



## KURKUMİN YÜKLENMİŞ ZEOLİTİK İMİDAZOLAT ÇERÇEVE-8 İLE GIDA PAKETLEME UYGULAMALARI İÇİN AKTİF FİLM GELİŞTİRİLMESİ

**Ecem Kaya, Leyla Nesrin Kahyaoğlu\***

Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 07.07.2022; Kabul / Accepted: 01.10.2022; Online baskı / Published online: 10.10.2022

Kaya, E., Kahyaoğlu, L.N. (2022). Kurkumin yüklenmiş zeolitlik imidazolat çerçeve-8 ile gıda paketleme uygulamaları için aktif film geliştirilmesi. *GIDA* (2022) 47 (5) 916-940 doi: 10.15237/ gida.GD22067

Kaya, E., Kahyaoğlu, L.N. (2022). *Development of active film for food packaging applications with curcumin-loaded zeolitic imidazolate framework-8*. *GIDA* (2022) 47 (5) 916-940 doi: 10.15237/ gida.GD22067

### ÖZ

Aktif paketleme uygulamaları gıda raf ömrünü uzatarak gıda israfını azaltmayı hedeflemektedir. Geliştirilen paketleme malzemelerinin biyobozunur, sürdürülebilir ve yenilenebilir kaynaklardan olması çevre kirliliğinin azaltılması ve doğal kaynakların korunabilmesi için gereklidir. Bu nedenle, bu çalışmada antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip doğal bir özüt olan kurkumin, zeolitlik imidazol çerçeve-8 (K-ZİF-8) nanokristalleri içerisine kapsüllenmiştir. Tasarlanan aktif paketin destek malzemesi olan kitin nanokompozitler ise kültür mantarından elde edilmiştir. Kitin nanokompozit film içerisine farklı konsantrasyonlarda K-ZİF-8 eklenmiş ve konsantrasyon arttıkça filmlerin biyoaktif özelliklerinin arttığı gözlemlenmiştir. Diğer taraftan K-ZİF-8 eklemenin kitin filmlerin mekanik, bariyer, optik, termal ve morfolojik özelliklerine istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmamıştır. Antimikrobiyal test sonuçları filmlerin *E.coli* bakteri kolonilerine karşı etkili olduğunu ortaya koyarken *S.aureus* kolonilerine karşı aynı etki gözlemlenmemiştir. En yüksek antimikrobiyal etki, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktive 10XMÖK değerinde K-ZİF-8 içeren filmde elde edilmiştir. Ancak film dayanıklılık testleri bu filmlerin uzun süre depolamaya uygun olmadığını ortaya koymuştur.

**Anahtar kelimeler:** Kültür mantarı, kitin nanokompozit film, ZİF-8, kurkumin, aktif paket

## DEVELOPMENT OF ACTIVE FILM FOR FOOD PACKAGING APPLICATIONS WITH CURCUMIN-LOADED ZEOLITIC IMIDAZOLATE FRAMEWORK-8

### ABSTRACT

Active packaging aims to reduce food waste by extending food shelf life. Packaging materials developed from biodegradable, sustainable and renewable resources are required to reduce environmental pollution and conserve natural resources. Therefore, curcumin, a natural extract with antioxidant and antimicrobial properties, was encapsulated into zeolitic imidazole framework-8 nanocrystals (K-ZIF-8) in this study. Chitin nanocomposites, support materials of the designed active package, were extracted from the cultivated mushroom. Bioactive properties of the films improved as the amount of K-ZIF-8 increased. Addition of K-ZIF-8 did not have a significant effect on mechanical, barrier, optical, thermal and morphological properties of chitin films. Antimicrobial test revealed that chitin-based nanocomposite films were effective against *E.coli*, but not against *S.aureus*.

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: kaleyla@metu.edu.tr

☎: (+90) 312 210 5641

☎: (+90) 312 210 2767

Ecem Kaya; ORCID no: 0000-0003-1183-2841

Leyla Nesrin Kahyaoğlu; ORCID no: 0000-0003-3548-4378

The highest antimicrobial effect, total phenolic content and antioxidant activity was obtained in the film containing 10XMIC equivalent of K-ZIF-8 concentration. However, film durability tests indicated that these films are not suitable for long-term storage.

**Keywords:** Cultivated mushroom, chitin nanocomposite film, ZIF-8, curcumin, active packaging

### GİRİŞ

Her yıl 89 milyon ton tüketilebilir paketli gıdanın atıldığı Avrupa komisyonunun yaptığı çalışmalar ile gösterilmiştir (Cicatiello vd., 2016). Tüketilebilir gıda israfının doğal kaynaklar üzerindeki olumsuz etkileri, etik ve ekonomik birçok sorunu beraberinde getirmektedir. Çünkü gıdaları işlemek için harcanan ve israf olan doğal kaynaklara ek olarak bilhassa geleneksel fosil bazlı ve biyobozulmaya uğrayamayan ambalaj malzeme atıkları dünya genelinde artan çevre kirliliğine neden olmaktadır (Gan ve Chow, 2018). Bu sorunun üzerinden ancak gıda raf ömrünü uzatarak ya da biyobozunur ambalaj malzemesi alternatifleri geliştirerek gelinbilir. Bu nedenle, özellikle son yıllarda ürün raf ömrünü uzatmayı hedefleyen aktif paketleme uygulamaları üzerine olan çalışmalar artmıştır (Yıldırım vd., 2018). Aynı şekilde biyobozunur olan doğal polimerlerin (biyopolimer) fosil yakıt bazlı plastik malzemelerin yerini alarak atık bertaraf sorununu çözebilecek nitelikte olduğu öngörülmektedir (Adilah vd., 2018). Bu doğrultuda geliştirilecek paketleme uygulamaları gıda atıklarını önlemede ve azaltmada etkin rol oynayabilecektir. Tüm bu sıralanan sorunlar göz önünde bulundurularak mevcut çalışmada bir biyopolimer kullanarak aktif paketleme malzemesi geliştirmek hedeflenmiştir.

