



Nisin ve Sodyum Aljinat İçeren Kağıt Kaplamalarının Hazırlanması ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi

Emine ARMAN KANDIRMAZ^{1*}

¹Marmara Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Basım Teknolojileri Bölümü, 34722, İstanbul, Türkiye.

Öz

Son yüzyılda artan dünya nüfusu ve çevre kirliliğinin sonucu olarak gıda kaynaklarındaki azalmalar doğal ve işlenmiş gıdaların muhafazasını daha da önemli hale getirmiştir. Bu kapsamda yeni işleme teknolojileri yanında daha uzun raf ömrü sağlayan ambalaj ve depolama tekniklerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Biyopolimerlerden elde edilen yenilebilir kaplamalar; doğal, ucuz ve çevre dostu özelliklerinden ötürü son yıllarda gıda ambalajlama materyali olarak sıklıkla kullanılmaktadır. İyi kaliteye sahip yenilebilir bir malzemenin; duyu özellikleri (şeffaf, tatsız ve kokusuz) yanında bariyer özellikleri (nem, oksijen geçirgenlikleri), gıda ile malzeme ve/veya atmosfer ile malzeme arasında gerçekleşebilecek fiziksel ve biyokimyasal reaksiyonlara karşı kararlı yapıda olması, sağlık açısından güvenilir, çevreyle dost ve düşük maliyetli olması önemlidir. Yenilebilir filme antimikrobiyal özellikler kazandırılarak daha uzun ömürlü gıda koruması gerçekleştirilebilmektedir. Gıdalara raf ömrü artırmak amacıyla antimikrobiyal özellik gösterdiği bilinen maddeler; nisin, natamisin, askorbik asit veya sodyum aljinat sayılabilmektedir.

Bu çalışmada nisin ve sodyum aljinat ve bunların ikili karışımlarının dolgu maddesi olarak eklendiği nişasta bazlı kâğıt kaplama formülasyonları hazırlanmıştır. Elde edilen biyokaplamaların kimyasal yapısı ATR-FTIR ile aydınlatılmıştır. Biyokaplamaların renk, parlaklık, temas açısı ve yüzey morfolojisi belirlenmiştir. Elde edilen boş, nisin katkı, sodyum aljinat katkı ve nisin-sodyum aljinat katkı nişasta biyokaplamaların antimikrobiyal özellikleri *Listeria Monocytogenes* gram pozitif ve *Escherichia coli* gram negatif bakterileri üzerinde incelenmiştir. Elde edilen kaplamalara magenta renkli mürekkep ile IGT C1 ofset basılabilirlik test baskı makinası ile baskılar yapılmış ve elde edilen baskıların renk ve parlaklık değişimleri incelenmiştir. Sonuç olarak antibakteriyel biyokaplamalar başarıyla üretilmiştir. İçerisine dolgu maddesi olarak gıda koruyucu içeren filmlerde bakteri üremesini azaltma oranları nisin-sodyum aljinat katkı nişasta biyokaplama > sodyum aljinat katkı nişasta biyokaplama > nisin katkı nişasta biyokaplama şeklinde sıralanabilir.

Anahtar kelimeler: Aktif ambalaj, Antimikrobiyal, Nisin, Sodyum aljinat, Basılabilirlik

Preparation of Nisin and Sodium Alginate Containing Paper Coatings and Investigation of Antimicrobial Properties

Abstract

Decreasing food sources as a result of the increasing world population and environmental pollution in the last century made the preservation of natural and processed foods even more important. In this context, it is necessary to develop packaging and storage techniques that provide longer shelf life as well as new processing technologies. Edible coatings from biopolymers; due to its natural, inexpensive and environmentally friendly properties, it has been used frequently as food packaging material in recent years. An edible material of good quality; sensory properties (transparent, tasteless and odorless), as well as barrier properties (moisture, oxygen permeability), stable against physical and biochemical reactions between food and atmosphere, reliable in terms of health, environmentally friendly and low cost is important. Long-lasting food preservation can be achieved by providing edible material's antimicrobial properties. Nisin, natamycin, ascorbic acid or sodium alginate are used as substances known to exhibit antimicrobial properties to enhance shelf life in food.

In this study, starch-based paper coating formulations were prepared with nisin, sodium alginate and their binary mixtures. The chemical structure of the obtained bio-coatings was illuminated by ATR-FTIR. The color, gloss,

*Sorumlu Yazar (Corresponding Author):

Emine ARMAN KANDIRMAZ (Dr.); Marmara Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Basım Teknolojileri Bölümü, 34722, İstanbul, Türkiye. Tel: +90 (216) 777 4101- 4129, E-mail: earman@marmara.edu.tr,
ORCID No: 0000-0002-4089-6660

Geliş (Received) : 13.12.2019
Kabul (Accepted) : 03.02.2020
Basım (Published) : 15.04.2020

contact angle and surface morphology of the bio coatings were determined. The antimicrobial properties of the obtained blank, nisin doped, sodium alginate doped, and nisin-sodium alginate doped starch bio coatings were investigated on *Listeria monocytogenes* gram positive and *Escherichia coli* gram negative bacteria. Magenta color ink was printed on the obtained coatings with IGT C1 offset printability tester.. The color and gloss differences of the obtained prints were examined. As a result, antibacterial bio-paper coatings have been successfully produced. The rates of bacterial growth reduction in coatings containing food preservatives as fillers can be listed as nisin-sodium alginate doped starch bio-coating > sodium alginate doped starch bio-coating > nisin-doped starch bio-coating.

