2002.
- [226] W. L. Wendorff, W. E. Riha, and E. Muehlenkamp, "Growth of Molds on Cheese Treated with Heat or Liquid Smoke," *J. Food Prot.*, 1993.
- [227] W. L. Wendorff and C. Wee, "Effect of smoke and spice oils on growth of molds on oil-coated cheeses," *J. Food Prot.*, 1997.

- [228] I. Rasooli, M. B. Rezaei, and A. Allameh, "Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*," *Food Control*, 2006.
- [229] A. López-Malo, J. Barreto-Valdivieso, E. Palou, and F. S. Martín, "Aspergillus flavus growth response to cinnamon extract and sodium benzoate mixtures," *Food Control*, 2007.
- [230] H. Gandomi *et al.*, "Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* in culture media and cheese," *Food Chem. Toxicol.*, 2009.
- [231] R. Kumar, A. K. Mishra, N. K. Dubey, and Y. B. Tripathi, "Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity," *Int. J. Food Microbiol.*, 2007.
- [232] I. Rasooli, M. H. Fakoor, D. Yadegarinia, L. Gachkar, A. Allameh, and M. B. Rezaei, "Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils," *Int. J. Food Microbiol.*, 2008.
- [233] T. Gumus, "Determination of the changes of antifungal properties of *Satureja hortensis*, *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* exposed to gamma irradiation," *Radiat. Phys. Chem.*, 2010.
- [234] R. S. Farag, Z. Y. Daw, and S. H. Abo-Raya, "Influence of Some Spice Essential Oils on *Aspergillus Parasiticus* Growth and Production of Aflatoxins in a Synthetic Medium," *J. Food Sci.*, 1989.
- [235] B. Ouattara, R. E. Simard, G. Piette, A. Bégin, and R. A. Holley, "Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films," *J. Food Sci.*, 2000.
- [236] I. Karabagias, A. Badeka, and M. G. Kontominas, "Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging," *Meat Sci.*, 2011.
- [237] K. R. Badr, Z. S. Ahmed, and M. S. El Gamal, "Evaluation of the antimicrobial action of whey protein edible films incorporated with cinnamon, cumin and thyme against spoilage flora of fresh beef," *Int. J. Agric. Res.*, 2014.
- [238] F. Donsì, M. Annunziata, M. Sessa, and G. Ferrari, "Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods," *LWT - Food Sci. Technol.*, 2011.
- [239] C. L. del Toro-Sánchez *et al.*, "Controlled release of antifungal volatiles of thyme essential oil from β -cyclodextrin capsules," *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 2010.
- [240] J. F. Ayala-Zavala, H. Soto-Valdez, A. González-León, E. Álvarez-Parrilla, O. Martín-Belloso, and G. A. González-Aguilar, "Microencapsulation of cinnamon leaf (*Cinnamomum zeylanicum*) and garlic (*Allium sativum*) oils in β -cyclodextrin," *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 2008.
- [241] J. J. Ma *et al.*, "Effect of spray drying and freeze drying on the immunomodulatory activity, bitter taste and hygroscopicity of hydrolysate derived from whey protein concentrate," *LWT - Food Sci. Technol.*, 2014.