Yenilenebilir kaynaklardan özütlenen nanolifler son yıllarda büyük ilgi toplamaya başlamıştır (Devarayan ve Kim, 2015; Ko vd., 2010). Bu doğrultuda, amiloyit (Knowles vd., 2010) ve ipek (Valentini vd., 2018) gibi proteinlere dayanan alternatiflerin yanı sıra selüloz (Kontturi vd., 2018) ve kitin (Ifuku ve Saimoto, 2012) gibi doğal polisakkaritler sıklıkla kullanılmıştır. Selülozdan sonra doğada en çok bulunan ikinci biyopolimer kitindir. Yıllık üretimi tahmini olarak 1011 tona ulaşabilmektedir (Gortari ve Hours, 2013). Kitin kabuklu deniz hayvanı ve böceklerin dış kabuğu ile mantarın hücre duvarını yapısını oluşturmakta ve bu yapılardan elde edilebilmektedir (Fazli Wan Nawawi vd., 2019). Nanolif yapıda yarı kristal biyopolimer olan kitin çoğunlukla endüstriyel atık

muamelesi görmektedir (Ifuku ve Saimoto, 2012). Ancak kitin nanolifleri özellikle yüksek mekanik özellikleriyle beraber antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle yoğun ilgi görmeye başlamışlardır (Hai vd., 2020). Bu nedenle kitin tabanlı nanomalzemeler pek çok uygulamada kullanılmaya başlanmıştır (Muski, 2021).

Kabuklu deniz hayvanlarının kabuğundan kitin ve kitin nanolif hazırlama yöntemleri yüksek sıcaklıklar altında ağır kimyasal kullanılarak bir dizi mekanik işlem gerektirmektedir (Ifuku vd., 2009). Bu nedenle, yeşil çevre dostu özütleme teknikleri son yıllarda geliştirilmeye başlanmıştır (Kaur ve Dhillon, 2015). Mantardan hazırlanan kitin ve kitin nanolifleri yengeç ve karides kabuklarından elde edilenlere benzer niteliktedir (Ifuku, 2014). Bununla birlikte, mantardan elde edilen kitin ve türevleri mantarda bulunan glukanlar ile kompleks oluşturarak elde edilen kompozitlerin mekanik özelliklerini daha güçlü hale getirebilmektedir (Fazli Wan Nawawi vd., 2019). Mantarların yaygın olarak bulunması ve hızlı büyümesi, kitin ve kitin nanoliflerin mantardan özütlenmesi için motive edici bir sebeptir (Muski, 2021). Mevcut çalışmada buna istinaden kültür mantarından (*Agaricus bisporus*) kitin nanofiberlerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla minimum enerji gerektiren ve asit kullanılmayan Fazli Wan Nawadi ve arkadaşlarının (2019) nano kağıt üretimi için geliştirdiği teknik, esnekliğin artırılmasına yönelik değiştirilerek kullanılmıştır (Fazli Wan Nawawi vd., 2019).

Metal organik çerçeveler (MOÇ) gelişmekte olan hibrit kristal gözenekli malzemelerdendir. MOÇlar metal iyonlarında organik bağlayıcılar vasıtasıyla inşa edilirler (Smaldone vd., 2010). MOÇlar yüksek ve ayarlanabilir gözenekli yapıları ile kontrol edilebilir yüzey fonksiyonlarından faydalanılarak gaz depolama, arıtma ve kataliz gibi pek çok alanda kullanılmışlardır (Lee vd., 2009; Qiu vd., 2014). Son yıllarda nano boyutlardaki MOÇların biyomolekül taşıyıcı olarak büyük bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (Hoop vd.,

2018). Çinko iyonları ile 2-metil imidazoldan elde edilen yüksek kimyasal kararlılıkta ve biyoyumlu olan zeolitik imidazol çerçeveler (ZİF-8) yapısal olarak biyomoleküller için ideal bir nano taşıyıcı görevi görebilmektedir (Chen vd., 2017; Karimi vd., 2018). Birçok araştırma grubu ZİF-8 kullanarak biyomolekülleri yüksek verimlilikle çerçeveler içerisine yüklemeyi başarmıştır (Hoop vd., 2018). Sonuç olarak ZİF-8 nanokristalleri mevcut çalışmada hem antimikrobiyal kurkumin için taşıyıcı hem de biyopolimer yapıda bariyer ve mekanik özellikleri geliştirici olarak kullanılması hedeflenmiştir.

Biyoaktif molekül yüklenmiş ZİF-8 nanokristalleri aktif paket geliştirmede çok yeni kullanılmaya başlanmıştır. Cai ve arkadaşları tarafından ortaya konan ilk çalışmada kurkumin ZİF-8 içerisine hapsedilmiş sonrasında polikaprolakton filmlerin içerisine yüklenmiştir (Cai vd., 2021). Söz konusu çalışmada mavi ışık (420-430 nm) altında kurkuminin tekli oksijen üretiminden faydalanılarak antimikrobiyal özelliklerinin arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada polimer yapısına dahil edilen kurkumin ihtiva eden ZİF-8 vasıtasıyla pH ve ışığa duyarlı gıda endüstrisi için antibakteriyel ambalaj malzemesi geliştirilmiştir. Bir diğer çalışmada ise ZİF-8 nanokristalleri bakır oksit için taşıyıcı olarak kullanılarak polilaktik asit, polivinil asit ve kitosan ile çok katmanlı filmler elde edilmiştir (Fu vd., 2022). Bu filmler domatesin raf ömrünü uzatmak için koruyucu ambalaj olarak kullanılmış ve antimikrobiyal etkinlikleri çalışmada gösterilmiştir.

Kurkuminin antimikrobiyal ajan olarak pek çok çalışmada tercih edilmesinin en önemli sebebi sarı-turuncu renkte doğal bir boya olup, toksik özellik göstermemesi ve zerdeçaldan (*Curcuma longa*) kolayca elde edilebilmesidir (Bajpai vd., 2015). Kararlı bir enol formu olan kurkumin, doymamış karbonil grupları ile bağlanmış iki metoksillenmiş fenolden oluşmaktadır (Anand vd., 2007). Gıda sanayinde genel olarak renk maddesi olarak kullanılan kurkumin, gösterdiği antikanser, antimikrobiyal, antioksidan ve antienflamatuar özellikleri nedeniyle son yıllarda besin takviyesi olarak da kullanıldığı pek çok

çalışma mevcuttur (Hewlings ve Kalman, 2017). Buna ek olarak kurkuminin antimikrobiyal etkisi görünür (400-800 nm) ve UV-A ışık (320-400 nm) dalga boyları altında artmaktadır (Oliveira vd., 2018). Kurkuminin ışık ile aktive edildiğinde tekli oksijen meydana getirerek bakteri çoğalmasını engellediği ortaya konulmuştur (Condat vd., 2015). Aynı şekilde yapılan çalışmalarda kurkuminin antitümör gibi bazı biyoaktivitelerinin UV-A ve görünür ışık ile aktive edilebileceği ortaya konmuştur (Bernd, 2014; Dujic vd., 2007). Bu nedenle, mevcut çalışmamızda görünür ışık kullanımının kurkumin yüklü ZİF-8 nanokristalleri iliştirilmiş kitin filmleri üzerindeki antioksidan ve antimikrobiyal etkisi incelenmiştir.