Keywords: Active packaging, antimicrobial, nisin, sodium alginate, printability

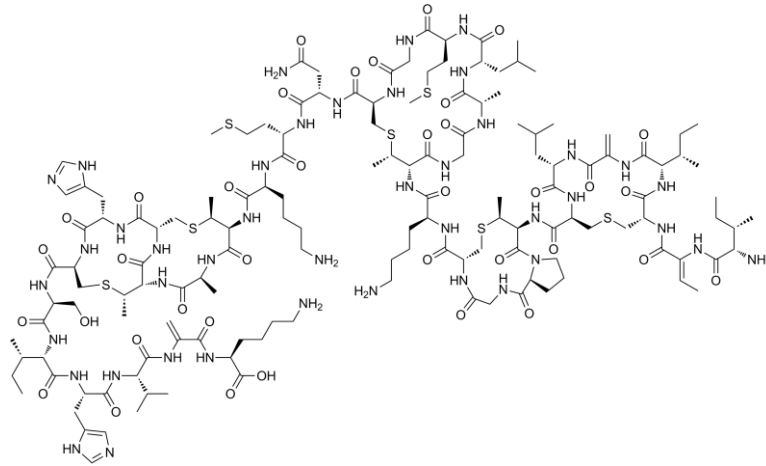
1. Giriş

Gıda ürünlerinin azalması, nüfusun artması, çevresel kirlenme faktörlerinin artması sebebiyle gıdaların korunması önem kazanmaktadır. Son zamanlarda gıda kaynaklı mikrobiyal salgınlar kaliteyi, tazeliği ve güvenliği korurken gıdalardaki mikrobiyal büyümeyi engellemenin yenilikçi yollarını araştırılmaktadır (Han 2005). Bu yenilikçi yollardan biri de artan güvenlik ve kalite marjı sağlamak için ambalaj kullanmaktır. Ambalajlar içine konulan ürünü koruyan, en temiz ve en güvenilir koşullarda talebe ulaşmasını sağlayan, taşınmasını ve depolanmasını kolaylaştıran değerli bir malzeme olarak tanımlanmaktadır (Özcan 2017). İstenilen ürünü ulaştırma esnasında müşteri talepleri ve zaruri ihtiyaçlar çerçevesinde ambalaj malzemeleri değişkenlik sağlamaktadır. Ambalaj malzemeleri arasında film malzemeler, metalize filmler, kâğıt, karton, cam veya metal malzemeler sayılabilir (Kandirmaz 2019). Yeni nesil gıda ambalajları, antimikrobiyal özelliklere sahip malzemeler içerebilir. Bu paketleme teknolojileri gıdaların raf ömrünün uzatılmasında rol oynarken patojen riskini azaltabilir (Rudra 2013; Aloui 2011; Gutierrez 2009; Rodriguez 2007; Rhim 2006; Han 2005; Rai 2010). Antimikrobiyal paketleme, bir aktif paketleme şeklidir. Aktif paketleme “gıdanın kalitesini korurken, ambalajın raf ömrünü uzatmak veya güvenlik ve duyuşal özellikleri iyileştirmek için durumunu değiştiren bir ambalaj türü” olarak tanımlanmıştır (Robertson 2009; Karagöz 2017). Antimikrobiyal gıda paketleme, paketlenmiş gıda veya paketleme malzemesinde bulunabilecek mikroorganizmaların büyümesini azaltma, inhibe etme veya geciktirme görevi göreyerek gıda kalitesini ve güvenliğini sağlama aracı olarak büyük dikkat çekmektedir.

Aktif ambalaj olarak kullanılacak bir antimikrobiyal ambalaj malzemesinde en büyük sorun kullanılan antimikrobiyal maddenin kimyasal göçü ve gıdaya vereceği zarardır. Gıdalarla temas eden ambalajlardan gıdaya geçen kimyasalları tanımlamada kullanılan migrasyon, belirli koşullarda ambalajdan gıdaya kütle transferidir (Ekinci 2012). Diğer bir deyimle bir kimyasalın baskı altı malzemesinden geçerek gıda içerisindeki ürünlere ulaşmasına migrasyon denir. Kimyasal migrasyonda taşınan kimyasalın cinsine bağlı olarak insan sağlığını doğrudan etkileyebilir. Uluslararası kuruluşlarca yapılan araştırmalara göre kimyasal göçe uğrayan maddelerin bazılarının insanda organlar üzerinde zararlı olduğu, bazılarının genotipte değişikliğe sebep olduğu ortaya çıkmıştır. Bir ambalajda kimyasal göç iki yöntemle meydana gelir. İlki, üretimde veya sonrasında üst üste dizili olan baskılı tabakaların baskılı tarafının bir sonrakinin baskısız tarafına temasıyla meydana gelen veya bobin olarak sarılan baskıların aynı şekilde baskılı taraf ile baskısız tarafın temasından meydana gelen (bu baskısız taraf direk gıda maddesine temas ederse) direk migrasyondur. İkincisi ise, ambalajlanmış ürünün raf ömrü süresince kimyasal maddelerin taşınması sebebiyle ortaya çıkan ve gıdaya direk temasla oluşmayan endirekt migrasyondur. Endirekt migrasyon da baskıdaki mürekkepten, üzerine uygulanan laktan veya baskı altı malzemesinden meydana gelmektedir. Bu sebeple ambalajda kullanılacak baskı altı malzemelerinin ve mürekkebin seçimine dikkat edilmelidir. Antimikrobiyal ambalaj malzemelerinde kullanılan ajanları seçerken insan sağlığına en az zarar veren, tat ve kokuyu olabildiğince etkilemeyen kimyasallar seçilmelidir. Bu amaçla gıda korunmasında da kullanılan yenilebilir bakteriyosinler ambalaj malzemesinde de kullanılması son zamanlarda artan ilgi çekmektedir.