- [242] A. Mohan, S. R. C. K. Rajendran, Q. S. He, L. Bazinet, and C. C. Udenigwe, "Encapsulation of food protein hydrolysates and peptides: A review," *RSC Advances*. 2015.
- [243] I. Bodnár, A. C. Alting, and M. Verschueren, "Structural effects on the permeability of whey protein films in an aqueous environment," *Food Hydrocoll.*, 2007.
- [244] J. E. Kinsella, "Milk proteins: Physicochemical and functional properties," *C R C Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1984.
- [245] O. L. Ramos *et al.*, "Features and performance of edible films, obtained from whey protein isolate formulated with antimicrobial compounds," *Food Res. Int.*, 2012.
- [246] Y. D. Livney, "Milk proteins as vehicles for bioactives," *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 2010.
- [247] C. Wandrey, A. Bartkowiak, and S. E. Harding, "Materials for encapsulation," in *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, 2010.
- [248] T. A. Comunian and C. S. Favaro-Trindade, "Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review," *Food Hydrocolloids*. 2016.
- [249] M. Vargas, C. Pastor, A. Chiralt, D. J. McClements, and C. González-Martínez, "Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2008.
- [250] G. Mensitieri *et al.*, "Processing and shelf life issues of selected food packaging materials and structures from renewable resources," *Trends in Food Science and Technology*. 2011.
- [251] Ó. L. Ramos, J. C. Fernandes, S. I. Silva, M. E. Pintado, and F. X. Malcata, "Edible Films and Coatings from Whey Proteins: A Review on Formulation, and on Mechanical and Bioactive Properties," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2012.
- [252] L. G. Santiago and G. R. Castro, "Novel technologies for the encapsulation of bioactive food compounds," *Current Opinion in Food Science*. 2016.
- [253] S. Popović, D. Peričin, Ž. Vaštag, V. Lazić, and L. Popović, "Pumpkin oil cake protein isolate films as potential gas barrier coating," *J. Food Eng.*, 2012.
- [254] Y. Wang, Y. L. Xiong, G. K. Rentfrow, and M. C. Newman, "Oxidation promotes cross-linking but impairs film-forming properties of whey proteins," *J. Food Eng.*, 2013.
- [255] A. Can Karaca, N. H. Low, and M. T. Nickerson, "Potential use of plant proteins in the microencapsulation of lipophilic materials in foods," *Trends in Food Science and Technology*. 2015.
- [256] G. M. Tavares, T. Croguennec, A. F. Carvalho, and S. Bouhallab, "Milk proteins as encapsulation devices and delivery vehicles: Applications and trends," *Trends Food Sci. Technol.*, 2014.

- [257] L. G. Gómez-Mascaraque and A. López-Rubio, "Protein-based emulsion electrosprayed micro- and submicroparticles for the encapsulation and stabilization of thermosensitive hydrophobic bioactives," *J. Colloid Interface Sci.*, 2016.
- [258] A. K. Santhanam, M. Lekshmi, M. K. Chouksey, G. Tripathi, and V. Gudipati, "Delivery of Omega-3 Fatty Acids into Cake Through Emulsification of Fish Oil-in-Milk and Encapsulation by Spray Drying with Added Polymers," *Dry. Technol.*, 2015.
- [259] G. Gallardo *et al.*, "Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application," *Food Res. Int.*, 2013.
- [260] L. G. Gomez-Mascaraque, R. C. Morfin, R. Pérez-Masiá, G. Sanchez, and A. Lopez-Rubio, "Optimization of electrospraying conditions for the microencapsulation of probiotics and evaluation of their resistance during storage and in-vitro digestion," *LWT - Food Sci. Technol.*, 2016.
- [261] A. López-Rubio and J. M. Lagaron, "Whey protein capsules obtained through electrospraying for the encapsulation of bioactives," *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2012.
- [262] A. López-Rubio, E. Sanchez, S. Wilkanowicz, Y. Sanz, and J. M. Lagaron, "Electrospinning as a useful technique for the encapsulation of living bifidobacteria in food hydrocolloids," *Food Hydrocoll.*, 2012.
- [263] G. K. Gbassi, T. Vandamme, S. Ennahar, and E. Marchioni, "Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* spp in an alginate matrix coated with whey proteins," *Int. J. Food Microbiol.*, 2009.
- [264] T. Huq, A. Khan, R. A. Khan, B. Riedl, and M. Lacroix, "Encapsulation of Probiotic Bacteria in Biopolymeric System," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2013.
- [265] G. F. Mehyar, K. M. Al-Isamil, H. M. Al-Ghizzawi, and R. A. Holley, "Stability of Cardamom (*Elettaria Cardamomum*) Essential Oil in Microcapsules Made of Whey Protein Isolate, Guar Gum, and Carrageenan," *J. Food Sci.*, 2014.
- [266] R. Pérez-Masiá, J. M. Lagaron, and A. Lopez-Rubio, "Morphology and Stability of Edible Lycopene-Containing Micro- and Nanocapsules Produced Through Electrospraying and Spray Drying," *Food Bioprocess Technol.*, 2015.
- [267] M. Villamiel, M. A. I. Schutyser, and P. de Jong, "Novel Methods of Milk Processing," in *Milk Processing and Quality Management*, A. Y. Tamime, Ed. Blackwell, 2009.
- [268] S. Y. Lee and H. H. Jin, "Inhibitory activity of natural antimicrobial compounds alone or in combination with nisin against *Enterobacter sakazakii*," *Lett. Appl. Microbiol.*, 2008.
- [269] M. Şengül, T. Erkaya, and N. Fırat, "Çiğ ve Pastörize Sütten Üretilen Kaşar Peynirlerinin Olgunlaşma Süresince Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması," *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Derg.*, 41, 2, 149–156, 2011.
- [270] V. D. Çağla Örmeci Kart, "Dünyada ve Türkiye ' de Süt ve Süt Ürünleri Üretimi , Tüketimi ve Ticaretindeki Gelişmeler," *Akad. Gıda*, 12, 1, 78–96, 2014.