Bu çalışmada kurkumin öncelikli olarak ZİF-8 nanokristalleri içerisine yüklenmiş sonrasında mantardan özütlenen kitin nanokompozit filmler içerisine eklenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda K-ZİF-8 içeren kitin nanokompozit filmlerin antimikrobiyal, antioksidan, fenolik ve fizikokimyasal özelliklerine karar verilmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) Yiğit Enerji Gıda Tarım ve Hayvancılık Sanayi (Kalecik, Ankara) firması tarafından sağlanmıştır. Çinko nitrat heksahidrat ( $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ), 2-metilimidazol, kurkumin, sodyum hidroksit, Folin-Ciocalteu reaktifi, metanol ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından alınmıştır. Kromojenik *E. coli* ve Baird Parker katı besiyeri Diatek (İstanbul, Türkiye) firmasından satın alınmıştır.

### Yöntem

#### **Kurkumin yüklenmiş ZİF-8 nanokristallerin hazırlanması ve karakterizasyonu**

Kurkumin yüklenmiş zeolitik imidazol çerçeve-8 (K-ZİF -8) sentezinde Zheng ve arkadaşlarının ZİF-8 içerisine kurkumin yüklemek için kullandığı yöntem kullanılmıştır (Zheng vd., 2015). Bu amaçla özetle  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  (150 mg) deiyonize su (5 ml) içerisinde çözünmüştür. Diğer tarafta ise 2-metilimidazol (330 mg) metanol (10 ml) içerisinde çözünmüştür. Daha sonra hızlıca  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  çözeltisi 2-metilimidazol

çözeltilisine katılmış ve 1 saat 23°C sıcaklıkta karıştırılmıştır (Daihan Scientific Co., Ltd., Kore). Bu yöntemle boş ZİF-8 nanokristalleri hazırlanmıştır. K-ZİF-8 sentezi için 330 mg 2-metilimidazol öncelikle 5 mg/ml kurkumin konsantrasyonundaki 10 ml metanole eklenerek çözülmüş sonrasında üzerine hızlıca  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  çözeltisi eklenmiştir. Boş ve kurkumin yüklenmiş ZİF-8 nanokristalleri 1 saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra 3 kez metanol ve 3 kez deiyonize suda 10000 devir/dakika hızda 15 dakika (Nüve NF 1200R, Ankara, Türkiye) santrifüj ile yıkanmıştır. Daha sonra ise sabit ağırlığa gelene 60°C vakum fırında kurutulmuş ve kuru halde sonraki kullanımlar için saklanmıştır.

Kurkumin kapsülleme randımanına karar vermek için önce kurutulmuş K-ZİF-8 nanokristalleri (1 mg) 2M HCl içerisinde bozulmuş ve örneğin etanol (2 ml) içerisinde UV-Vis spektrometre (Optizen Pop, Mecasys, Kore) ile 427 nm dalga boyunda ışık soğurması ölçülmüş ve hazırlanan kurkumin standart eğrisi ile karşılaştırılmıştır. Kapsülleme randımanına yüklenen kurkumin miktarı başlangıçta eklenen kurkumin miktarı ile orantılanarak bulunmuştur. ZİF-8 ve K-ZİF-8 nanokristallerinin kristal yapısına ve faz saflığına X-Işını toz difraktometresi (XRD) ile karar verilmiştir (Rigaku, MiniFlex XRD, Tokyo, Japonya). Bu amaçla ölçümlerden önce nanokristaller dondurularak kurutulmuşlardır (Christ Alpha 2-4 LD Plus, Martin Christ, Almanya). Ölçümler 1° ila 50° 2θ derece aralığında tarama hızı 1°/dakika olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. K-ZİF-8 ve ZİF-8 nanokristallerin kimyasal bağ ve kompozisyonuna Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FDKS) (SHIMADZU, IRSpirit, Kyoto, Japonya) ile karar verilmiştir. FDKS ölçümleri  $4000\text{ cm}^{-1}$  ile  $400\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında  $4\text{ cm}^{-1}$  çözünürlükle gerçekleştirilmiştir. K-ZİF-8 ve ZİF-8 nanokristallerin termal özelliklerine ise diferansiyel taramalı kalorimetri (DTK) yerine nitrojen gazı altında oda sıcaklığından 700°C'ye kadar 5°C/dakika ısıtma hızıyla termogravimetrik analizle (TGA) (Sereram Labsys, Caluire, Fransa) karar verilmiştir. K-ZİF-8 ve ZİF-8 nanokristal morfolojik ve boyut bilgilerine Transmisyon

Elektron Mikroskobu (TEM) (FEI, Tecnai G2 Spirit Biotwin, Oregon, ABD) kullanılarak karar verilmiştir. Ölçümler 20 ile 120 kV arasındaki akım altında gerçekleştirilmiştir.

### **Mantardan kitin ekstraksiyonu ve nanokompozit hazırlanması**

Kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) yaklaşık 5 kilogram olacak şekilde tek seferde temin edilmiş ve -20°C'de saklanmıştır. Fazlı Wan Nawawi ve arkadaşlarının yönteminde küçük değişiklikler yapılarak nanokompozit film üretilmiştir (Fazlı Wan Nawawi vd., 2019). Kısaca dondurucudan çıkarılarak çözülen 100 gram kültür mantarı öğütücüden geçirilerek toplam hacim 300 mililitre olana kadar distile su eklenmiş ve 85°C'de 30 dakika karıştırılmıştır. Fazla su ve suda çözünen maddeler süspansiyon santrifüj ile ayrıldıktan sonra 1 M sodyum hidroksit çözeltisinde 65°C'de 3 saat karıştırılmıştır. Daha sonra fazla sodyum hidroksiti ayırmak için defalarca su ile yıkanmış ve uzaklaştırma işlemi süzüntü pH değeri  $7 \pm 0.2$  yaklaştığında yıkama işlemine son verilmiştir. Son yıkamadan sonra elde edilecek nanokompozit filmin kırılgenliğini azaltmak için içerisine gliserol (%5 ağırlık/hacim) 300 mililitre su ile beraber eklenmiştir. Nötrale hale getirilmiş çözelti daha sonra vakum filtre ile süzülmüş ve elde edilen filtre keki 9 cm çapındaki teflon beher içerisine yerleştirilmiştir. Daha sonra PTFE teflon beher içerisindeki filtre keki 105°C etüvde 2 saat kurutulmuştur.