Gıdalarda kullanılan koruyucular arasında nisin, natamisin, sodyum aljinat, sodyum sorbat, potasyum benzoat ve asetat tuzları bunlardan bazılarıdır. Gıdalarda kullanılan antimikrobiyaller E ve INS sisteminde 200-290 aralığında numaralandırılmışlardır. Ve bunların insanlar üzerindeki etkileri ayrıntılı olarak çalışılmıştır.

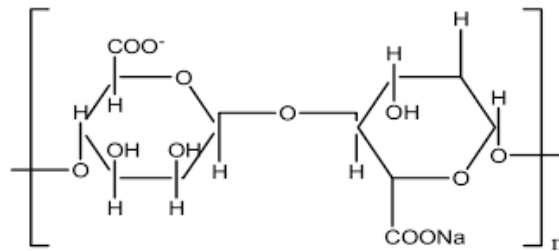
Nisin doğal bir bakteriyosindir. *Lactococcus lactis* bakterisinin fermente edilmesiyle elde edilir. Kimyasal sentez ürünü değildir. Nisinin yapısında 34 adet aminoasit bulunur. Aminoasitler, proteinlerin yapıtaşlarıdır. Nisin de protein yapısında olmasından dolayı insan vücudunda sindirilebilir. Gram pozitif bakteriler ve patojen bakteriler üzerinde etkilidir. Etkisini mikroorganizmaların hücre duvarlarını etkileyerek gösterir. E234 kodlu gıda katkı maddesi olarak kodlanmıştır. Düşük pH'lı çözeltilerde kolay çözünür ve ısıya karşı dirençsizdir (Hampikyan 2007).



Şekil 1. Nisin'in kimyasal yapısı

Nisinin insan sağlığına olumsuz bir etkisi yoktur ve geniş kullanım alanına sahiptir. Süt, peynir, et ürünleri, konserveler, salata sosları, sıvı yumurta gibi ürünlerde kullanır. İnsanlar dahil tüm memeliler için toksik etkisi bulunmayan nisin, Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç İdaresi tarafından "GRAS" (Generally Recognized as Safe-Genel Olarak Güvenli Kabul Edilebilir Ürün) statüsünde kabul edilmiş ve ayrıca Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından gıda katkı maddesi olarak onaylanmış tek bakteriosindir.

Aljinatlar, uzun yıllardır gıda endüstrisinde yoğunlaştırıcı (kalınlaştırıcı), jelleştirici ajan ve koloidal stabilizör, aynı zamanda çeşitli protein ve hücre dağılımı ve/veya tutulmasında kullanılmakta olan bileşenlerdir. Aljinatlar, kahverengi deniz yosunu türlerinin (*Phaeophyceae*) hücre duvarlarından izole edilen, belli toprak bakterileri (*Azotobacter vinelandii* ve *Pseudomonas aeruginosa*) tarafından bir ekstraselüler matriks olarak üretilen, poliüronik bir sakkarıttir. Aljinat β -D-mannuronik asit (M) ve α -L-gluronik asit (G) gibi fonksiyonel bileşenlerine ayrılabilen, düşük maliyetli, biyoyumlu ve biyoparçalanabilir bir polimerdir. E400 kodlu gıda katkı maddesi olarak kodlanmıştır. Aljinatların su içindeki çözünürlükleri solventin pH'ı, ortamın iyonik gücü ve solvent içindeki jelleştirici iyonların varlığına bağlıdır. Aljinik asit ve kalsiyum aljinat suda çözünmezken, amonyum aljinat, potasyum aljinat ve sodyum aljinat suda çözünmektedir. Çözünür hale geçmeleri için protonlanmış karboksilik asit grupları ve pH'ının belirli kritik değerlerin üzerinde tutulması gereklidir. Un ve hamur işi ürünlerde antibakteriyel olarak kullanılmaktadır (Gökbulut 2018).



Şekil 2. Sodyum aljinat'ın kimyasal yapısı

Ambalaj malzemesi olarak kullanılacak kağıt ya da kartona daha iyi basılabilirlik özellikleri verebilmesi için bir takım yüzey işlemleri uygulanması gerekmektedir (Sesli 2018). Bu işlemler genel olarak sizing, kaplama ve kalenderlemedir. Anılan bu yüzey işlemleriyle kağıt optik ve fiziksel olarak daha dirençli hale gelir. Kağıt yüzey kaplama işleminde kullanılan maddeler genel olarak dolgu maddeleri, bağlayıcı maddeler, optik beyazlatıcılar, köpük önleyiciler, pH dengeleyiciler ve koruyucu maddelerdir.

Bu çalışmada nisin ve sodyum aljinat ve bunların ikili karışımlarının dolgu maddesi olarak eklendiği nişasta bazlı kağıt kaplama formülasyonları hazırlanmış ve ofis kağıt üzerine kaplanmıştır. Elde edilen kaplamalara hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriye karşı antimikrobiyal testler uygulanmıştır. Elde edilen kağıtların

kimyasal, optik, renk ve morfolojik özellikleri incelenmiştir. Ayrıca elde edilen kaplamalı kağıtların üzerine ofset baskı simülasyonları yapılmış ve baskı rengini ve parlaklığını nasıl değiştirdiği incelenmiştir.

2. Materyal ve Metot

Çalışmanın ilk kısmında kaplama formülasyonları Tablo 1'e göre hazırlanmıştır. F0 olarak nitelendirilen kağıt numunesi hiçbir işlem görmemiş 80 g/m² ofis kağıdıdır. Kontrol grubu amacı ile kullanılmıştır.

