



KEKİK YAĞI İLE HAZIRLANMIŞ BİYOPOLİMER KOMPOZİT FİMLER VE BU FİMLERİN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

¹Ülkü SOYDAL , ²Fadim SÖYLEMEZ GÜNBAĞI 

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Konya, TÜRKİYE
¹usoydal@selcuk.edu.tr, ²soylemezfadim@gmail.com

(Geliş/Received: 24.10.2022; Kabul/Accepted in Revised Form: 03.01.2023)

Önemli Katkıları (Highlights)

- Akrilatlanmış epoksitlenmiş soya yağı, kekik yağı ve nanokil ile nanokompozit filmler elde edilmiştir.
- Biyofilm ve nanokompozitlerin antibakteriyel aktiviteleri belirlenmiştir.
- Su buharı geçirgenlik özellikleri, pH, şişme-çözünürlük-su içeriği incelenmiştir.



KEKİK YAĞI İLE HAZIRLANMIŞ BİYOPOLİMER KOMPOZİT FİLMLER VE BU FİMLERİN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

¹Ülkü SOYDAL , ²Fadim SÖYLEMEZ GÜNBAĞI 

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Konya, TÜRKİYE
¹usoydal@selcuk.edu.tr, ²soylemezfadim@gmail.com

(Geliş/Received: 24.10.2022; Kabul/Accepted in Revised Form: 03.01.2023)

ÖZ: Bu çalışmada, tamamen yenilenebilir ve biyolojik olarak parçalanabilen kompozit filmler üretmek için; akrilatlanmış epoksitlenmiş soya yağı (AESO) polimer matris olarak kullanılmıştır. Bu biyobazlı matris yapıya öncelikle antibakteriyel özelliği kanıtlanmış bir esansiyel yağ olan kekik yağı (KY), farklı oranlarda (kütlece %0, %1, %2, %3, %4, %5) ilave edilmiştir. Elde edilen filmlerin antibakteriyel özellikleri incelenmiş ve en uygun oran belirlenmiştir. Bu oran sabit tutularak çalışmanın ikinci aşamasında farklı oranlarda (kütlece %1, %2, %3, %4, %5) nanokil (NK) ilavesi ile nanokompozit filmler hazırlanmıştır. Elde edilen malzemelerin antibakteriyel aktivite testleri yapılmış, su buharı geçirgenlik özellikleri incelenmiş, ayrıca pH, şişme-çözünürlük-su içeriğine bakılmıştır. Su içerisinde şişme oranı ortalama %0,2437-2,1500 arasında belirlenirken, suda çözünürlük oranı %0,1550-0,3100 aralığında olmuştur. Su sorpsiyonu ise %0,6633-0,8917 aralığında değerler almıştır. 72 saat sonunda pH değerleri 7,23-7,29 aralıklarında ölçülmüş ve bu değer cilt pH'ı ile uyumlu bulunmuştur. Son olarak su buharı geçirgenliği testinde $1381,9-2,1357 \times 10^{-10}$ g.m/(m²*Pa*s) aralığında kaydedilen değerler, filmlerin oldukça düşük bir su buharı geçirgenliğine sahip olduklarını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Kekik Yağı, Antibakteriyel Aktivite, Nanokil, Biyobazlı Film Kompozit

Investigation of the Properties of Biopolymer Composite Films Prepared with Thyme Oil

ABSTRACT: In this study, to produce fully renewable and biodegradable composite films; acrylate epoxidized soybean oil (AESO) was used as the polymer matrix. Thyme oil (TO), an essential oil with proven antibacterial properties, was added to this biobased matrix structure at different rates (0, 1, 2, 3, 4, and 5 wt%). The antibacterial properties of the films obtained were examined and the most suitable ratio was determined. The antibacterial properties of the films were investigated and the most suitable TO ratio was determined. In the second stage of the study, the amount of TO was kept constant and nanocomposite films were obtained by adding nanoclay (NC) at different weight ratios (1, 2, 3, 4, and 5 wt%). The antibacterial activity tests of the obtained materials were carried out, their water vapor permeability properties were examined, and also pH, swelling-solubility-water content were examined. While the swelling ratio in water is determined between 0,2437-2,1500%, the water solubility ratio is between 0,1550-0,3100%. In water content, values were in the range of 0,6633-0,8917%. After 72 hours, pH values were measured between 7,23-7,29 and this value is compatible with skin pH. Finally, the values recorded in the range of $1381,9-2,1357 \times 10^{-10}$ g.m/(m²*Pa*s) in the water vapor permeability test showed that the films had a very low water vapor permeability.

Keywords: Thyme Oil, Antibacterial Activity, Nanoclay, Biobased Film Composite

*Corresponding Author: Ülkü SOYDAL, usoydal@selcuk.edu.tr

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Geleneksel epoksi reçineler, otomobil, havacılık ve gemi yapımında, elektronik cihazlarda, paketlenme ve diğer sektörlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Nanokompozitlerde matris olarak tercih edilen yüksek düzeyde çapraz bağlı epoksi reçinelerin sahip oldukları yüksek sertlik ve mukavemete rağmen kırılma gibi plastik deformasyonu, birçok uygulama için önemli bir malzeme kusuru haline gelebilir [1]. Öte yandan, geleneksel epoksi reçinelerin doğada geri dönüştürülmesi zordur. Biyobozunur olmayan ısıyla sertleşen malzemeler olarak kategorize edildikleri için genellikle atık olma eğilimindedir [2]. Fosil yakıt stoğunun tükenmesi, plastik atıkların artması günümüzde çevresel açıdan sürdürülebilir olmayan sorunlar olarak ciddiye alındığında, petrol bazlı polimerleri mükemmel yenilenebilirlik ve maliyet etkinliğine sahip doğal biyopolimerlerle ikame etmek veya hatta değiştirmek için acil bir talep vardır [3].

Soya fasulyesi yağı (SO), yeni biyoplastikler için yüksek potansiyele sahip hammaddelerden biridir. Modifiye SO, plastik levha kalıplama bileşikleri, kaplamalar ve yapıştırıcılar dahil olmak üzere birçok uygulamada umut verici bir alternatiftir. Epoksitlenmiş soya yağı (ESO) ise düşük maliyetli bir epoksi bileşiktir. Aynı zamanda dahil olduğu kompozitin biyobaz içeriğini artırırken epoksi reçinenin de dayanıklılığını artırmaktadır [4]. ESO'nun bir polimer kompozit yapı içerisinde kullanılması kompozitin fiziksel ve mekanik (çekme mukavemeti, darbe dayanımı, kopmada uzama gibi) özelliklerini iyileştirmektedir [5-7]. Ayrıca çapraz bağlama yoğunluğunun kilit faktörlerden biri olarak hareket etmekte, bu nedenle çok ince bir ESO tabakasıyla bile iyi bir su direnci elde edilebilmektedir [8]. Tanrattanakul ve Saithai'nin 2009'da yaptıkları bir çalışmada akrilatlanmış epoksitlenmiş soya yağı (AESO)'nın ESO'dan daha yüksek mekanik özellikler gösterdiğini kaydetmişlerdir [4]. Bundan başka; nihai kompozitin termal kararlılığının [5, 7, 9-12] ve korozyon direncinin arttığı [5, 13] ve son olarak yapının adezyon özelliğini artırdığı [12] kaydedilmiştir.