- [271] P. F. Fox and P. L. H. McSweeney, "Cheese: An Overview," in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan, and T. P. Guinee, Eds. London: Elsevier, 2004, 1–18.
- [272] I. Bakirci, "A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey," *Food Control*, 2001.
- [273] A. H. Dinçoğlu, Z. Gönülalan, and F. Kök, "İzmit Bölgesinde Satışa Sunulan Peynirlerdeki Aflatoksin M1 Düzeylerinin Elisa Yöntemiyle Tespiti," *J. New World Sci. Acad.*, 7, 1, 1–6, 2012.
- [274] O. C. Tekinşen, *Süt Ürünleri Teknolojisi*. Konya: Selçuk Üniversitesi Basımevi, 2000.
- [275] H. Türe, E. Eroğlu, B. Ozen, and F. Soyer, "Effect of biopolymers containing natamycin against *Aspergillus niger* and *Penicillium roquefortii* on fresh kashar cheese," *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2011.
- [276] K. Hisada, H. Terada, K. Yamamoto, H. Tsubouchi, and Y. Sakabe, "Reverse phase liquid chromatographic determination and confirmation of aflatoxin M1 in cheese," *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1984.
- [277] H. H. Oruc and S. Sonal, "Determination of aflatoxin M1 levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey," *Vet Hum Toxicol*, 2001.
- [278] H. Aycicek, E. Yarsan, B. Sarimehmetoglu, and O. Cakmak, "Aflatoxin M1 in white cheese and butter consumed in Istanbul, Turkey," *Vet Hum Toxicol*, 2002.
- [279] T. Yaroglu, H. H. Oruc, and M. Tayar, "Aflatoxin M1 levels in cheese samples from some provinces of Turkey," *Food Control*, 2005.
- [280] M. A. Atasever, G. Adıgüzel, M. Atasever, H. Özlü, and K. Özturan, "Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Erzurum-Turkey," *J. Fac. Vet. Med. Univ.*, 16, 119–122, 2010.
- [281] K. K. Tekinşen and H. S. Eken, "Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey," *Food Chem. Toxicol.*, 2008.
- [282] A. D. Karaman and N. Akbulut, "Kaşar Peynirinin Raf Ömrünün Arttırılması Üzerine Bir Araştırma," in *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 2006.
- [283] I. Var, Z. Erginkaya, M. Güven, and B. Kabak, "Effects of antifungal agent and packaging material on microflora of Kashar cheese during storage period," *Food Control*, 2006.
- [284] G. Sarıkuş, "Farklı Antimikrobiyal Maddeler İçeren Yenilebilir Film Üretimi Ve Kaşar Peynirinin Muhafazasında Mikrobiyal İnaktivasyona Etkisi," Süleyman Demirel Üniversitesi, 2006.
- [285] C. Ozdemir and M. Demirci, "Selected microbiological properties of kashar cheese samples preserved with potassium sorbate," *Int. J. Food Prop.*, 2006.
- [286] F. Çetinkaya and G. Ece Soyutemiz, "Microbiological and chemical changes throughout the manufacture and ripening of Kashar: A traditional Turkish cheese," *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 2006.
- [287] T. Sarıoğlu and Z. Öner, "Yenilebilir filmlerin kaşar peynirinin