Tablo 1. Kaplama formülasyonları

Formülasyon No	Katyonik Nişasta (gram)	Distile Su (gram)	Nisin (gram)	Sodyum Aljinat (gram)
F1	10	90	0	0
F2	10	90	2.5	0
F3	10	90	0	2.5
F4	10	90	1.25	1.25

Kaplama işlemine geçilmeden önce kullanılacak kağıtlar laboratuvar koşullarında 48 saat boyunca şartlandırılmıştır. Kaplama formülasyonları hazırlanmasında öncelikle %10'luk katyonik nişasta/distile su karışımı hazırlanmıştır. Ve karışım manyetik karıştırıcı ile 750 rpm'de karıştırılırken 95 °C'ye ısıtılmış ve bu sıcaklıkta yaklaşık 10 dakika karıştırılmıştır. Böylelikle nişasta lifleri birbirinden uzaklaştırılmış ve yüzey yapıştırma karışımı elde edilmiştir. Bu karışım oda sıcaklığına soğutulmuş ve Tablo 1'deki miktarlarda antibakteriyal madde eklenerek 500 rpm'de karıştırılmış ve kaplama formülasyonları elde edilmiştir. Elde edilen tüm formülasyonlar laboratuvar tipi K303 model Multi-coater (RK Print Coat Instruments Ltd, United Kingdom) ile Mayer Rod 2 kullanılarak, oda sıcaklığında 80 g/m² kâğıdın tek yüzüne 0.1 g/m² olacak şekilde 2 m/dak hız ile kaplanmıştır. Kaplamaların ortalama kalınlığı 3µm olarak ayarlanmıştır. Elde edilen kaplamalar 24 saat 25 °C'de %65 bağıl nemde kurutulmuştur. Elde edilen kaplamaların kimyasal yapısı, renk, parlaklık temas açısı-yüzey enerjileri ve yüzey morfolojileri sırasıyla Perkin-Elmer ATR-FTIR, X-Rite eXact spektrofotometre ve BYK Gardner glossmetre, PGX goniometre ve Leica optik mikroskop ile belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci kısmında; işlem görmemiş kağıt (F0), yüzey yapıştırması yapılmış kağıt (F1), yüzey kaplaması yapılmış kağıtlar (F2, F3, F4) için antibakteriyal test yapılmıştır. Yüzeylerin antimikrobiyal aktivitesi, inhibisyon zonu metodu (disk difüzyon metodu) ile tanımlanmıştır. Her bakteri kültürü, Tryptic Soy Broth'ta (TSB) 24 saat 37 °C'de inokülasyonla aktive edildi. İnokulum (0.1 mL), Mueller-Hinton (MH) agar petri tabaklarının yüzeyine yayılmış plaka tekniği ile yayıldı, daha sonra hazırlanan polielektrolit filmlerden kesilmiş 6 mm çapında filmler petri tabaklarına yerleştirildi. Petri kapları 24 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildi. Kuluçkadan sonra, petri kapları bakteriyel üreme açısından kontrol edildi, disk filmlerin etrafındaki inhibisyon bölgeleri kantitatif ve kantitatif olarak değerlendirildi. Önleyici zon çapına göre kantitatif değerlendirme yapıldı. Disk filmlerin etrafındaki bölgeler, bakteri üremesinin önlenmesinin bir göstergesi olarak değerlendirildi. Büyük bir inhibisyon bölgesi üreten kaplamanın, yüksek bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği düşünülmektedir.

Çalışmanın üçüncü kısmında kaplanmamış, sadece yüzey yapıştırması yapılmış ve farklı kaplanmış kağıtlara IGT C1 ofset basılabilirlik test baskı makinası ile eşit miktarda proses magenta mürekkep (DIN ISO 2846-1) kullanarak zemin baskılar yapılmıştır. Baskı parametreleri 300 N baskı basıncı, 0.2 m/s baskı hızı olarak ayarlanmıştır. Baskılı numunelerin tamamının mürekkep film kalınlığı 8 µm olarak ölçülmüştür.

Farklı kaplamalar uygulanmış kağıtlara yapılan baskıların renk ölçümleri CIE L*a*b* yöntemiyle ISO 12647-2:2013 standardına göre X-Rite eXact spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır. Spektrofotometrenin ölçüm koşulları 400-700 nm aralığında D50 ışık kaynağıyla 2°lik gözlemci açısıyla 0°/45° geometride polarizasyon filtresi açık olarak belirlenmiştir. Farklı baskıların renklerinin birbirinden farkı CIE ΔE₀₀ 2000 ISO 13655 standardına göre formül 1'e göre hesaplanmıştır.

$$\Delta E_{00} = \sqrt{\left(\frac{\Delta L'}{k_{LSL}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C'}{k_{CSC}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta H'}{k_{HSH}}\right)^2} + R_T \frac{\Delta C'}{k_{CSC}} \frac{\Delta H'}{k_{HSH}} \quad (1)$$

Kaplanmış kağıtların parlaklık ölçümleri ISO 8254-1: 2009 standardına uygun olarak, BYK Gardner GmbH mikro gloss 75° geometri ile, baskıların parlaklık ölçümleri ISO 2813:2014 standardına uygun olarak BYK Gardner GmbH mikro Tri-gloss 60° geometri ile gerçekleştirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Nisin ve sodyum aljinat kullanarak kaplama formülasyonları hazırlanmış ve kağıt yüzeyine laboratuvar koşullarında kaplanmıştır. Elde edilen kaplanmış kağıtların kimyasal yapıları ATR-FTIR ile aydınlatılmıştır. Şekil 3, F0, F1, F2, F3 ve F4'ün ATR-FTIR spektrumlarını göstermektedir.