### **K-ZİF-8 nanokristalli kitin nanokompozit film hazırlanması**

Farklı miktarlarda K-ZİF-8 nanokristalleri kitin nanokompozite eklenerek 24 saat 23°C sıcaklıkta ve ışıktan korunaklı bir şekilde 500 devir/dakika karıştırılmıştır. Nanokompozit içerisinde eklenecek K-ZİF-8 nanokristallerinin miktarına minimum önleyici konsantrasyonuna (minimum inhibitory concentration) göre karar verilmiştir. Güneş ve arkadaşları tarafından *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*, için kurkuminin *in vitro* minimum önleyici konsantrasyonu  $220\text{ }\mu\text{g/ml}$  ve  $163\text{ }\mu\text{g/ml}$  olduğu gösterilmiştir (Gunes vd., 2013).  $220\text{ }\mu\text{g/ml}$  değeri referans olarak kullanılmıştır. Üç farklı konsantrasyon sırasıyla minimum önleyici konsantrasyonunun bir (1X

MÖK; 220 µg/ml), beş (5X MÖK) ve on katı (10X MÖK) denk gelen kurkumin yüklenmiş ZİF-8 nanokristalleri şeklinde hazırlanmıştır. Kitin nanokompozit film hazırlama işleminin son aşamasında istenilen konsantrasyonlara denk gelen K-ZİF-8 (1 MÖK, 5 MÖK ya da 10 MÖK) distile su içerisine (300 ml) gliserol (%5 ağırlık/hacim) ile beraber eklenmiş ve 3 saat oda sıcaklığında 500 devir/dakika hızda karıştırılmıştır. Daha sonra hazırlanan son çözelti vakum filtre ile süzülüş ve elde edilen filtre keki PTFE teflon beher içerisinde 105°C sıcaklıkta etüvde karanlıkta 2 saat süreyle kurutulmuştur. Ölçümler filmler bağıl nemi %50 olan 23°C sıcaklıkta iklimlendirme kabini (TK120, Nuve) içerisinde 48 saat koşullandırıldıktan sonra gerçekleştirilmiştir.

Çalışma içerisinde tip 1 film sadece kitin nanokompozit film den, tip 2 film ZİF-8 nanokristal eklenmiş (kurkuminsiz) kitin nanokompozit filmler ve tip 3 film ise K-ZİF-8 nanokristalli (üç farklı konsantrasyonda; 1XMÖK, 5XMÖK ve 10XMÖK) kitin nanokompozit filmlerden oluşmaktadır.

### **Üretilen Kitin Nanokompozit Filmlerde Karakterizasyon Analizleri**

#### **Kalınlık**

Filmlerin kalınlığına 5 ayrı noktadan dijital mikrometre (LOYKA 5202–25, Loyka, Ankara, Türkiye) ile karar verilmiştir. Mekanik özelliklerin, şeffaflık ve su buharı geçirgenliğinin belirlenmesi için ortalama film kalınlığı verileri kullanılmıştır.

#### **Şeffaflık**

Filmlerin şeffaflıkları spektrofotometre (Shimadzu, UV-Visible Spectrophotometer, UV-1700, Japan) kullanılarak belirlenmiştir. Işık soğurmaları 600 nm dalga boyunda ölçülen filmlerin şeffaflık değerleri Eşitlik (1)'e göre belirlenmiştir (Han ve Floros, 1997).

$$\text{Şeffaflık} = \frac{\text{LOG}(A_{600})}{X} \quad (1)$$

Burada, A600 600 nm dalga boyunda ölçülen ışık soğurma değeri ve X ise film kalınlık (mm) değerini ifade etmektedir.

#### **Mikroyapı**

Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM) (Nova NanoSEM 430 elektron mikroskobu, FEI, Oregon, ABD), filmlerin kesit ve yüzey mikroyapılarını incelemek için kullanılmıştır. Bu amaçla, kurutulmuş nanokompozit tip 1 ve tip 3 film örnekleri sıvı nitrojen içerisine daldırılmış ve sonrasında dondurumlu parçalama işlemi gerçekleştirilmiştir. Parçalama işleminden sonra numune çift taraflı karbon bant yapıştırılarak alüminyum koçan üzerine yerleştirilmiş ve karbon ile kaplanmıştır. Film morfolojisi, 20 kV değerinde bir hızlandırma voltajında, 1000X ve 5000X büyütme oranında incelenmiştir.

#### **Suda çözünme**

Tip 1 ve tip 3 nanokompozit filmlerin suda çözünme testlerine nem miktarlarına karar verildikten sonra başlanmıştır. Bu amaçla, filmler vakum fırınında sabit ağırlığa ulaşana kadar kurutulmuş ve sonra meydana gelen ağırlık kaybı ilk ağırlığa orantılanarak nem miktarına karar verilmiştir. K-ZİF-8 nanokristallerinin kitin nanokompozit filmlerin suda çözünmesine etkisi Gontard vd. (1994) çalışmasında anlatılmış yöntem kullanılarak karar verilmiştir (Gontard vd., 1994). Suda çözünme testi için yaklaşık 2 santimetre çaplı film tartılıp 50 mililitre distile su içerisine konulmuş ve 24 saat 23°C sıcaklıkta 100 devir/dakika hızla karıştırılmıştır. Daha sonra filtre kağıdından geçirilmiş ve toplanan çözünmemiş kısım vakum fırınında sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur. Suda çözünme yüzdesi başlangıç ağırlığı, film nem değeri ve çözünme testinden sonra elde edilen kuru ağırlık kullanılarak hesaplanmıştır.

#### **Filmlerin Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi**

Hazırlanan filmlerin mekanik özelliklerine planlandığı gibi ASTM standart (ASTM D882-09,2009) yöntemi kullanılarak karar verilmiştir. Kısacası 8 cm x 2 cm ebatlarında filmler hazırlanmış tekstür analiz cihazı (Brookfield CT3 Texture Analyzer, ABD) kullanılarak gerilme direnci ve kopma esnemesine karar verilmiştir. Gerilme direncine, maksimum yükü filmin kesit alanına bölerek karar verilmiştir. Kopma esnemesi

(%), numunenin başlangıçtaki uzunluğu ile kopma anındaki uzunluğu arasındaki değişim yüzdesinden bulunmuştur. Ölçümler planlandığı üzere tip 1 ve tip 3 filmler için gerçekleştirilmiştir.