Kompozit filmlerin fizikokimyasal özelliklerini iyileştirmek veya değiştirmek için nano boyutlu kil, metal veya metalik oksitler gibi nanolifler, polimer, polimer kombinasyonları, antioksidan/antibakteriyel özellik kazandıran malzemelerin kullanımına yönelik parametreler denenmektedir. Teknolojik gelişmelerle birlikte temizlik konusuna olan bakış açımız ve beklentilerimiz de artmıştır. Özellikle kullanıma sunulan ambalaj gibi materyallerin antibakteriyel özelliği taşıması günümüzde giderek ilgi çekmeye başlamıştır. Tıbbi ve aromatik bitkilerin kök, gövde ve yaprak gibi çeşitli kısımlarından presleme ya da destilasyon gibi yöntemlerle elde edilen esansiyel yağlar (uçucu yağlar) belli oranlarda antibakteriyel özellik taşıyabilmektedir. Bu uçucu yağlar kullanılarak bazı yüzeylerde antibakteriyel yapı oluşturmak mümkündür. Antimikrobiyal etkisi belirlenmiş olan esansiyel yağlardan biri de kekik yağıdır [14].

Polimer nanokompozitler genellikle saf polimerlerden önemli ölçüde farklı olup daha iyi özellikler sergilerler. Polimer nanokompozitlerin özellikleri, dahil edilen nanoparçacıkların şekli, boyutu, konsantrasyonu ve polimer matrisi ile etkileşimleri tarafından yönetilir. Nano dolgu maddelerinin eklenmesi, bazen geleneksel dolgu maddeleri ile sinerji içinde, fiziksel, mekanik, optik, elektriksel ve termal özellikler dahil olmak üzere malzemelerin değişken özelliklerini önemli ölçüde iyileştirirler. Kil malzemeleri ticari olarak temin edilebilir, ucuzdur, aşındırıcı değildir ve doğası gereği geri dönüştürülebilir. Kompozitlerde kullanılan nanotakviye türlerinden en yaygın olanı ise nanokillerdir. Nanokiller genellikle yaklaşık 1 nm kalınlığında, bir boyutta yaklaşık 50-150 nm yüzeylerde bir fillosilikat veya tabaka yapısına sahip bir kil mineralidir [15-16].

Günümüzde nanokillerin en önemli uygulamalarından biri polimer-kil nanokompozitlerin üretimidir. Pek çok araştırmacı, kolay bulunabilirliği nedeniyle hibrit polimerik kompozitlerde ve bunların laminatlarında dolgu maddesi olarak montmorillonit (MMT) nanokil kullanmıştır [17-18]. MMT'nin küçük bir miktarının (kütlece %0.5-5.0) dahil edilmesi, polimeri modifiye ederek, geleneksel malzemelerle karşılaştırıldığında elde edilen kompozitin fiziksel, mekanik, kırılma, aşınma direnci, termal stabilite, alev geciktirici, biyouyumluluk ve kimyasal özelliklerinde kayda değer bir iyileşme olmuştur [19-21]. Nanokiller ayrıca plastik endüstrisi ürünlerinin yangın güvenliğini artırmak için onlarda alev geciktirici olarak kullanılmaktadır. Nanokilleri plastiğe entegre etmek, yanmayı önleyen

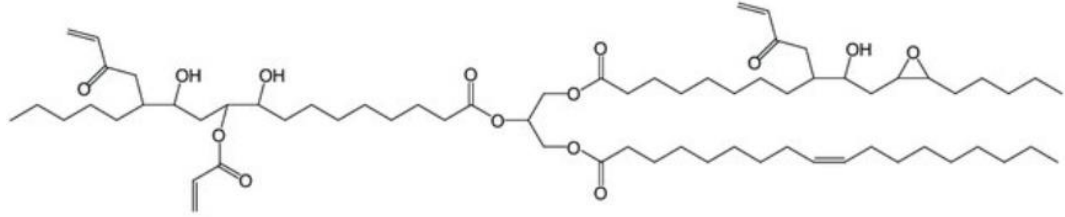
koruyucu bir tabaka aracılığıyla yanıcı malzeme miktarını ve yangının yayılmasını büyük ölçüde azaltır [9].

Yapılan çalışmada, ilk kez elde edilen AESO bazlı kompozit filmlerine belli oranlarda ilave edilen NK, biyobazlı matriste takviye malzemesi olarak kullanılırken, KY ile de antibakteriyel özellik kazandırılması amaçlanmıştır. Tamamen yenilenebilir ve biyolojik olarak parçalanabilen yeni kompozit filmler üretmek için; polimerik matris ve takviye malzemesi, yenilenebilir kaynaktan elde edilmiştir. Sonuç olarak katı atık oluşturmayan, doğada çözünürken çevreye zarar vermemesi beklenen bir malzeme olması planlanmıştır.

2. MATERYAL ve YÖNTEM (MATERIAL and METHOD)

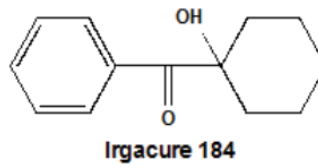
2.1. Materyaller (Materials)

Çalışmada matris olarak akrilatlanmış epoksitlenmiş soya yağı (AESO) (yoğunluk: 1.04 g/cm³; viskozite: 18,000–32,000 cps) (Sigma-Aldrich) (Şekil 1a) kullanılmıştır. Kekik yağı (KY) olarak Gaziantep ve Hatay çevresinde yetişen bir kekik türü olan Zahter kekik yağı kullanılmıştır (Hatay ili Semir Eraslan Baharat). Çalışmada kullanılan mikroorganizma suşları Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji bölümünden temin edilmiştir. Kürleştirici olarak iki tür ajan kullanılmıştır. Birincisi IPOX EH 2041(TAD 305-335 mgKOH/g) bir poliamin türü kürleme ajanıdır (Sar Chemical Co.'dan (Türkiye)). İkinci ise UV kürleştiricidir: Irgacure 184 bir radikalik fotobaşlatıcıdır) (Sigma-Aldrich) (Şekil 1b). Hızlandırıcı olarak 2,4,6-tris(dimetil amino metil) fenol (C₁₅H₂₇N₃O yoğunluk: 25°C'de 0,969 g/cm³) kullanılmıştır.



Şekil 1a. Akrilatlanmış epoksitlenmiş soya yağı (AESO)

Figure 1a. Acrylated epoxidized soybean oil (AESO)



Irgacure 184

Şekil 1b. UV kürleştirici : Irgacure 184

Figure 1b. UV curing agent: Irgacure 184

Montmorillonit yapıya sahip nanokil (NK) (saflık: %99,9; boyut: 800 nm), Nanografi Co. Ltd. (Türkiye) tarafından geliştirilmiştir. Tetrametilamonyum klorür (TMAC) Merck (Darmstadt, Almanya) tarafından sağlanmıştır.