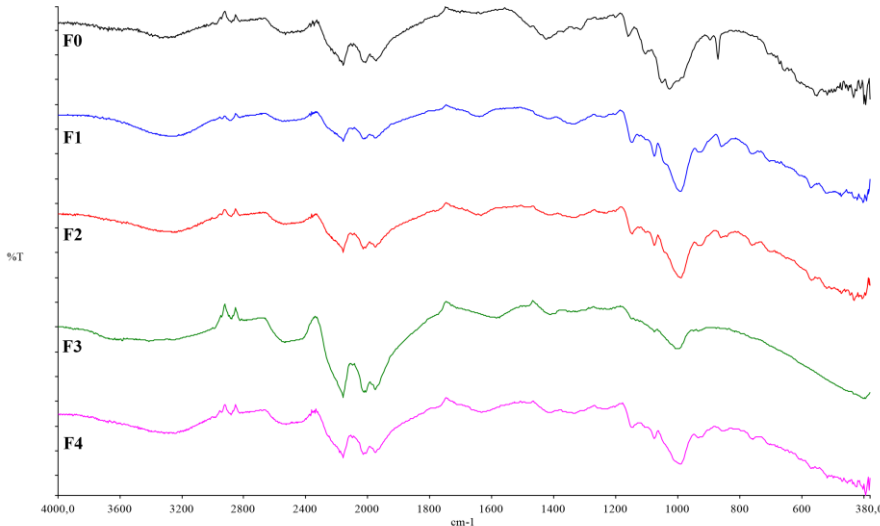
F0 işlem görmemiş kâğıda ait ATR-FTIR spektrumudur. Spektrum incelendiğinde işlem görmemiş kağıtta selüloza ait 3335 cm^{-1} 'de OH gerilmesi, 2898 cm^{-1} 'de CH titreşiminin gerilmesi, 1161 cm^{-1} 'de halka gerilmesi ve 1030'da C-O piki görülmektedir. Elde edilen sonuçlar literatür ile uyumludur (Kandirmaz 2019).

F1'in ATR-FTIR spektrumu incelendiğinde, 3275 cm^{-1} 'de geniş bant gözlemlendi, bu pik hidroksil grubunun karakteristik pikidir. 2919 cm^{-1} 'de gözlenen CH germe titreşiminin bandıdır. 1148, 1076 ve 996 cm^{-1} 'deki bantlar, nişastanın anhidroglukoz birimlerinde CO germe titreşim bantlarıdır. F1 ATR-FTIR pikleri literatür ile aynı doğrultudadır (Şen 2017).

F2'nin ATR-FTIR spektrumu incelendiğinde nişasta bantlarının yanında 3420 ve 1634 cm^{-1} 'de kuvvetli O-H ve N-H pikleri görülmektedir. Ayrıca 1720-1580 cm^{-1} bölgesindeki amid bantları da görülebilmektedir. Veriler ışığında yapının aydınlatılması literatür ile doğrulanmıştır (Hosseini 2014).

F3'nin ATR-FTIR spektrumu incelendiğinde 3430 cm^{-1} (OH germe titreşimleri), 2934 cm^{-1} (CH germe titreşimleri), 1654 cm^{-1} (COO- asimetric germe titreşimleri), 1464 cm^{-1} (COO- asimetric germe titreşimleri) ve 1034 cm^{-1} (COC germe titreşimi) karakteristik bantları göstermektedir. Benzer sonuçlar literatürde de görülmektedir (Kong 2007).

F4 incelendiğinde nisin, aljinat ve nişastaya ait piklerin tamamını içerdiği belirlenmiştir.

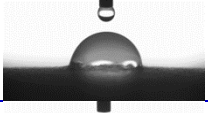
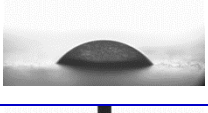
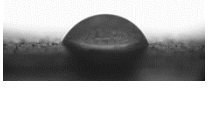
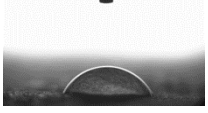
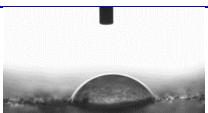


Şekil 3. Sırasıyla kaplanmamış (F0), nişasta kaplanmış (F1), nisin yüklenmiş nişasta kaplanmış (F2), sodyum aljinat yüklenmiş nişasta kaplanmış (F3) ve nisin-sodyum aljinat yüklenmiş nişasta kaplanmış kağıtların(F4) ATR-FTIR spektrumu

Yüzey enerjisi kâğıdın sıvılarla olan etkileşiminde önemli rol oynamaktadır. Kaplamaların içeriği ve miktarları bir yüzeyin morfolojik özelliklerini, temas açısını ve yüzey enerjisini etkileyen parametreler arasındadır. Elde edilen farklı kaplanmış kağıtların temas açıları ve yüzey enerjileri sessile su damlacığı metodu ile TAPPI

458:2004'e göre belirlenmiştir. Temas açısı ve yüzey enerjisi ölçümlerinde standart olarak distile su kullanılmıştır. Ölçümler Pocket Goniometer Model PG-X, (FIBRO Systems AB, Sweden) ile 3.4. program versiyonu ile CCD kamera yardımıyla damlanın fotoğrafı çekilerek gerçekleştirilmiştir. Yüzey enerjileri ASTM D5946-17 standart test metoduyla temas açısı üzerinden hesaplanmıştır. Elde edilen kaplamaların temas açıları ve yüzey enerjileri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Kaplamaların temas açısı ve yüzey enerjileri

Formülasyon No	Yüzey Enerjisi (mJ/m ²)	Temas açısı	Görsel
F0	34.8	83.7	
F1	46.2	52.1	
F2	41.5	65.1	
F3	43.5	59.5	
F4	42.3	62.9	