### **Su Buharı Geçirgenliği**

Filmlerin su buharı geçirgenliği, bazı modifikasyonlarla ASTM yöntemi E96-05'e (ASTM, 2005) göre belirlenmiştir. Analizlerde 50 mm çapında ve 10 mm derinliğinde yuvarlak PTFE teflon kaplar kullanılmıştır. Ölçümler planlandığı üzere tip 1 ve tip 3 filmler için gerçekleştirilmiştir. Film örnekleri daireler halinde kesilerek 6 ml distile su (23 °C, % 100 bağıl nem) içeren ağzı kapalı kaplara sabitlenmiş ve 23 °C sıcaklık ve %0 bağıl nemde silika jel içeren bir desikatöre yerleştirilmiştir. Film boyunca nüfuz eden su buharı, 10 saat boyunca, kapalı kapın her 2 saatte bir ağırlık kaybıyla ölçülmüştür. Filmlerin ölçülen su buharı geçirgenliği değerleri Eşitlik (2) kullanılarak hesaplanmıştır (Liu vd., 2018).

$$\text{Su Buharı Geçirgenliği} = \frac{SBİH}{(\Delta p)} \times X \quad (2)$$

Bu denklemde, SBİH, su buharı iletim hızı (g.m / s Pa m<sup>2</sup>), X ortalama film kalınlığı (mm) ve ΔP kısmi su buharı basıncını ifade etmektedir.

### **Isı direnci**

Isıl dayanıklılığı yüksek olan ZİF-8 ve K-ZİF-8 nanokristallerin ısı özelliklerine termogravimetrik analizle (TGA,SDT 650, TA Instruments, New Castle, USA) karar verilmiştir. Bu amaçla 5 mg örnek nitrojen gazı altında 5°C/dak ısıtma hızıyla oda sıcaklığından 700°C'ye kadar ısıtılmıştır. Tip 1 ve tip 3 filmlerin termal özelliklerine ise diferansiyel taramalı kalorimetri (DTK) (Perkin Elmer, DSC 4000, CT, ABD) ile yapılan karakterizasyon testleri sonucunda karar verilmiştir. Ölçümler için hazırlanan nanokristaller dondurmalı kurutucuda 48 saat süreyle kurutulmuşlardır. Küçük parçalar haline getirilen filmler, alüminyum DTK numune kabına (5-10 mg) yerleştirilmiş ve 0°C'dan 350°C'a 10°C/dak hızda ısıtılmıştır. Boş olarak kapatılan numune kabı, referans olarak kullanılmıştır.

### **Kurkumin Salınım Testleri**

Tip 3 nanokompozit filmlerin kurkumin salınım testleri Cano vd. (2016) çalışmasında ve güncel

Avrupa mevzuatına göre tarif edilen yöntemle yapılmıştır (Commission Regulation EU 10/2011)(Cano vd., 2016). Test edilecek filmler (3 cm x 4 cm) 20 ml olan farklı gıda uyarıcıların içerisine eklenmiştir. Uyarıcı A %10'luk etanol (hacim/hacim), uyarıcı B %3'luk asetik asit, uyarıcı C %20'lik etanol, uyarıcı D1 %50'lik etanol ve uyarıcı D2 oleik asit (bitkisel yağ olarak) olarak hazırlanmıştır. Örnekler 23°C sıcaklıkta karanlıkta çalkalanarak (100 devir/dakika) 7 gün inkübe edilmişlerdir. Salınan kurkumin miktarı 427 nm dalga boyunda ışık soğurma miktarındaki değişim farklı zaman aralıklarında ölçülerek ve kurkumin kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılarak tespit edilmiştir.

### **Filmlerin Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi**

#### **Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi**

Geliştirilen tip 1, tip 2 ve tip 3 filmlerin antimikrobiyal özelliklerini değerlendirmek için gram pozitif *Staphylococcus aureus* ve gram negatif *Escherichia coli* bakterileri kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite testleri Hafsa ve arkadaşlarının (2016) betimlediği disk difüzyon tekniği ile Kromojenik *E. coli* ve Baird Parker katı besiyeri (Diatek,Türkiye) üzerinde gerçekleştirilmiştir (Hafsa vd., 2016). Katı besiyerleri (Kromojenik *E. coli* ve Baird Parker) öncelikle 0.1 ml test edilecek bakteri (yaklaşık 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> koloni oluşturu birim (kob)/ml) ile aşılanmıştır. Daha sonra filmler aseptik olarak 2 cm yarıçaplı olarak kesildikten ve sterilizasyon amaçlı (filmin her iki yüzü) beşer dakika 325 nm dalga boyunda UV ışığına (16 W) maruz bırakıldıktan sonra katı besiyeri üzerine yerleştirilmiş ve 24 saat 37°C sıcaklıkta karanlıkta ve görünür ışık altında olmak üzere iki set halinde inkübe edilmiştir. Üç tip farklı nanokompozit filmlerin disk-difüzyon testlerinde bir set görünür ışık altında (400-800 nm dalga boyu, 15 W ışık enerjisi) test mevcuttur. İnkübasyon sonunda tüm disk-difüzyon testleri engelleme bölgesi ya da kolonisiz bölge (inhibition zone) 2 cm çaplı filmin etrafında kalan/oluşan temiz bölge (clear zone) dijital kumpas (BTS, PRC) yardımıyla ölçülerek karar verilmiştir.

### **Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi**

Üç tip film örneği kullanılarak DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikaline karşı giderme aktivitesi (scavenging activity) spektroskopik yöntemler ile belirlenmiştir. 50 mg film 3 ml metanol içerisinde çözünmüş ve bu çözeltiden bir miktar (500 µl) DPPH (0.06 mM) radikalinin metanol içerisinde hazırlanmış çözeltisine eklenmiştir (Siripatrawan ve Harte, 2010). Daha sonra iyice karıştırılıp karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika süreyle inkübe edilmiş ve ışık soğurma değeri 517 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Standart olarak troloks kullanılmıştır. Film örneklerine ek olarak, serbest radikal giderme aktivitesi belirleme çalışmasında negatif kontrol örneği olarak tip 1 ve tip 2 nanokompozit filmler kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak 1XMÖK, 5XMÖK ve 10XMÖK konsantrasyonuna tekabül eden kapsüllenmemiş kurkumin miktarı kullanılmış ve % DPPH radikal giderme aktivitesine karar verilmiştir.