2.2. Yöntem (Method):

2.2.1. Nanokilin (NK) Hazırlanması (Preparation of nanoclay)

NK modifikasyonu için tetrametil amonyum klorür (TMAC) kullanılmıştır. NK ilk olarak saf su içinde 30 dakika mekanik karıştırma ile safsızlıklardan uzaklaştırılmıştır. Daha sonra 5g/0.5 L TMAC çözeltisi damla damla ilave edilerek 24 saat oda sıcaklığında karıştırmaya devam edilmiştir. Modifikasyondan sonra NK, santifuj yardımıyla çöktürülerek, klorür iyonlarından arındırılincaya kadar

distile su ile yıkanmış olup, yıkama suyundan Cl^- iyonlarının tamamen uzaklaştığını kontrol etmek için 0.1 M 100 mL gümüş nitrat ($AgNO_3$) çözeltisi kullanılmıştır. Son olarak $60^\circ C$ sıcaklıktaki etüvde 48 saat kurutma işlemi uygulanmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. NK'nin modifikasyon aşamaları
Figure 2. NC modification steps

2.2.2. Kompozitlerin Hazırlanması (Preparation of Composites)

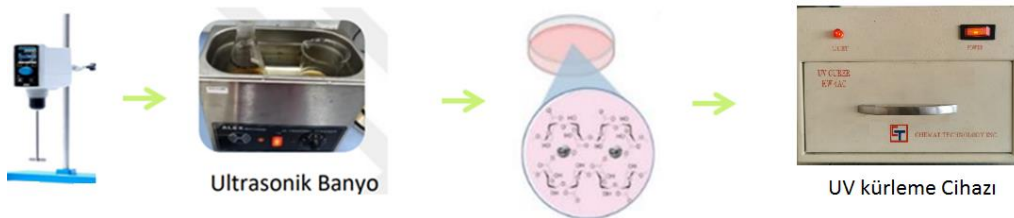
Çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiştir.

İlk aşamada:

AESO ve kütlece % 0, 1, 2, 3, 4, 5 oranlarında KY behere alındıktan sonra 200 rpm'de ve $25^\circ C$ 'de 15 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra önceki çalışmamızda belirlemiş olduğumuz kütlece %4 oranında Irgacure 184 fotobaşlatıcısı [22] ve %30 oranında IPOX ilave edilerek cam baget ile köpük oluşturmayacak şekilde karıştırılmıştır. Ultrasonik banyoda 15 dakika kabarcıkların giderilmesi için bekletilmiştir. Numuneler jel dökme yöntemiyle $10 \times 10 \times 0,5$ cm ebatında kestirilen teflon yüzey malzemesine ve mikrobiyolojik analiz için petri kaplarına yerleştirilmiştir. UV kürleme cihazında filmlerin her iki yüzü 6 dakika kürlendikten sonra vakumlu etüvde $100^\circ C$ 'de 24 saatte kürlenme tamamlanmıştır. Antibakteriyel analiz sonucu en uygun KY oranı belirlenmiştir.

Deneyin ikinci kısmında;

Bir önceki sette uygun görülen KY oranı sabit tutularak AESO ve NK ile (matrisin kütlece % 1, 2, 3, 4 ve 5 oranında) 200 rpm'de ve $25^\circ C$ 'de 15 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Yapılan diğer işlemler ilk aşama ile aynıdır (Şekil 3).



Şekil 3. Nanokompozit film yapım aşamaları
Figure 3. Nanocomposite film production steps

2.2.3. Analiz ve Testler (Analysis and Tests)

2.2.3.1. Bakteriyolojik analiz (Bacteriological analysis)

AATCC TM 147-1998'de açıklanan agar difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Antibakteriyel aktivite iki farklı bakteri: Gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) ve Gram pozitif (*Staphylococcus aureus*) bakterilere karşı değerlendirilmiştir. 0,9 cm çapındaki numune, her iki taraftan 10 dakika boyunca UV ışığı altında sterilize edilmiş ve daha önce bir test bakterisi aşılınmış agar yüzeyine nazikçe yerleştirilmiştir. 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra, numunenin veya antagonistik zone bölgesi sınırları boyunca çapları ölçülmüştür.

2.2.3.2. Su buharı geçirgenliği testi (Water vapor permeability test)

Film numunelerinin su buharı geçirgenlik değerlerini belirlemek için ASTM E96'ya göre kurutucu yöntemi uygulanmıştır. Numune, $2,5 \times 10^{-4} \text{m}^2$ bir yüzey alanına sahip dairesel bir şekilde kesilmiş ve $1 \pm 1\%$ bağıl nem sağlayan, kurutulmuş silika jel ile doldurulmuş silindirik camın üzerine yerleştirilmiştir. Numuneler daha sonra para film ile camla tamamen kapatılmış ve 75 ± 1 bağıl nem değerine ulaşmak için doymuş NaCl çözeltisi ile doldurulmuş bir desikatöre yerleştirilerek bir saatlik aralıklarla ağırlık değişimleri kaydedilmiştir. Film örneklerinin su buharı geçirgenlikleri (SBG) aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır:

$$\text{SBG} = w/t \cdot L / \Delta P / A$$

w/t = Kararlı durumda kütlelerin zamana karşı grafiğinden elde edilen regresyon katsayısı

A = film alanı (m^2)

L = ortalama film kalınlığı (m)

ΔP = filmin her iki yüzü arasındaki kısmi su buharı basınç farkı (Pa)

2.2.3.3. Çözünürlük-şişme- su içeriği testleri (Solubility-swelling-water content tests)

Çözünürlük-şişme-su içeriği testleri için iki farklı setten 1,5 cm çapında diskler hazırlanmıştır. Film örneklerinin ilk ağırlıkları tartılmış (W_1) ve etüvde bir gün boyunca 70°C'de bekletilmiştir (W_2). Numuneler 20 ml saf su içerisinde 24 saat sonrası yaş ağırlıkları alınmıştır (W_3). Son olarak tekrar etüvde bir gün boyunca 70°C'de bekletilerek son tartımı alınmıştır (W_4). Elde edilen değerler aşağıdaki formüller kullanılarak filmlerin çözünürlük-şişme-su içerikleri belirlenmiştir.

$$\% \text{ Su içeriği} = (W_1 - W_2) / (W_1) \times 100$$

$$\% \text{ Şişme} = (W_3 - W_2) / (W_2) \times 100$$

$$\% \text{ Çözünürlük} = (W_2 - W_4) / (W_2) \times 100$$

Her bir film kompozisyonu için şişme, çözünürlük ve su içeriği analizi en az 3 defa tekrar edilmiş ve bulunan değerlerin istatistiksel olarak analizleri yapılmıştır.

2.2.3.4. pH Testleri (pH Tests)

25x25mm ebatında kesilmiş film örneklerinin pH ölçümü, 20 mL %0,9 NaCl çözeltisinde 72 saat bekletilerek gerçekleştirilmiştir. 24 saat aralıklarla alınan pH değerleri tabloya geçirilmiştir.

2.2.3.5. İstatistik Analizleri (Statistical Analysis)

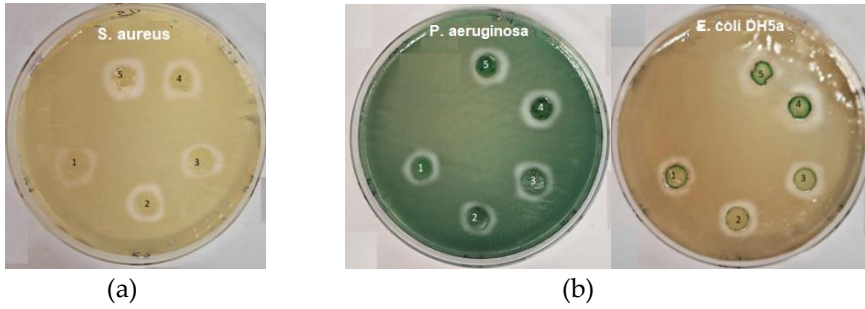
Veriler, MINITAB® release 17.0 programında tek yönlü ANOVA kullanılarak analiz edilmiş ve elde edilen ortalama analitik değerler, $p < 0.05$ 'de Tukey çoklu aralık testi kullanılarak anlamlı farklılıklar açısından karşılaştırılmıştır.