Tablo 2 incelendiğinde en yüksek temas açısının ve en düşük yüzey enerjisinin baz kağıtta olduğu sonucuna varılmıştır. Baz kağıdın katyonik nişasta ile yüzey yapıştırması veya kaplama gibi bir işlem görmesiyle temas açısının azalmasının sebebi yüzeye uygulanan kaplama maddesinin standart olarak kullanılan su ile yaptığı hidrojen bağlarıdır (Ozcan 2019). Kaplama içerisine nisin eklendiğinde (yüzey yapıştırması ile kıyaslandığında) temas açısı yükselmekte ve hidrofilitate azalmaktadır. Sodyum aljinat eklenmiş kaplamalar ise yüzey yapıştırılması yapılmış numune ile nisin katkılı numunenin arasında yer almaktadır. Karışım ise beklendiği gibi nisin ve sodyum aljinat katkılı kaplamaların arasında bir temas açısına sahiptir. Basım endüstrisi düşünüldüğünde kaplamaya nisin, sodyum aljinat veya karışımının eklenmesiyle baskı altı malzemesine yağ bazlı bir mürekkebin yayılması kolaylaştırılmış (ofset baskı kolaylaştırılmış), su çözücülü mürekkebin basılması daha zorlaşmıştır.

Emilme davranışları incelendiğinde yapısında nisin, sodyum aljinat ve bunların karışımlarını içeren kaplamaların sadece yüzey yapıştırması yapılmış kağıtlara göre daha emici olduğu belirlenmiştir. Yüzey enerjileri beklendiği gibi temas açılarıyla ters orantılıdır. Basım endüstrisinde kullanılacak baskı altı malzemelerinin yüzey enerjilerinin olabilecek en düşük değerde olması istenir. Çünkü bir yüzeye mürekkebin tutunabilmesi için yüzeyin enerjisinin mürekkebin enerjisinden düşük olması istenir. Bu sebeple yüzey yapıştırmasıyla basılabilirlik özelliği azalırken kaplama içerisine ilgili antibakteriyal malzemeler eklendiğinde yüzey enerjileri düşmüş basılabilirlik artmıştır. Kaplamasız kağıttan sonra en iyi basılabilirlik özelliği sodyum aljinat içeren kaplamalarda elde edilmiştir.

Tablo 3'te yapılan kaplamaların CIE L*a*b* renk, parlaklık ve renk farklılıkları verilmiştir. Örneklerin renkleri incelendiğinde baz kağıdın renginin yüzey yapıştırması ve nisin eklenmesiyle bir miktar maviye kaydığı görülmektedir. Kaplama formülasyonuna sodyum aljinat eklendiğinde renk sarıya doğru kaymaktadır (b değeri -10.21'den 5'e kadar kaymış ve renk gözle görülür şekilde sararmıştır). Nisin ve sodyum aljinat'ın birlikte eklenmesinde ise yine renk gene bir miktar sararmıştır. Bu sararmanın başlıca sebebi sodyum aljinatın doğal renginden kaynaklanmaktadır. ΔE_{00} renk farklılıkları karşılaştırıldığında kaplanmamış kağıda göre yüzey

yapıştırması yapılmış ve nisin eklenmiş kaplamaların ISO12647-2'ye göre kabul edilebilir sınırlarda olduğu belirlenmiştir. Bu baskıda kaplamadan kaynaklanan renk farkının tolere edilebileceğini göstermektedir. F0'ın F1 ve F2 ile arasındaki renk farkı insan gözüyle algılanması zor aralıktadır. Ancak kaplama içerisine sodyum aljinat girdiğinde renk bir anda sararmakta ve ΔE_{00} 17.60 civarına çıkmaktadır. Bu renk farkı hem gözle algılanabilir hem de standartlara uygun değildir. Böyle bir kâğıdın üzerine baskı yapıldığında hedef renge ulaşma ihtimali çok düşüktür. Nisin sodyum aljinat karışımının eklendiği kaplamalarda renkte sarıya kayma vardır. Bu kayma sadece sodyum aljinat bulunandan daha azdır. Ancak bu kaplamanın üzerine baskı yapmakta yukarıdaki sebepler ışığında ISO12647-2'ye göre uygun değildir.

Ayrıca Tablo 3'te kaplamaların parlaklık değeri verilmiştir. Baz kâğıdın üzerine uygulanan işlemlerde sodyum aljinat katkılı kaplama dışında parlaklık artmıştır. Basım endüstrisinde parlaklık çekicilik amacıyla istenmektedir. F1'de kâğıdın liflerinin üzeri sadece katyonik nişasta ile doldurulmuş ve yüzey pürüzsüzleştirilmiştir. Böylelikle dağınık yansıma azaltılmış ve tam yansımaya yaklaşılmıştır. Bu da parlaklığın artmasını sağlamıştır. Kaplama formülasyonuna nisin eklenmesiyle ilk bakışta pürüzlülük artacağından parlaklığın düşmesi beklenmektedir (Ural 2018). Ancak nisin kendine özgü parlaklığı sebebiyle bu düşüş çok sert olmamıştır. Kaplama içerisine sodyum aljinat eklendiğinde pürüzlülük çok artmış ve beklendiği üzere parlaklık azalmıştır. Antibakteriyal madde karışımı katkılı kağıtta ise parlaklık nisin ve sodyum aljinat katkılı kaplamaların arasında bir değere sahiptir.