### **Toplam Polifenol Miktarının Belirlenmesi**

Toplam fenolik miktarına Folin-Ciocalteu reaktifi yöntemi ile karar verilmiştir (Cai vd., 2016). Nanokompozit film uygulamaları için üç tip film örneği kullanılarak testler gerçekleştirilmiştir. 50 mg film 3 ml metanol içerisinde çözünmüş ve bu çözeltiden bir miktar (500 µl) Folin-Ciocalteu reaktifi (2.5 ml) içerisine eklenmiştir. Daha sonra üzerine doymuş sodyum karbonat çözeltisi (2 ml; 7.5% ağırlık/hacim) eklenmiştir. Oda sıcaklığında, karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra distile su eklenmiş şahit numuneye karşı 765 nm dalga boyunda ışık soğurması ölçülmüştür. Örnekler için elde edilen ışık soğurma değerleri çizilen gallik asit standart eğrisini tanımlayan regresyon eşitliğinde yerine konularak fenolik bileşik miktarı gallik asit cinsinden hesaplanmıştır. Aynı şekilde 1XMÖK, 5XMÖK ve 10XMÖK denk gelen kapsüllenmemiş kurkuminin toplam fenolik miktarına karar verilmiş ve pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Tip 1 ve tip 2 film örneklerinin toplam fenolik miktarı yukarıda anlatıldığı şekilde karar verilmiş ve bu örnekler negatif kontrol görevi görmüştür.

### **Film Dayanıklılık Testi**

Optimum kurkumin konsantrasyonu içeren K-ZİF-8 nanokristalli kitin nanokompozit filme

karar verildikten sonra paketlenme sonrası antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinde meydana gelen değişimler 28 gün boyunca gözlemlenmiştir. Bu amaçla, 20 adet 2 cm yarıçaplı film antimikrobiyal testleri için ve 20 adet 50 mg film örnekleri antioksidan testleri için aynı koşullarda hazırlanmıştır. Hazırlandıktan hemen sonra (sıfır gün) olmak üzere dörder film örneği her 7 günde (28 gün boyunca) antimikrobiyal ve antioksidan aktivite testlerine maruz bırakılmıştır. Test edilmeyen filmler 4°C sıcaklıkta %75 bağıl nem ile koşullandırılmış Nüve TK 252 ortam koşullandırıcının içerisinde görünür ışık altında (400-800 nm, 15 W) saklanmıştır. Böylece filmlerin ilk günden başlayarak dört hafta boyunca haftalık antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerindeki değişim takip edilebilmiş ve değerlendirilebilmiştir.

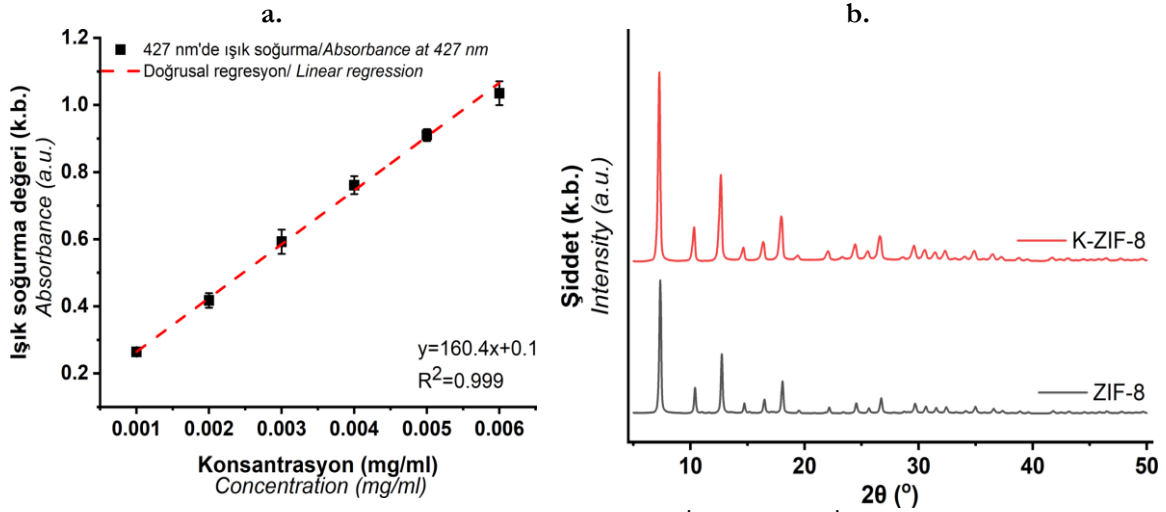
### **Veri Analizi**

Tüm deneyler için üç tekerrürlü olarak yapılmıştır. İstatiksel analizler tüm deney aşamalarında sonuçları değerlendirmek için istatistiksel analiz yazılımı (OriginPro) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneysel verilerin gruplar arasında istatistiksel anlamlılıkları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile incelenmiş ve farklılığın anlamlı bulunduğu veri grupları için ileri aşama testi (posthoc) olarak Tukey testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler için  $P < 0.05$  kriteri dikkate alınmıştır.

## **BULGULAR VE TARTIŞMA**

### **ZİF-8 ve K-ZİF-8 Sentezi ve Karakterizasyonu**

Kurkumin yüklenme randımanına yöntem bölümünde belirtildiği şekilde UV-Vis spektrometre kullanılarak karar verilmiştir. Öncelikle kurutulmuş ZİF-8 nanokristalleri (5 mg) 2 M HCl içerisinde parçalanmıştır. Daha sonra örneğin UV-Vis spektrometre ile 427 nm dalga boyunda etanol (2 ml) içerisinde ışık soğurması ölçülmüştür. Elde edilen ışık soğurma miktarı etanol içerisinde hazırlanan kurkumin standart eğrisi ile karşılaştırılmıştır (Şekil 1a). Kapsüllenme randımanına yüklenen kurkumin miktarı başlangıçta eklenen kurkumin miktarı ile orantılanarak  $74.8 \pm 1.83$  olarak karar verilmiştir.

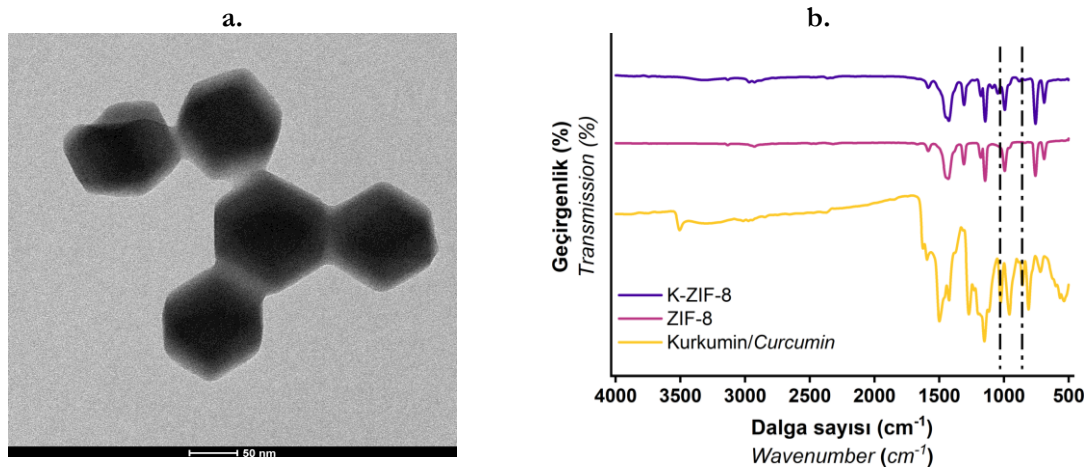


Şekil 1.a. Methanol içerisinde kurkumin standart eğrisi, b. ZİF-8 ve K- ZİF-8 nanokristallerinin XRD desenleri