3. BULGULAR ve SONUÇLARIN İRDELENMESİ (RESULTS and DISCUSSIONS)

3.1. Bakteriyolojik Analiz (Bacteriological analysis)

Çalışmada kompozit filmlerin bakteriyolojik analizleri için kullanılan *Staphylococcus aureus* (Gram+), doğal olarak insanların burnunda ve boğazında ayrıca cilt yaralarında bulunabilmektedir. Çevre koşullarına dayanıklıdır ve birçok enfeksiyona neden olabilmektedir. Özellikle gıda kaynaklı zehirlenmelerde önemli bir rolü bulunmaktadır [23-24]. Hayvansal ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarda, gıda zehirlenmelerinde ve su kirliliğine etken olan en önemli patojenlerden biri olan *Escherichia coli* (Gram-), ortamda kolaylıkla yayılabilmektedir [25]. Klinik olarak, *E. coli* tüm yaş gruplarında diyare, idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi, menenjit, septisemi ve pnömoni dahil olmak üzere çeşitli klinik hastalıklara neden olabilir [26]. *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-) ise yanık yarası enfeksiyonları, bakteriyemi, hastane ve ventilatör ile ilişkili Pnömoni dahil nozokomiyal enfeksiyonlara ve ayrıca kistik fibroz enfeksiyonuna neden olabilen bir bakteri türüdür [27].

Kekiğin yapısında esansiyel yağlardan karvakrol (%80'e kadar değişen oranlarda), timol (%64'e kadar değişen oranlarda), γ -terpinen, p-simen, linalool, terpinen-4-ol ve sabinen hidrat bulunur. Karvakrol ve timol kekikte majör bileşenlerdendir ve antiseptik (fenolden 20 kat fazla), antifungal ve antibakteriyel özellik göstermesinin en temel nedenidir [28-29]. AESO polimer film içerisindeki kekik yağı oranı ile oluşan zone görüntüleri Şekil 4'te verilmiştir. Buna göre ölçülen inhibisyon çapları ise Çizelge 1'de görülmektedir.



Şekil 4. Polimer film içerisindeki KY oranı ile oluşan zone görüntüleri (a): Gram pozitif, (b) Gram negatif bakterileri

Figure 4. Zone images formed by the ratio of TO in the polymer film (a): Gram positive, (b) Gram negative bacteria

Çizelge 1. Polimer film içerisindeki KY oranı ile inhibisyon çapı değişim tablosu

Table 1. Inhibition diameter change table with the ratio of TO in the polymer film

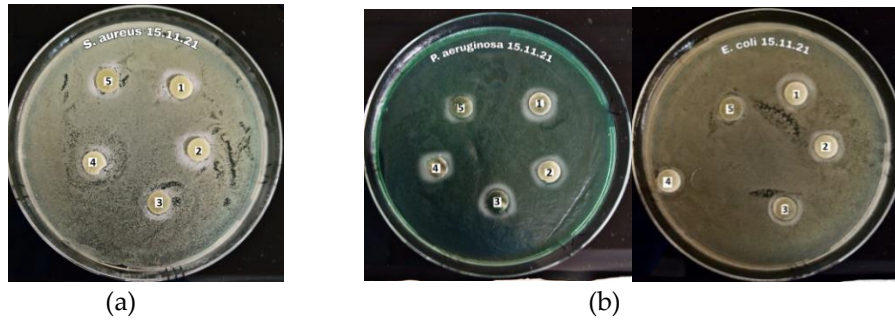
| KY oranı (kütlece %) | İnhibisyon çapı (mm) | | |
|-------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | <i>S.aureus</i> Gram (+) | <i>E.coli</i> DH5a Gram (-) | <i>P.aeruginosa</i> Gram (-) |
| 0 | x | x | x |
| 1 | 10,498±0,057 ^B | 10,002±0,158 ^D | 10,550±0,505 ^C |
| 2 | 10,540±0,010 ^B | 11,200±0,592 ^C | 10,540±0,513 ^C |
| 3 | 11,238±0,102 ^B | 11,442±0,516 ^{BC} | 11,422±0,548 ^{BC} |
| 4 | 13,244±0,687 ^A | 12,050±0,405 ^{AB} | 11,748±0,220 ^B |
| 5 | 13,440±0,450 ^A | 12,340±0,428 ^A | 12,022±0,677 ^A |

¹Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı ifade etmektedir (p<0.05)

Çizelge 1'den KY içermeyen kontrol filmlerinde hiçbir inhibisyon bölgesi olmadığı anlaşılmaktadır. İstatistiksel olarak, Gram pozitif olan *S.aureus* bakterisinden inhibisyon çapı, KY oranı %1 den %3 olana kadar önemli bir artış olmazken %4 te önemli miktarda artmış, %4'ten %5'e olan artış ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (p<0.05). Gram negatif bakterisinden olan *E.Coli* bakterisinde KY oranı arttıkça inhibisyon çapının da arttığını, *P.aeruginosa* bakterisinde ise KY oranının %3'ten sonra anlamlı

bir artış olduğu görülmektedir ($p<0.05$). KY'nin yüksek oranda sahip olduğu fenolik bileşikler ile bakterinin hücre duvarına yapışarak, hücre membran bütünlüğünü bozduğu ve bu mekanizma aracılığıyla mikroorganizmaları inhibe etmektedir [30]. Genel olarak Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerine karşı benzer bir antibakteriyel özellik gözlenmiş olsa da %5 KY içeren film, Gram pozitif olan *S.aureus* bakterilerine karşı 13,440 mm'lik inhibisyon çapı ile en yüksek bakteriyostatik etkiyi göstermiştir. Nitekim Marino ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kekik esansiyel yağının antimikrobiyal etkisinin Gram (+) bakteriler üzerinde Gram (-) bakterilerden daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir [31]. Daha önceki birçok çalışmada da elde edilen sonuçlar bizim sonuçlarımızı desteklemektedir [32-34].

AESO polimer film yapıya en fazla %5 oranında KY ilavesi yapılabilmektedir. Daha fazla ilave yapılması kompozit yapı bütünlüğünü bozarak film yapıyı elde etmede zorluk oluşturmuştur. Antibakteriyel açıdan %4 ile %5 KY oranı arasında anlamlı bir fark olmadığından çalışmanın ikinci aşamasında %4'lük oran sabit tutulmuş ve farklı oranlarda NK (kütlece %1, %2, %3, %4, %5) ilavesi ile nanokompozit filmler hazırlanmıştır. Kil minerali yapısı itibarıyla hidrofilik yapıdadır. Buna karşın polimer molekülleri genellikle hidrofobik yapıya sahiptir. Kilin modifikasyonu işlemi, bu iki farklı yapıya sahip olan malzemelerin birbiri ile uyumunu artırmak için polimer nanokompozit çalışmalarında uygulanan yaygın bir yöntemdir [35]. Şekil 5'te AESO polimer kompozit filmlerinin artan NK oranına karşı oluşan zone görüntüleri verilmiştir. Çizelge 2'de de ölçülen inhibisyon çapları özetlenmiştir.