- kaplanmasında kullanılma olanakları ve peynir kalitesi üzerine etkileri," *Gıda Derg.*, 31, 1, 3-10, 2006.
- [288] E. Torlak and M. Nizamoglu, "Doğal Antimikrobiyal Maddeler ile Hazırlanan Yenilebilir Filmlerin *Listeria Monocytogenes* Üzerine Etkileri," *Vet. Bilim Derg.*, 25, 1-2, 15-21, 2009.
- [289] A. Badem, "Rennet Kazeinin Kaşar Peynirinin Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Kalite Niteliklerine Etkisi," Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2015.
- [290] M. A. Cerqueira, "Development and characterization of edible coatings to the preservation of cheese quality," University of Minho, Portuga., 2010.
- [291] P. Bordes, E. Hablot, E. Pollet, and L. Avérous, "Effect of clay organomodifiers on degradation of polyhydroxyalkanoates," *Polym. Degrad. Stab.*, 2009.
- [292] D. Gammariello, A. Conte, G. G. Buonocore, and M. A. Del Nobile, "Bio-based nanocomposite coating to preserve quality of Fior di latte cheese," *J. Dairy Sci.*, 2011.
- [293] B. G. d. S. Medeiros *et al.*, "Physical Characterisation of an Alginate/Lysozyme Nano-Laminate Coating and Its Evaluation on 'Coalho' Cheese Shelf Life," *Food Bioprocess Technol.*, 2014.
- [294] J. Lacey, "Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products," *J. Appl. Bacteriol.*, 1989.
- [295] M. J. Sweeney and A. D. W. Dobson, "Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species," *International Journal of Food Microbiology*. 1998.
- [296] Y. Ito, S. W. Peterson, D. T. Wicklow, and T. Goto, "*Aspergillus pseudotamarii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section *flavi*," *Mycol. Res.*, 2001.
- [297] J. C. Frisvad, P. Skouboe, and R. A. Samson, "Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B₁, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp. nov.," *Syst. Appl. Microbiol.*, 2005.
- [298] G. S. Shephard, "Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2009.
- [299] Ö. İşleyici, Y. Can, and S. Fatih, "Divle Tulum Peynirinde Aflatoksin M 1 Düzeyi Üzerine Bir Araştırma A Study on the Level of Aflatoxin M 1 in Divle Tulum Cheese," *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet. Fak. Derg.*, 22, 2, 105-110, 2011.
- [300] D. Leontopoulos, A. Siafaka, and P. Markaki, "Black olives as substrate for *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin B₁ production," *Food Microbiol.*, 2003.
- [301] R. G. Hendrickse, "Clinical implications of food contaminated by aflatoxins," *Annals of the Academy of Medicine Singapore*. 1991.