Figure 1.a. Standart curve of curcumin in methanol, b. XRD patterns of ZIF-8 and K-ZIF-8 nanocrystals

Sentezlenen kristallerin referans XRD desenindeki tepe pozisyonları ile birebir örtüştüğü saptanmıştır (Park vd., 2006) (Şekil 1b). Toz XRD ile ölçülen ZİF-8 örneklerinde 7.42°, 10.4°, 12.7°, 14.7° ve 16.4° derece değerlerinde (110), (200), (211), (200) ve (310) düzlemlerine denk gelen yoğun 2θ kırınım zirveleri tespit edilmiştir (Nguyen vd., 2021). Sonuç olarak K-ZİF-8 kristalleri ile saf faz ZİF-8 kristallerinin 2θ kırınım zirvelerinin benzerliklerinden dolayı kristallerin benzer özellikler gösterdiğine karar verilmiştir.

ZİF-8 nanokristallerinin morfolojik özelliklerine Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) kullanılarak karar verilmiştir (Şekil 2a). Beklendiği gibi parçacıkların keskin altgen yüzeylere sahip nanokristaller olduğu ortaya çıkmıştır (Pan vd., 2011). Ortalama nanokristal boyutunun 50 nm olduğu gözlemlenmiştir. K-ZİF-8 TEM analizinde benzer sonuçlar elde edilmiştir.



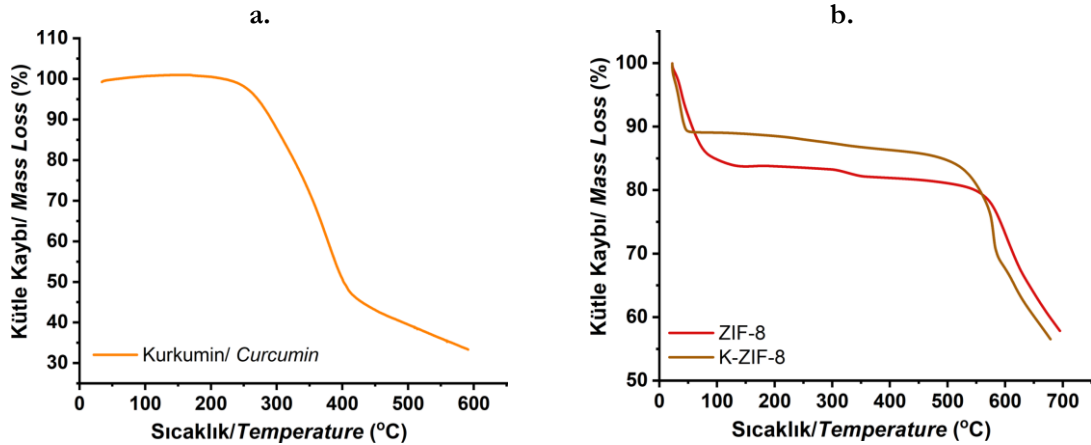
Şekil 2. a. ZİF-8 nanokristallerin TEM görüntüsü (ölçek çubuğu 50 nm). b. Kurkumin, ZİF-8 ve K-ZİF-8 örneklerinin FDKS tayfları

Figure 2.a. TEM image of ZIF-8 nanocrystals (scale bar: 50 nm) b. FTIR spectrum of curcumin, ZIF-8 and K-ZIF-8 samples



Kurkumin, ZİF-8 ve K-ZİF-8 yapısındaki muhtemel kimyasal bağ etkileşim ve değişimlerine Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FDKS) ile transmisyon modunda 4000 ile 500  $\text{cm}^{-1}$  aralığında karar verilmiştir (Şekil 2b). Kurkuminin FDKS tayfında 3509  $\text{cm}^{-1}$  bulunan bant fenollerin hidroksil grubuna, 1506, 1271 ve 1151  $\text{cm}^{-1}$  gözlemlenen bantlar sırasıyla benzen halkasının C=C, aromatik C-O ve C-O-C gerilim titreşimlerine bağlanmıştır (Tiwari vd., 2017). Bunların yanı sıra 1024 ve 856  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayılarında gözlemlenen bantlar kurkuminin karakteristik C-O gerilme titreşimi ile fenol yapının C-H titreşimlerine atfedilmiştir (Kolev vd., 2005). Ayrıca Şekil 2b'de ZİF-8 FDKS tayf bantlarının literatürle tutarlı olduğu görülmüştür. Örneklerin C=N, C=C ve C-C gerilme titreşimlerine ilişkin karakteristik sinyalleri, spektrumun 1600–1400  $\text{cm}^{-1}$  aralığında gözlenmiştir. Diğer taraftan C-N germe titreşim sinyali 1310 ve 1145  $\text{cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkmıştır (Zhang vd., 2018). Ayrıca, 758 ve 694  $\text{cm}^{-1}$ 'deki tepe noktaları, sırasıyla ZİF-8'lerin Zn-O ve Zn-N'sine atanmıştır (Huang vd., 2018; Yang vd., 2020). Bununla birlikte, literatürde kurkumin kapsüllenmiş ZİF-8 örneklerinde gözlemlendiği gibi bu çalışmada da K-ZİF-8 nanokristallerinin FDKS tayfındaki titreşim modları hemen hemen aynı kalmıştır. Bu da kurkuminin ZİF-8 içerisine kapsüllendikten sonra ZİF-8'de hiçbir faz değişikliği olmadığı şeklinde yorumlanmıştır (Zheng vd., 2015).