Şekil 5. Polimer kompozit film sabit KY içeren artan NK oranına karşı oluşan zone görüntüleri: (a) Gram pozitif, (b) Gram negatif bakterileri

Figure 5. Zone images of polymer composite film containing fixed HF against increasing NK ratio: (a) Gram positive, (b) Gram negative bacteria

Çizelge 2'ye göre %1 oranda NK ilave edilmiş kompozit filmler, bakteriyolojik olarak üç bakteri türünden de hiç etkilenmemiştir. Daha fazla nanokil ilavesi ile Gram pozitif olan *S.aureus* bakterisi %3 NK oranına kadar istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmayıp %5 NK ilavesi ile inhibisyon çapındaki azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Gram negatif bakteriden *E.coli* DH5a'ye bakarsak, %3 ve sonrası zon çapındaki azalma istatistiki açıdan önemli bulunmuş olup daha fazla NK ilavesinin istatistiksel açıdan antibakteriyel özellik etkisini önemsiz oranda azalttığı gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Son olarak *P.aeruginosa* bakterisine karşı oluşan inhibisyon çapı %3 NK ilavesine kadar istatistiksel açıdan önemli bulunmazken %5 NK ilaveli nanokompozit filmin antibakteriyel özelliğindeki azalma istatistiksel olarak önemli olarak kaydedilmiştir ($p<0.05$).

Çizelge 2. %4 KY içeren polimer filmin artan NK oranı ile inhibisyon çapı değişim tablosu

Table 2. Inhibition diameter change with increasing NC ratio of polymer film containing 4% TO

| NK oranı (kütlece %) | İnhibisyon çapı (mm) | | |
|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | <i>S.aureus</i> Gram (+) | <i>E.coli</i> DH5a Gram (-) | <i>P.aeruginosa</i> Gram (-) |
| 0 | 13,244±0,450 ^A | 12,050±0,428 ^A | 11,748±0,677 ^A |
| 1 | 13,440±0,450 ^A | 12,040±0,428 ^A | 11,742±0,677 ^A |
| 2 | 13,036±0,365 ^{AB} | 11,950±0,517 ^{AB} | 11,700±0,417 ^{AB} |
| 3 | 12,240±0,694 ^{BC} | 11,580±0,480 ^B | 11,650±0,644 ^{BC} |
| 4 | 12,038±0,698 ^{BC} | 11,340±0,416 ^B | 11,590±0,468 ^{BC} |
| 5 | 11,720±0,566 ^C | 11,200±0,592 ^B | 11,120±0,602 ^C |

¹Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı ifade etmektedir (p<0.05).**3.2. Çözünürlük-şişme-su içeriği testleri (Solubility-swelling-water content tests)**

Çizelge 3(a)'ya göre film yapısı içerisinde KY oranı arttıkça istatistiksel açıdan şişme oranında önemli bir artış kaydedilmiştir (p<0.05). KY miktarının artmasıyla AESO filmlerinin şişme değerlerinin sayısal olarak artması KY bileşenlerindeki hidroksil gruplarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür [36]. Film yapıya % 4 NK ilavesine kadar istatistiki açıdan önemli bir şişme gözlenmezken %4 ve sonrası ve bir miktar şişme kaydedilmiştir (p<0.05) (Çizelge 3(b)). Kil, yapısı gereği suyu emme özelliğine sahiptir [37]. Bu nedenle kompozit yapıda kil oranı arttıkça bir miktar su çekmesi beklenen bir durumdur.

Çizelge 3. (a) Artan KY oranının şişme oranına etkisi, **(b)** sabit %4 KY içeren ve artan NK oranına karşı şişme oranı değişimi

Table 3. (a) The effect of increasing TO rate on swelling rate, (b) the change in swelling rate versus increasing NC rate with a fixed 4% TO

| KY oranı (kütlece %) | Şişme oranı (%) | NK oranı (kütlece %) | Şişme oranı (%) |
|-------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| 0 | 0,2437±0,0100 ^F | 0 | 1,5043±0,0129 ^C |
| 1 | 1,2160±0,0101 ^E | 1 | 1,5133±0,0208 ^C |
| 2 | 1,3467±0,0153 ^D | 2 | 1,5600±0,0458 ^{BC} |
| 3 | 1,4190±0,0165 ^C | 3 | 1,6067±0,0751 ^{BC} |
| 4 | 1,5043±0,0129 ^B | 4 | 1,9333±0,1528 ^{AB} |
| 5 | 1,5823±0,0108 ^A | 5 | 2,1500±0,3279 ^A |

¹Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı ifade etmektedir (p<0.05)**Çizelge 4. (a)** Artan KY oranının suda çözünürlük oranına etkisi, **(b)** %4 KY içeren polimer filmin artan NK oranına karşı sudaki çözünürlüğünün değişimi

Table 4(a). The effect of increasing TO ratio on water solubility ratio, (b) Change of water solubility of polymer film containing 4% TO against increasing NC ratio

| KY oranı (kütlece %) | Suda çözünürlük oranı (%) | NK oranı (kütlece %) | Suda çözünürlük oranı (%) |
|-------------------------|------------------------------|-------------------------|------------------------------|
| 0 | 0,15500±0,00500 ^A | 0 | 0,25000±0,04583 ^A |
| 1 | 0,24333±0,05132 ^A | 1 | 0,25333±0,05033 ^A |
| 2 | 0,24000±0,01732 ^A | 2 | 0,26333±0,04726 ^A |
| 3 | 0,25333±0,05033 ^A | 3 | 0,27667±0,03215 ^A |
| 4 | 0,25000±0,04583 ^A | 4 | 0,28000±0,02646 ^A |
| 5 | 0,26333±0,04726 ^A | 5 | 0,31000±0,08544 ^A |

¹Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı ifade etmektedir (p<0.05)

Çizelge 4(a)'da görüldüğü gibi AESO'nun suda çözünürlük özelliği düşüktür. KY oranının artmasıyla istatistiksel olarak çözünürlüğündeki artış önemsiz bulunmuştur ($p < 0.05$). Yapıya NK ilavesi yapılması da suda çözünürlük oranını önemsiz oranda artırdığı görülmektedir (Çizelge 4(b)).

Filmlerin çözünürlük değerleri, eklenen katkı maddelerinin doğasına, konsantrasyonuna ve bu katkı maddelerinin hidrofilik ve hidrofobik indekslerine bağlı olarak farklılık gösterir. Hidrofilik özellik arttıkça çözünürlüğün de artması beklenir [38]. Sonuç olarak kompozit film yapısı içerisinde KY ve NK oranı arttıkça hidrofobik yapının bozulmadığı söylenebilir.

Çizelge 5. (a) Artan KY oranının su içeriği oranına etkisi, **(b)** %4 KY içeren polimer filmin artan NK oranına karşı su içeriği değişimi

Table 5. (a) The effect of increasing TO ratio on the water content ratio, (b) the change in water content versus increasing NC ratio of the polymer film containing 4% TO

| KY oranı (kütlece %) | Su içeriği (%) | NK oranı (kütlece %) | Su içeriği (%) |
|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|------------------------------|
| 0 | 0,66333±0,01528 ^B | 0 | 0,82000±0,07000 ^A |
| 1 | 0,67333±0,02082 ^B | 1 | 0,85333±0,04509 ^A |
| 2 | 0,71667±0,10408 ^{AB} | 2 | 0,85667±0,09018 ^A |
| 3 | 0,81667±0,07638 ^{AB} | 3 | 0,88000±0,06245 ^A |
| 4 | 0,82000±0,07000 ^{AB} | 4 | 0,88667±0,06028 ^A |
| 5 | 0,85000±0,05000 ^A | 5 | 0,89167±0,05252 ^A |

¹Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$)

Çizelge 5(a)'da verilen bulgulardan da anlaşılacağı gibi, AESO filmlerine eklenen KY, su moleküllerine olan afiniteyi biraz artırmıştır. %4 KY ilavesine kadar artan su içeriği önemsiz bulunurken %5 KY içeren polimer filmin su içeriği istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Öte yandan NK oranının artması ile su içeriğinde istatistiki olarak önemsiz bir artış olmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 5 (b)).