- [302] R. B. Hayes, J. P. van Nieuwenhuize, J. W. Raatgever, and F. J. W. Ten Kate, "Aflatoxin exposures in the industrial setting: An epidemiological study of mortality," *Food Chem. Toxicol.*, 1984.
- [303] I. Dvorackova, *Aflatoxins & Human Health*. CRC Press, 2018.
- [304] J. W. Dorner, R. J. Cole, and U. L. Diener, "The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid," *Mycopathologia*, 1984.
- [305] C. Munimbazi and L. B. Bullerman, "Molds and Mycotoxins in Foods from Burundi," *J. Food Prot.*, 1996.
- [306] A. C. Sales and T. Yoshizawa, "Mold counts and *Aspergillus* section *Flavi* populations in rice and its by-products from the Philippines," *J Food Prot*, 2005.
- [307] J.-G. Kim and Y.-W. Lee, "Grain Development and Aflatoxin B 1 Accumulation in Preharvest Rice Inoculated with *Aspergillus parasiticus*," *J. Food Prot.*, 2016.
- [308] B. Sarimehmetoglu, O. Kuplulu, and T. Haluk Celik, "Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA," *Food Control*, 2004.
- [309] K. Yapar, M. Elmalı, A. Kart, and H. Yaman, "Aflatoxin M1 levels in different type of cheese products produced in Turkey.," *Med. Weter.*, 2008.
- [310] I. Rasooli and M. R. Abyaneh, "Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*," *Food Control*, 2004.
- [311] A. Allameh, M. R. Abyaneh, M. R. Shams, M. B. Rezaee, and K. Jaimand, "Effects of neem leaf extract on production of aflatoxins and activities of fatty acid synthetase, isocitrate dehydrogenase and glutathione S-transferase in *Aspergillus parasiticus*," *Mycopathologia*, 2002.
- [312] D. Bhatnagar and S. P. McCormick, "The inhibitory effect of neem (*Azadirachta indica*) leaf extracts on aflatoxin synthesis in *Aspergillus parasiticus*," *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1988.
- [313] M. Namazi, A. Allameh, M. Aminshahidi, A. Nohee, and F. Malekzadeh, "Inhibitory effects of ammonia solution on growth and aflatoxins production by *Aspergillus parasiticus* NRRL-2999," *Acta Pol. Toxicol.*, 2002.
- [314] Z. Ceylan, G. F. Unal Sengor, and M. T. Yilmaz, "Nanoencapsulation of liquid smoke/thymol combination in chitosan nanofibers to delay microbiological spoilage of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets," *J. Food Eng.*, 2018.
- [315] C. Munimbazi and L. B. Bullerman, "Inhibition of aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 by *Bacillus pumilus*," *Mycopathologia*, 1997.
- [316] K. Y. Park and L. B. Bullerman, "Effects of substrate and temperature on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*," *J. Food Prot.*, 1983.
- [317] O. O. Atanda, I. Akpan, and F. Oluwafemi, "The potential of some spice essential oils in the control of *A. parasiticus* CFR 223 and aflatoxin