Tablo 3. Kaplamaların renk ve parlaklık değerleri

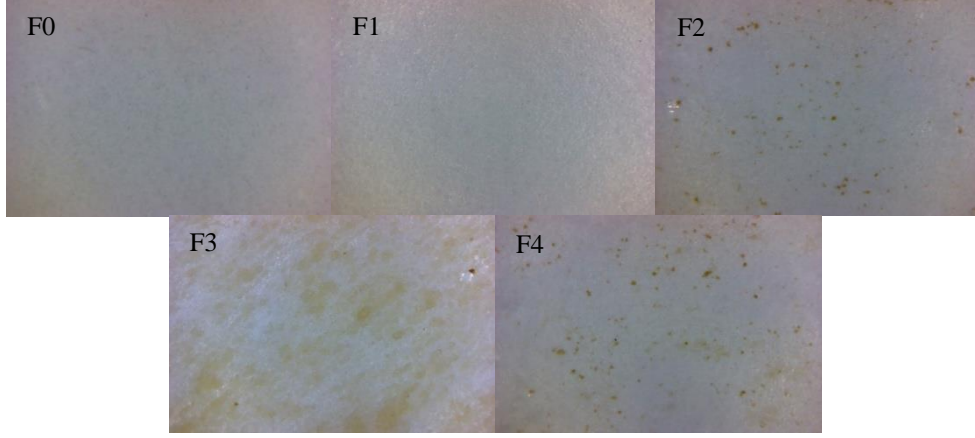
Formülasyon No	L*	a*	b*	ΔE_{00}	Parlaklık
F0	95.46	2.91	-10.21	Standart	5.2
F1	91.98	3.6	-11.25	3.69	29.7
F2	91.70	3.07	-10.74	3.80	14.7
F3	86.94	2.52	5.19	17.60	5.0
F4	89.98	2.70	-6.60	6.60	13.4

Hazırlanan kağıt kaplamalarının antimikrobiyal aktivitesi, hem gram pozitif (*S. aureus*) hem de gram negatif (*E. coli*) bakterilerine karşı test edilmiştir. Numunelerin inhibisyon zonunun çapı Tablo 4'te gösterilmektedir. Kontrol örneklerinde petri kaplarının tüm bölgelerinde *E. coli* ve *S. aureus*'un homojen olarak büyüdüğü görülmüştür. F0 ve F1'de antimikrobiyal ajan olmadığından beklenildiği üzere herhangi bir inhibisyon çapı oluşmamıştır. Hazırlanan nisin ve/veya sodyum aljinat tüm kaplamalarda nisin ve sodyum aljinatın *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı inhibe edici etkileri olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, en iyi antibakteriyal etki *E. coli*'de görülmüştür. *E. coli*'ye karşı incelendiğinde sodyum aljinatın nisinden daha iyi inhibisyona sebep olduğu belirlenmiştir. Antimikrobiyal ajanların ikisinin karışımı *E. coli*'de en yüksek inhibisyon sağlamıştır. *S. aureus*'a karşı incelemeler yapıldığında sodyum aljinatın en yüksek aktiviteyle beraber hem gram negatife hem de pozitifte etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak nisin'in inhibisyon miktarı *E. coli*'de yüksekken *S. aureus*'ta düşmüştür. Bu sebeple sodyum aljinat ve nişini birlikte içeren kaplamanında inhibisyon çapı düşmüştür. Ayrıca inhibisyonu nisin veya sodyum aljinat miktarının nasıl etkilediğini belirlemek amacıyla ilerleyen çalışmalar yapılabilir.

Tablo 4. Kaplamaların antibakteriyal aktivitesi

Formülasyon No	İnhibisyon çapı <i>E. coli</i> (mm)	İnhibisyon çapı <i>S. aureus</i> (mm)
F0	0	0
F1	0	0
F2	9	6
F3	10	10
F4	12	8

Elde edilen bütün kaplanmış kağıtların yüzeyleri optik mikroskop ile incelenmiştir. Kaplamalardaki katkı maddelerinin homojen bir şekilde kağıt yüzeyine dağıldığı Şekil 5'te görülmektedir.



Şekil 5. Kaplanmış kağıtların optik mikroskop görüntüleri

Kaplanmış tüm kağıtların yüzeyine IGT C1 ile ofset test baskıları yapılmıştır. Elde edilen baskıların CIE L*a*b* renk, parlaklık ve renk farklılıkları Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Baskıların renk ve parlaklık değerleri

Formülasyon No	L*	a*	b*	ΔE_{00}	Parlaklık
F0	47.68	74.20	-3.48	Standart	1.6
F1	48.20	73.79	-4.21	0.98	15.9
F2	48.67	73.62	-4.19	1.35	11.4
F3	44.18	72.84	11.12	15.07	1.5
F4	45.49	73.26	1.04	5.10	8.9

Tablo 5 incelendiğinde kaplamaların renklerindeki gibi baskıda da sodyum aljinatın rengi sarıya doğru yönelttiği görülmektedir. Kaplamalardaki ΔE_{00} renk farkı azalmıştır. Buda mürekkebin magenta tonunun renk farkını tolere ettiğini gösterir. Ancak F3 ve F4 baskılarında renk farkı çok fazladır ve ISO 12647-2'ye göre bu iki kaplamalı kağıdın bu renk için kullanılması uygun değildir. Parlaklık değerleri incelendiğinde kaplamalardaki sonuçlara paralel sonuçlar elde edilmiştir. Tüm baskıların parlaklıklarında ki düşüşün sebebi ise mürekkep içerisindeki pigmentin ışığı bir miktar dağıtmasıdır. Böylece yüzey pürüzlülüğü ve dağınık yansımaya artmış parlaklık azalmıştır.

4. Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada migrasyona uğrasa bile insan sağlığını olumsuz etkilemeyecek doğal antimikrobiyal ajanlar kullanarak katyonik nişasta bağlayıcılı kağıt kaplamaları üretilmiş ve basılabilirlik parametrelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Nisin ve sodyum aljinat gibi antibakteriyel ajanlar kullanılarak kağıt kaplama formülasyonları hazırlanmış ve kağıt yüzeyine başarılı şekilde kaplanmıştır. Elde edilen kaplanmış kağıtların kimyasal yapıları ATR-FTIR ile aydınlatılmıştır. Kaplanmış kağıtlarda en düşük temas açısına sahip kaplamanın yüzey yapıştırması ve sodyum aljinat olduğu bulunmuştur. Yüzey enerjileri kıyaslanarak en iyi basılabilir kaplamanın nisin katkılı kaplama olduğu belirlenmiştir. Yani yüzey yapıştırması ile düşen basılabilirlik özelliği nisin kullanılarak tekrar artırılacağı sonucuna varılmıştır.

Kaplamaların renk değerleri incelendiğinde sodyum aljinatın rengi çok sararttığı (ISO 12647-2 toleransının dışına çıkardığı) ve parlaklığı arttırmadığı belirlenmiştir. Nisin'in ise renkte çok büyük bir değişikliğe sebep olmazken parlaklığı yaklaşık üç kat arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuçlara göre nisin katkılı kaplamanın basılabilirlik açısından diğer kaplamalara göre daha iyi olduğu bulunmuştur.

Antimikrobiyal etki incelendiğinde ajanların her ikisinin de hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Optik mikroskopla ajanların yüzeye homojen yayıldığı belirlenmiştir. Kaplamalara baskılar yapılmış ve nisin'in baskı rengini ve parlaklığı değiştirmedığı ancak sodyum aljinatın magenta rengi turuncuya çevirdiği belirlenmiştir.

Sonuç olarak aktif ambalajda antimikrobiyal ajan olarak kullanılacak en iyi ajanın nisin olduğu belirlenmiştir.

Kaynaklar

1. Aloui, H., Khwaldia, K., Ben Slama, M., Hamdi M. (2011). Effect of glycerol and coating weight on functional properties of biopolymer-coated paper. *Carbohydrate Polymers*, 86(2): 1063-1072.
2. İkinci Doğan, C. (2012). Gıda ile temas eden maddeler ve gıda güvenliği. Türkiye 11. Gıda kongresi, 10 Eylül 2012; Hatay, Türkiye.
3. Gutierrez, L., Sánchez, C., Batlle, R., Nerín, C. (2009). New antimicrobial active package for bakery products. *Trends in Food Science & Technology*, 20(2): 92-99.
4. Gökbulut, İ., Öztürk, F.S. (2018). Gıda mikrokapsülasyonunda aljinat kullanımı. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 8(1/2): 16-28.
5. Hampikyan, H., Çolak, H. (2007). Nisin ve gıdalardaki antimikrobiyal etkisi. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6(2): 1-10.
6. Han, J.H. (2005). New technologies in food packaging: overview, in: *innovations in food packaging*. Elsevier Academic Press, London, 3-10.
7. Hosseini, S.M., Hosseini, H., Mohammadifar, M.A., German, J.B., Mortazavian, A.M., Mohammadi, A., Khaksar, R. (2014). Preparation and characterization of alginate and alginate-resistant starch microparticles containing nisin. *Carbohydrate Polymers*, 103: 573-580.
8. Kandırmaz, E.A., Özcan, A. (2019). Antibacterial effect of Ag nanoparticles into the paper coatings. *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, 34(4): 507-515.
9. Karagöz, Ş., Demirdöven, A. (2017). Gıda Ambalajlamada güncel uygulamalar: modifiye atmosfer, aktif, akıllı ve nanoteknolojik ambalajlama uygulamaları. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 6(1): 9-21.
10. Kong, J., Yu, S. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8): 549-559.
11. Özcan, A., Zelzele, Ö. (2017). The effect of binder type on the physical properties of coated paper. *Mus Alparslan University Journal of Science*, 5(1): 399-404.
12. Özcan, A., Kandırmaz, E.A., Hayta, P., Mutlu, B. (2019). Examination of the effect of melamine as a filler in paper coatings on print quality. *Cellulose Chemistry and Technology*, 53(3-4): 307-313.
13. Rai, A., Prabhune, A., Perry, C.C. (2010). Antibiotic mediated synthesis of gold nanoparticles with potent antimicrobial activity and their application in antimicrobial coatings. *Journal of Materials Chemistry*, 20(32): 6789-6798.
14. Rhim, J.W., Lee, J.H., Hong, S.I. (2006). Water resistance and mechanical properties of biopolimer (alginate and soy protein) coated paperboards. *Swiss Society of Food Science and Tecnology*, 39: 806-813.
15. Robertson, G.L. (2009). *Food packaging and shelf life: a practical guide*. CRC Press.
16. Rodriguez, A., Batlle, R., Nerin, C. (2007). The use of natural essential oils as antimicrobial solutions in paper packaging part II. *Progress in Organic Coatings*, 60: 33-38.
17. Rudra, S., Singh, V., Jyoti, S., Shivhare, U. (2013). Mechanical properties and antimicrobial efficiency of active paper for primary packaging of fruits. *Food Bioscience*, 3: 49-58.
18. Sesli, Y., Ozomay, Z., Arman Kandırmaz, E., Özcan, A. (2018). The investigation of using zirconium oxide microspheres in paper coating. *9.International Symposium Graphic Engineering and Design*, Novi Sad, Serbia, pp. 129-134.
19. Şen, F., Uzunsoy, İ., Baştürk, E., Kahraman, M.V. (2017). Antimicrobial agent-free hybrid cationic starch/sodium alginate polyelectrolyte films for food packaging *materials*. *Carbohydrate Polymers*, 170: 264-270.
20. Ural, E., Kandırmaz, E.A. (2018). Potential of fish scales as a filling material in surface coating of cellulosic paper. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, 16(1): 23-27.