3.3. pH ölçümleri

Her iki set için 72 saat tuzlu suda bekletilmiş film örneklerinin pH değerleri Çizelge 6(a) ve Çizelge 6(b)'de görülmektedir.

Çizelge 6(a). Artan KY oranının pH etkisi

Table 6(a). pH effect of increasing TO ratio

| KY oranı (kütlece %) | pH değerleri | | | |
|-------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | 0 saat | 24 saat | 48 saat | 72 saat |
| 0 | 7,33±0,15 ^{A,a} | 7,29±0,04 ^{A,a} | 7,26±0,02 ^{A,a} | 7,23±0,03 ^{A,a} |
| 1 | 7,35±0,15 ^{A,a} | 7,30±0,03 ^{A,a} | 7,27±0,01 ^{A,a} | 7,23±0,02 ^{A,a} |
| 3 | 7,37±0,04 ^{A,a} | 7,33±0,04 ^{A,ab} | 7,27±0,03 ^{A,b} | 7,28±0,03 ^{A,b} |
| 4 | 7,37±0,01 ^{A,a} | 7,33±0,05 ^{A,ab} | 7,29±0,06 ^{A,ab} | 7,25±0,02 ^{A,b} |
| 5 | 7,38±0,03 ^{A,a} | 7,33±0,05 ^{A,ab} | 7,29±0,04 ^{A,ab} | 7,25±0,02 ^{A,b} |

^{A-B}Aynı sütündeki büyük harfler örnekler arası farklılıkları, ^{a-b}Aynı satırdaki küçük harfler süreler arasındaki farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$)

İstatistiksel olarak pH değerleri örnekler arası farklılıklar ve süreler arası farklılıklar olmak üzere iki farklı parametre açısından değerlendirilmiştir. Polimer filmlere farklı oranlarda KY ilavesinin örneklerin pH değerlerine etkisi 0., 24., 48., 72. saatlerde belirlenmiş ve Çizelge 6(a)'da verilmiştir. Çizelgedeki verileri standart sapmaları da dikkate alınarak süreler arası farklılıklar açısından incelediğimizde, KY içermeyen kontrol örneklerinde ilk pH ölçümü ile 72. saat sonrası kompozit filmlerin pH değeri 7,33 den 7,23'e azalmış ve asitlikteki bu artış istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p < 0.05$). pH 7,37' den 7,28'e

düşen %3 KY içeren filmin 48. saatten sonra istatistiksel açıdan önemli bir asitlik artışı olarak değerlendirilmiş, 72. saatteki asitlik artışı önemsiz bulunmuştur. %4 ve %5 KY içeren polimer filmin 72. saatteki asitlik artışı önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Çizelge 6(a)'daki verileri örnekler arası farklılıklar açısından incelediğimizde ise ilk pH ölçümlerinde (0. saat) %0'dan %5 KY içeren örneklerde, KY oranı arttıkça pH değerinde hafif bir azalma tespit edilse de, bu azalma istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır. 72. saat sonunda ise pH değerleri karşılaştırıldığında yine istatistiksel olarak belirgin bir fark gözlenmemiştir ($p<0.05$).

% 4 oranda KY içeren kompozit filmlere farklı oranlarda NK ilavesinin örneklerin pH değerlerine etkisi 0., 24., 48., 72. saatlerde belirlenmiş ve Çizelge 6(b)'de verilmiştir. Çizelgedeki değerleri süreler arası farklılıklar açısından incelediğimizde, NK içermeyen kontrol örneklerinde ilk pH ölçümü ile 72. saat sonrası kompozit filmlerin pH değeri 7,37 den 7,25'e azalmış ve asitlikteki bu artış istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). %1'lik NK içeren film yapıda başlangıçtan 72. saate kadar pH değerleri arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. %3'lük NK içeren film için 48. saate kadar pH değerinde önemli bir düşüş kaydedilmiş ($p<0.05$), 72. saatte pH'nın değişmediği görülmüştür. Son olarak %5'lik NK içeren kompozit filmlerde süredeki artışa bağlı olarak gözlemlenen pH düşüşü istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 6(b)'deki verileri örnekler arası farklılıklar açısından incelediğimizde ise ilk pH ölçümlerinde (0. saat) %1 NK içeren örneklerde NK içermeyen örneklere göre pH değerinde hafif bir azalma tespit edilse de, bu azalma istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır. Ancak kompozit film yapıda NK oranı %1'den %3'e çıktığında örneklerin pH değerinde istatistiki olarak önemli bir artış gözlemlenmiştir. Bunlara ek olarak NK oranının %5'e çıkarılmasının pH değerini etkilemediği belirlenmiştir. 24., 48. ve 72. saat sonrası yapılan pH ölçümlerinde film yapısında NK miktarındaki artışın, örnekler arasında istatistiki olarak herhangi bir fark oluşturmadığı gözlenmiştir ($p<0.05$).

Bir malzemenin pH değerlerinin cilt pH değeri ile uyumlu olması önemli bir özelliktir ve literatürde bu aralık pH 5,25-7,9 olarak verilmektedir [39]. Bu çalışmada hazırlanan tüm filmlerin pH'ı 72 saat sonunda 7,23-7,29 aralığında olup cilt pH'ı ile uyumlu bulunmuştur.

Çizelge 6(b). %4 KY içeren polimer filmin artan NK oranına karşı pH değişimi

Table 6(b). pH change of polymer film containing 4% TO against increasing NC ratio

| NK oranı (kütlece %) | pH değerleri | | | |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | 0 saat | 24 saat | 48 saat | 72 saat |
| 0 | 7,37±0,01 ^{AB,a} | 7,33±0,05 ^{A,ab} | 7,29±0,06 ^{A,ab} | 7,25±0,02 ^{A,b} |
| 1 | 7,33±0,04 ^{B,a} | 7,29±0,04 ^{A,a} | 7,29±0,04 ^{A,a} | 7,27±0,01 ^{A,a} |
| 3 | 7,40±0,02 ^{A,a} | 7,34±0,03 ^{A,ab} | 7,30±0,03 ^{A,b} | 7,29±0,04 ^{A,b} |
| 5 | 7,39±0,02 ^{A,a} | 7,34±0,03 ^{A,a} | 7,31±0,04 ^{A,a} | 7,29±0,06 ^{A,a} |

^{A-B}Aynı sütündeki büyük harfler örnekler arası farklılıkları, ^{a-b}Aynı satırdaki küçük harfler süreler arasındaki farklılıkları göstermektedir.

3.4. Su buharı geçirgenliği testi (Water vapour transmission rate)

Polimerik biyobozunur filmlerin kullanım potansiyelini belirleyen önemli faktörlerden bir tanesi su buharı geçirgenlik kapasitesidir. Özellikle elde edilen biyobozunur filmler gıda sanayisinde ambalaj malzemesi olarak kullanılacaksa buradaki temel amacı gıda ile çevresindeki atmosfer arasında gerçekleşen nem transferini önlemek veya azaltmaktır [40].