- production," *Food Control*, 18, 5, 601–607, 2007.
- [318] Z. Jahanshiri, M. Shams-Ghahfarokhi, a Allameh, and M. Razzaghi-Abyaneh, "Effect of Curcumin on *Aspergillus parasiticus* Growth and Expression of Major Genes Involved in the Early and Late Stages of Aflatoxin Biosynthesis.," *Iran. J. Public Health*, 2012.
- [319] D. P. Thompson, "Fungitoxic Activity of Essential Oil Components on Food Storage Fungi," *Mycologia*, 81, 1, 151–153, 1989.
- [320] Y. İkiz, "Elektro Çekim Yöntemi İşlem Parametrelerinin PVA Nanolif Morfolojisine Etkileri Effect of Process Parameters on Morphology of Electrospun PVA Nanofibers," *Pamukkale Univ. J. Eng. Sci.*, 15, 3, 363–369, 2009.
- [321] M. Balden, C. Adelhelm, and M. Sikora, "Thermal stability and nano-structure of metal-doped carbon layers," *J. Nucl. Mater.*, 2007.
- [322] M. Genç, M. Zorba, and G. Ova, "Determination of rheological properties of boza by using physical and sensory analysis," *J. Food Eng.*, 2002.
- [323] K. Sun and Z. H. Li, "Preparations, properties and applications of chitosan based nanofibers fabricated by electrospinning," *Express Polym. Lett.*, 2011.
- [324] R. Rošić, P. Kocbek, S. Baumgartner, and J. Kristl, "Electro-spun hydroxyethyl cellulose nanofibers: The relationship between structure and process," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 2011.
- [325] W. K. Son, J. H. Youk, T. S. Lee, and W. H. Park, "The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers," *Polymer (Guildf)*, 2004.
- [326] E. a El-hefian and A. H. Yahaya, "Rheological study of chitosan and its blends: An overview," *Maejo Int. J. Sci. Technol.*, 2010.
- [327] E. Bouyer, G. Mekhloufi, V. Rosilio, J. L. Grossiord, and F. Agnely, "Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field?," *International Journal of Pharmaceutics*. 2012.
- [328] S. Srinivasan, S. A. Barbhuiya, D. Charan, and S. P. Pandey, "Characterising cement-superplasticiser interaction using zeta potential measurements," *Constr. Build. Mater.*, 2010.
- [329] E. Keowmaneechai and D. J. McClements, "Influence of EDTA and citrate on physicochemical properties of whey protein-stabilized oil-in-water emulsions containing CaCl₂," *J. Agric. Food Chem.*, 2002.
- [330] S. Jiang *et al.*, "Effect of heat treatment on physicochemical and emulsifying properties of polymerized whey protein concentrate and polymerized whey protein isolate," *LWT*, 2018.
- [331] E. F. de la Cruz, Y. Zheng, E. Torres, W. Li, W. Song, and K. Burugapalli, "Zeta potential of modified multi-walled carbon nanotubes in presence of poly (vinyl alcohol) hydrogel," *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2012.
- [332] - Chotimah, A. Rianjanu, B. Winardianto, M. Munir, I. Kartini, and K. Triyana,

- "Electrical Conductivity Improvement of Polyvinyl Alcohol Nanofiber by Solvent Vapour Treatment," *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol.*, 2016.
- [333] N. Shehata, N. Madi, M. Al-Maadeed, I. Hassounah, and A. Ashraf, "Improved electrical conductivity of carbon/polyvinyl alcohol electrospun nanofibers," *J. Nanomater.*, 2015.
- [334] M. Raei, A. Rafe, and F. Shahidi, "Rheological and structural characteristics of whey protein-pectin complex coacervates," *J. Food Eng.*, 2018.
- [335] S. Shilpi, V. D. Vimal, and V. Soni, "Assessment of lactoferrin-conjugated solid lipid nanoparticles for efficient targeting to the lung," *Prog. Biomater.*, 2015.
- [336] L. Monfregola, M. Leone, V. Vittoria, P. Amodeo, and S. De Luca, "Chemical modification of pectin: Environmental friendly process for new potential material development," *Polym. Chem.*, 2011.
- [337] H. Zaleska, S. Ring, and P. Tomasik, "Electrosynthesis of potato starch-whey protein isolate complexes," *Carbohydr. Polym.*, 2001.
- [338] C. M. Topala and L. D. Tataru, "ATR-FTIR Study of thyme and rosemary oils extracted by supercritical carbon dioxide," *Rev. Chim.*, 2016.
- [339] A. Rukmani and M. Sundrarajan, "Inclusion of antibacterial agent thymol on β -cyclodextrin-grafted organic cotton," *J. Ind. Text.*, 2012.
- [340] H. Schulz, R. Quilitzsch, and H. Krüger, "Rapid evaluation and quantitative analysis of thyme, origano and chamomile essential oils by ATR-IR and NIR spectroscopy," *J. Mol. Struct.*, 2003.
- [341] A. Rafe and S. M. A. Razavi, "Scaling law, fractal analysis and rheological characteristics of physical gels cross-linked with sodium trimetaphosphate," *Food Hydrocoll.*, 2017.
- [342] M. K. Trivedi, S. Patil, R. K. Mishra, and S. Jana, "Journla of Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research Structural and Physical Properties of Biofield Treated Thymol and Menthol," 3, 2, 2015.
- [343] S. El-Sayed, K. H. Mahmoud, A. A. Fatah, and A. Hassen, "DSC, TGA and dielectric properties of carboxymethyl cellulose/polyvinyl alcohol blends," *Phys. B Condens. Matter*, 2011.
- [344] J. Chandrapala, B. Zisu, M. Palmer, S. Kentish, and M. Ashokkumar, "Effects of ultrasound on the thermal and structural characteristics of proteins in reconstituted whey protein concentrate," *Ultrason. Sonochem.*, 2011.
- [345] S. M. Choi, S. T. Kwok, and C. Y. Ma, "Choi, S.M., Kwok, S.T., & Ma, C.Y," in *Conformational study of SPI treated with ultrasound*, 2009.
- [346] S. M. Fitzsimons, E. R. Morris, and D. M. Mulvihill, "Resolution of the denaturation and aggregation process during whey protein gelation by differential scanning calorimetry," *Irish J. Agric. Food Res.*, 43, 109–146, 2004.
- [347] H. Chen, Y. Zhang, and Q. Zhong, "Physical and antimicrobial properties of spray-dried zein-casein nanocapsules with co-encapsulated eugenol and thymol," *J. Food Eng.*, 2014.