Çizelge 7(a). Artan KY oranının su buharı geçirgenliğine etkisi, **(b)** sabit %4 KY içeren ve artan NK oranına karşı su buharı geçirgenlik etkisi

Table 7(a). The effect of increasing TO ratio on water vapor permeability, (b) water vapor permeability effect against increasing NC ratio with a fixed 4% TO content

| KY oranı (kütlece %) | Su buharı geçirgenliği $\times 10^{-10}$ [g.m/(m ² *Pa*s)] | NK oranı (kütlece %) | Su buharı geçirgenliği $\times 10^{-10}$ [g.m/(m ² *Pa*s)] |
|-------------------------|--|-------------------------|---|
| 0 | 1381,9±124,36 ^A | 0 | 5,0251±0,0001 ^A |
| 1 | 2,1356±0,5329 ^A | 1 | 2,1357±0,5329 ^A |
| 2 | 1,7588±0,7106 ^A | 2 | 2,2613±0,3553 ^A |
| 3 | 3,7688±1,7766 ^A | 3 | 5,0251±0,0001 ^A |
| 4 | 5,0251±0,0001 ^A | 4 | 5,0251±0,0001 ^A |
| 5 | 5,0251±0,0001 ^A | 5 | 3,7688±1,7766 ^A |

¹Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasındaki istatistiksel farklılığı ifade etmektedir (p<0.05)

AESO polimeri lipit bazlı olmasından dolayı hidrofobik yapı oluşturarak su buharı geçirgenliğine karşı dayanıklıdır [41-42] ve su buharı geçirgenliği ortalama $1,38191 \times 10^{-07}$ olarak ölçülmüştür. Çizelge 7(a)'ya baktığımızda %1 KY ilavesi ile bu değer $2,1356 \times 10^{-10}$ değerine düşerek su buharı geçirgenliği sayısal olarak bir miktar daha azalmış gibi görünüyor olsa da daha fazla KY ilavesi su buharı geçirgenliğine istatistiksel olarak bir değişim yapmamıştır (p<0.05). Film yapısına NK ilavesinin olması da genel olarak sabit bir değer verdiği söylenebilir.

4. SONUÇLAR (CONCLUSIONS)

Çalışmada, polimer bazlı filmlere kekik yağı (KY) katılarak antibakteriyel ürünler elde edilmiştir. İkinci aşamada, belli oranlarda nanokil (NK) ilave edilerek bir biyobozunur nanokompozit film elde edilmiştir. İncelenen bakteri türleri için polimer filmlerdeki KY miktarı arttıkça zon çaplarında belli bir artış gözlenmiştir. Çözünürlük-şişme-su içeriği testlerinde birbirine benzer sonuçlar gözlenmiş olup AESO polimeri içerisinde KY ve NK oranı arttıkça bu özelliklerde az da olsa bir azalma olmuştur. 72 saat boyunca incelenen pH test sonucuna göre, en düşük pH değeri %4 KY ve %5 NK ilaveli kompozit filmlerde gözlenmiş olup 7,29 olarak tespit edilmiştir. Bu da insan cildine zarar vermeyecek bir pH değeridir. Son olarak su buharı geçirgenliği testi uygulanan örneklerde KY ilavesinin AESO'nun su buharı geçirgenliğini azalttığı, NK ilavesinin önemli bir değişim yapmadığı kaydedilmiştir. Bu antibakteriyel özelliği sayesinde üretilen filmler başka analizlerle de desteklenerek gıda ambalajlarında veya medikal endüstrilerde değerlendirme imkanı bulabilir.

Etik Standartlar Bildirimi (Declaration of Ethical Standards)

Yazarlar, yazarlık, alıntı, veri raporlama ve orijinal araştırma yayınlama dahil olmak üzere tüm etik yönergelere uyduklarını beyan ederler.

Yazar Katkı Beyannamesi (Credit Authorship Contribution Statement)

Ülkü SOYDAL: Orijinal taslak- makalenin yazımı-sonuçların incelenmesi ve değerlendirilmesi, proje yönetimi, denetleme. Fadim SÖYLEMEZ GÜNBAĞI: Araştırma, analizler, kaynaklar.

Çıkar Çatışması Beyannamesi (Declaration of Competing Interest)

Yazarlar bilinen hiçbir rakip finansal ve kişisel çıkarları olmadığını beyan ederler.

Destek / Teşekkür (Funding / Acknowledgements)

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından 21201074 numaralı proje (Antibakteriyel özellikli Biyokompozit Filmlerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu) ile desteklenmiştir.

Veri Kullanılabilirliği (Data Availability)

Veriler istek üzerine kullanıma sunulabilir.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

- [1] A. Yasmin, J.J. Luo, J.L. Abot, and I.M. Daniel, "Mechanical and thermal behaviour of clay/epoxy nanocomposites", *Composites Science and Technology*, vol. 66, pp. 2415-2422, 2006.
- [2] V.Mittal, "Bio-nanocomposites: future high-value material", in *Nanocomposites with Biodegradable Polymers: Synthesis, Properties and Future Perspectives*, V. Mittal, Ed., Oxford University Press, Oxford, 2011, pp. 1-27.
- [3] H. Salam, and Y. Dong, "Property evaluation and material characterization of soybean oil modified bioepoxy/clay nanocomposites for environmental sustainability", *Materials Today Sustainability*, vol. 5, e100012, 2019.
- [4] V. Tanrattanakul, and P. Saithai, "Mechanical properties of bioplastics and bioplastic-organoclay nanocomposites prepared from epoxidized soybean oil with different epoxide contents", *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 114, no. 5, pp. 3057-3067, 2009.
- [5] A. Ammar, A.W.M. Iling, K. Ramesh, and S. Ramesh, "Development of fully organic coating system modified with epoxidized soybean oil with superior corrosion protection performance", *Progress in Organic Coatings*, vol. 140, e105523, 2020.
- [6] S. J. Park, F. L. Jin, and J. R. Lee, "Synthesis and thermal properties of epoxidized vegetable oil", *Macromolecular Rapid Communications*, vol. 25, no. 6, pp. 724- 727, 2004.
- [7] H. Uyama, M. Kuwabara, T. Tsujimoto, M. Nakano, A. Usuki, and S. Kobayashi, "Organic-inorganic hybrids from renewable plant oils and clay", *Macromolecular Bioscience*, vol. 4, no. 3, pp. 354-360, 2004.
- [8] X. Ge, L. Yu, Z. Liu, H. Liu, Y. Chen, and L. Chen, "Developing acrylated epoxidized soybean oil coating for improving moisture sensitivity and permeability of starch-based film", *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 125, pp. 370-375, 2019.
- [9] C. Zhang, M. Yan, E.W. Cochran, and M.R. Kessler, "Biorenewable polymers based on acrylated epoxidized soybean oil and methacrylated vanillin", *Materials Today Communications*, vol. 5, pp. 18-22, 2015.
- [10] E. Baştürk, T. Inan, and A. Güngör, "Flame retardant UV-curable acrylated epoxidized soybean oil based organic-inorganic hybrid coating", *Progress in Organic Coatings*, vol. 76, pp. 985-992, 2013.
- [11] L.Q. Carrillo, S. Duart, N. Montanes, S. T. Giner, and R. Balart, "Enhancement of the mechanical and thermal properties of injection-molded polylactide parts by the addition of acrylated epoxidized soybean oil", *Materials and Design*, vol. 140, pp. 54-63, 2018.
- [12] Y. Hu, P. Jia, Q. Shang, M. Zhang, G. Feng, C. Liu, and Y. Zhou, "Synthesis and application of UV-curable phosphorous-containing acrylated epoxidized soybean oil-based resins", *Journal of Bioresources and Bioproducts*, vol. 4, no. 3, pp. 183-191, 2019.
- [13] S. Kocaman, and G. Ahmetli, "A study of coating properties of biobased modified epoxy resin with different hardeners", *Progress in Organic Coatings*, vol. 97, pp. 53-64, 2016.
- [14] H.K. Güler, İ.E. Dönmez, and S.A. Aksoy, "Tıbbi ve aromatik bitkilerin antibakteriyel aktivitesi ve tekstil sektöründe kullanımı", *SDU Journal of Science (E-Journal)*, vol. 10, no. 2, pp. 27-34, 2015.
- [15] S. Pavlidou, and C.D. Papaspyrides, "A review on polymer-layered silicate nanocomposites", *Progress in Polymer Science*, vol. 33, pp. 1119-1198, 2008.

- [16] S. Sedaghat, "Synthesis of clay-CNTs nanocomposite", *Journal of Nanostructure in Chemistry*, vol. 3, pp. 3–6, 2013.
- [17] M.W. Dewan, M.K. Hossain, M. Hosur, and S. Jeelani, "Thermomechanical properties of alkali treated jute-polyester/nanoclay biocomposites fabricated by VARTM process", *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 128, pp. 4110–4123, 2013.
- [18] M.F. Hossen, S. Hamdan, M.R. Rahman, M.M. Rahman, F.K. Liew, and J.C. Lai, "Effect of fiber treatment and nanoclay on the tensile properties of jute fiber reinforced polyethylene/clay nanocomposites", *Fibers and Polymers*, vol. 16, pp. 479–485, 2015.
- [19] B. Li, X. Zhang, J. Gao, Z. Song, G. Qi, Y. Liu, and J. Qiao, "Epoxy based nanocomposites with fully exfoliated unmodified clay: mechanical and thermal properties", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 10, pp. 5864–5868, 2010.
- [20] P.K. Kushwaha, and R. Kumar, "Reinforcing effect of nanoclay in bamboo-reinforced thermosetting resin composites", *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, vol. 50, pp. 127–135, 2011.
- [21] F. Uddin, "Studies in finishing effects of clay mineral in polymers and synthetic fibers", *Advances in Materials Science and Engineering*, vol. 2013, e243515, 2013.
- [22] A. Cerit, S. Kocaman, and U. Soydal, "UV-cured coatings based on acrylated epoxidized soybean oil and epoxy carboxylate", *International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*, vol. 10, no. 4, pp. 447-450, 2016.
- [23] H. Vural, and A. Öztan, "Effects of starter cultures on growth of *Staphylococcus aureus* in fermented meat products", *Gıda*, Vol. 18, no. 4, pp. 259-263, 1993.
- [24] A. Gülbandır, "Kütahya yöresinde burun mukozasındaki *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığının ve antibiyotik duyarlılığının ve antibiyotik duyarlılığının araştırılması", *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, cilt. 18, cc. 1-6, 2009.
- [25] R. Wang, Y. Liu, Q. Zhang, L. Jin, Q. Wang, Y. Zhang, X. Wang, M. Hu, L. Li, J. Qi, Y. Luo, and H. Wang, "The prevalence of colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from food animals in China: coexistence of *mcr-1* and *bla_{NDM}* with low fitness cost", *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 55 no. 5, pp. 739-744, 2018.
- [26] N. Long, J. Deng, M. Qiu, Y. Zhang, Y. Wang, W. Guo, M. Dai, and L. Lin, "Inflammatory and pathological changes in *Escherichia coli* infected mice", *Heliyon*, vol. 8, e12533, 2022.
- [27] A. Alhazmi, "Pseudomonas aeruginosa – Pathogenesis and Pathogenic Mechanisms", *International Journal of Biology*, vol. 7, no. 2, pp. 44-67, 2015.
- [28] A. Azizi, C. Wagner, W. Friedt, and B. Honermeier, "Intraspecific diversity and relationship between subspecies of *Origanum vulgare* revealed by comparative AFLP and SAMPL marker analysis", *Plant Systematics and Evolution*, vol. 281, pp. 151–160, 2009.
- [29] B. Başyığıt, İ. Hayoğlu, and F. Atasoy, "Kekik esansiyel yağı ve mikroenkapsülasyon uygulamaları, Batman University Journal of Life Sciences", *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, Cilt 7, ss. 63-70, 2017.
- [30] Q. Wang, Y. Du, Q. Feng, F. Huang, K. Lu, J. Liu, and Q. Wei, "Nanostructures and surface nanomechanical properties of polyacrylonitrile/graphene oxide composite nanofibers by electrospinning", *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 128, no. 2, pp. 1152-1157, 2013.
- [31] M. Marino, C. Bersani, and G. Comi, "Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method", *Journal of Food Protection*, vol. 62, no. 9, pp. 1017-1023, 1999.
- [32] Y. Ozogul, E.K. Boga, I. Akyol, M. Durmus, and Y. Ucar, "Antimicrobial activity of thyme essential oil nanoemulsions on spoilage bacteria of fish and food-borne pathogens", *Food Bioscience*, vol. 36, e100635, 2020.
- [33] R. Moghimi, A. Aliahmadi, and H. Rafati, "Antibacterial hydroxypropyl methyl cellulose edible films containing nanoemulsions of *Thymus daenensis* essential oil for food packaging", *Carbohydrate Polymers*, vol. 175, pp. 241–248, 2017.

- [34] L.Y. Maroufi, M. Ghorbani, M. Mohammadi, and A. Pezeshki, "Improvement of the physico-mechanical properties of antibacterial electrospun poly lactic acid nanofibers by incorporation of guar gum and thyme essential oil", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 622, e126659, 2021.
- [35] S. Biswas, and A. Satapathy, "A comparative study on erosion characteristics of red mud filled bamboo–epoxy and glass–epoxy composites", *Materials and Design*, vol. 31, pp. 1752-1767, 2010.
- [36] A. Hassan, M.B.K. Niazi, A. Hussain, S. Farrukh, and T. Ahmad, "Development of anti-bacterial PVA/starch based hydrogel membrane for wound dressing", *Journal of Polymers and the Environment*, vol. 26, no. 1, pp. 235-243, 2018.
- [37] F.N. Köroğlu, *Nitrofenollerin iyonik ve iyonik olmayan organobentonitlerle adsorpsiyon ve desorpsiyonu*, Y.L. Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 2004.
- [38] M. Ghasemlou, N. Aliheidari, R. Fahmi, S. Shojaee-Aliabadi, B. Keshavarz, M.J. Cran, and R. Khaksar, "Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils", *Carbohydrate Polymers*, vol. 98, no. 1, pp. 1117-1126, 2013.
- [39] N. Devi, and J. Dutta, "Preparation and characterization of chitosan-bentonite nanocomposite films for wound healing application", *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 104, pp. 1897-1904, 2017.
- [40] N. Thongsrihem, S. Taokaew, M. Sriariyanun, and S. Kirdponpattara, "Antibacterial activity in gelatin-bacterial cellulose composite film by thermally crosslinking with cinnamaldehyde towards food packaging application", *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 31, e100766, 2022.
- [41] J.M. Krochta, "Control of mass transfer in food with edible coatings and films", in *Advanced in Food Engineering*, R.P. Singh and M.A. Wirakartakusumah, Eds., Boca Raton, FL, CRC Press, pp. 517-538, 1992.
- [42] Embuscado, M.E., and K.C. Huber, "Edible Films and Coatings for Food Applications", *Springer, London*, pp. 1-56, 2009.