- [348] Y. Wu, Y. Luo, and Q. Wang, "Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid dispersion method," *LWT - Food Sci. Technol.*, 2012.
- [349] N. Parris, P. H. Cooke, R. A. Moreau, and K. B. Hicks, "Encapsulation of essential oils in zein nanospherical particles," in *ACS Symposium Series*, 2008.
- [350] J. L. Duvail, P. Rétho, S. Garreau, G. Louarn, C. Godon, and S. Demoustier-Champagne, "Transport and vibrational properties of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanofibers," *Synth. Met.*, 2002.
- [351] R. L. Buchanan and A. J. Shepherd, "Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by Thymol," *J. Food Sci.*, 1981.
- [352] I. Rasooli and P. Owlia, "Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production," *Phytochemistry*, 2005.
- [353] M. Šegvić Klarić, I. Kosalec, J. Mastelić, E. Piecková, and S. Pepeljak, "Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings," *Lett. Appl. Microbiol.*, 2007.
- [354] M. T. Yilmaz *et al.*, "Electrospraying method for fabrication of essential oil loaded-chitosan nanoparticle delivery systems characterized by molecular, thermal, morphological and antifungal properties," *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2019.
- [355] S. F. Hosseini, M. Zandi, M. Rezaei, and F. Farahmandghavi, "Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study," *Carbohydr. Polym.*, 2013.
- [356] K. Il Jang and G. L. Hyeon, "Stability of chitosan nanoparticles for L-ascorbic acid during heat treatment in aqueous solution," *J. Agric. Food Chem.*, 2008.
- [357] H. Lboutounne, J. F. Chaulet, C. Ploton, F. Falson, and F. Pirot, "Sustained ex vivo skin antiseptic activity of chlorhexidine in poly(ϵ -caprolactone) nanocapsule encapsulated form and as a digluconate," *J. Control. Release*, 2002.

Tezden Üretilmiş Yayınlar

İletişim Bilgisi: nbtatlisu@gelisim.edu.tr / n.b.ersoz@hotmail.com

Makaleler

1. N. B. Tatlısu, M. T. Yılmaz, M. Arıcı. Fabrication and characterization of thymol-loaded nanofiber mats as a novel antifungal surface material for coating cheese surface. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 2019.