TGA yöntemi malzemenin sıcaklık artışı ile kütle kaybı ölçülerek ısıl kararlılığa karar verilme için kullanılmaktadır. Kurkumin zayıf hidrofilik yapısı nedeniyle 250 °C'ye kadar nem kaybı göstermezken, 250°C'den başlayarak termal bozunma nedeniyle belirgin kütle kaybı gözlemlenmeye başlanmıştır (Şekil 3a) (Bajpai vd., 2015). ZİF-8 nanokristallerinin ısıl kararlılığı literatürle uyumludur. Gözlemlenen yaklaşık %18.5'lik kütle kaybı nanokristalleri içerisinde hapsolmuş olan su ve alkol gibi misafir moleküllerin kaybına atfedilirken, 550°C civarı gözlemlenen ikinci aşama kütle kaybı ZİF-8 nanokristallerinin çerçeve yapılarının bozulmasına bağlanmıştır (Park vd., 2006). K-ZİF-8 örneğinde ilk kütle kaybı yaklaşık olarak %11.5 gözlemlenmiştir (Şekil 3b). İlk kütle kaybındaki bu azalış kurkuminin hidrofobik yapısı nedeniyle ZİF-8 çerçeve yapı içerisinde su ve alkol gibi hidrofilik yapıda misafir moleküllerin az miktarda olduğunun bir göstergesi olabilir. Yine aynı şekilde çerçeve yapının ısıl bozulmasının göstergesi olan ikinci aşama kütle kaybı K-ZİF-8 örneğinde boş ZİF-8 örneğine göre daha düşük sıcaklıkta başlamıştır. K-ZİF-8 örneğindeki ısıl bozulma sıcaklığındaki düşüş kapsüllenen kurkuminin düşük sıcaklıklarda bozulmaya başlamasına bağlanabilir (Tiwari vd., 2017). Şekil bilgisi, kristal yapı, faz saflığı, yüzey kimyası ve ısıl kararlılık testleri kurkuminin ZİF-8 nanokristalleri içerisine başarı ile kapsüllendiğini ve dolayısıyla K-ZİF-8 sentezinin başarı bir şekilde tamamlandığını gösterir niteliktedir.



Şekil 3. TGA eğrileri a. Kurkumin. b. ZİF-8 ve K-ZİF-8

Figure 3. TGA curves of a. curcumin b. ZIF-8 and K-ZIF-8

### Nanokompozit Film Karakterizasyonu Filmlerin Mekanik, Bariyer ve Optik Özellikleri

Mekanik özelliklerin tespiti tip 1 ve tip 3 filmler için gerçekleştirilmiştir. Çizelge 1’de elde edilen sonuçlar özetlenmiştir. Mekanik özellikler filmlerin moleküller arası bağ kuvvetleriyle fazlasıyla ilişkilidir. Filmlerin gerilme dirençlerinin ZİF-8 konsantrasyonu ile artma eğiliminde olduğu gözlemlenmiştir. Gözlemlenen artış sert yapıdaki ZİF-8 nanokristallerinin mantar filmin polimer zincir kuvvetini olumlu yönde etkilemesi ile açıklanabilir (Qian vd., 2018). Ancak söz konusu artış istatistiksel olarak önemli değildir ( $P < 0.05$ ). Aynı şekilde, ZİF-8 nanokristallerinin nanokompozit film yapısına eklenmesi filmlerin kopma esnemesinde yüksek konsantrasyonlarda düşüşe sebebiyet verse de bu etkinin istatistiksel olarak önemli olmadığı kaydedilmiştir. Benzer bir etki ZİF-8 nanokristalleri kitosan ve polietilen oksit elektroğrılmış nanofillerin içerisine eklendiğinde gözlemlenmiştir (Kohsari vd., 2016). Düşük konsantrasyonlarda ZİF-8 nanokristalleri polimer yapının esnekliğini arttırmış fakat yüksek konsantrasyonlarda tam tersi bir etki göstererek en düşük esnekliğin elde edilmesine sebebiyet

vermiştir. Yüksek konsantrasyonlarda gözlemlenen bu düşüş ZİF-8 nanokristallerinin polimer yapı içerisinde iyi yayılmayarak toplanmasına bağlanabilir.

Su buharı direk olarak ürün kalitesini ve raf ömrünü etkilemektedir. Çünkü paket için kullanılan malzeme iç ve dış çevre arasında su buharı transferine olanak verebilmektedir. Düşük su buharı geçirgenliği paket malzemeleri için en önemli gerekliliklerdendir. Çizelge 1’de gösterildiği üzere tip 1 kitin filmin su buharı geçirgenliği  $3.43 \times 10^{-10}$  g.m/s.Pa.m<sup>2</sup> olup yaygın olarak paket malzemesi olarak kullanılan ve su buharı geçirgenliği  $4 \times 10^{-13}$  g.m/s.Pa.m<sup>2</sup> ile  $9.5 \times 10^{-13}$  g.m/s.Pa.m<sup>2</sup> arasında değişen sentetik polietilen filmlere göre oldukça yüksektir (Salame ve Steingiser, 1977). K-ZİF-8 nanokristallerinin farklı konsantrasyonlarda tip 3 filmlerin üretimi için yapıya eklenmesi su buharı geçirgenliğinde istatistiksel olarak önemli olan bir değişikliğe sebep olmamıştır. Mevcut çalışmada gözlemlenen artış eğilimi ZİF-8 nanokristallerinin kitin kompozit film içerisindeki gözenekliliği ve dolayısıyla gaz geçirgenliğini arttırması ile açıklanabilir (Lee vd., 2009).

Çizelge 1. Tip 1 ve tip 3 filmlerin gerilme direnci, kopma esnemesi, su buharı geçirgenliği ve suda çözünmesi

Table 1. Tensile strength, elongation at break, water vapor permeability and water solubility of type 1 and type 3 films

Örnek Sample	Gerilme direnci $\times 10^6$ (N/m <sup>2</sup> ) Tensile strength $\times 10^6$ (N/m <sup>2</sup> )	Kopma esnemesi (%) Elongation at break (%)	Su Buharı Geçirgenliği $\times 10^{-10}$ (g.m/s.Pa.m <sup>2</sup> ) Water vapor permeability $\times 10^{-10}$ (g.m/s.Pa.m <sup>2</sup> )	Suda çözünme (%) Water solubility (%)
Tip 1 kitin film Type 1 chitin film	19.9 $\pm$ 4.65 <sup>a</sup>	10.16 $\pm$ 2.851 <sup>a</sup>	3.43 $\pm$ 0.129 <sup>a</sup>	21.03 $\pm$ 2.444 <sup>a</sup>
Tip 3 kitin film 1xMÖK değerinde K-ZİF-8 Type 3 chitin film 1xMIC equivalent K-ZIF-8	25.7 $\pm$ 2.31 <sup>a</sup>	11.78 $\pm$ 1.555 <sup>a</sup>	3.60 $\pm$ 0.601 <sup>a</sup>	7.22 $\pm$ 2.222 <sup>b</sup>
Tip 3 kitin film 5xMÖK değerinde K-ZİF-8 Type 3 chitin film 5xMIC equivalent K-ZIF-8	26.1 $\pm$ 0.66 <sup>a</sup>	10.62 $\pm$ 1.954 <sup>a</sup>	3.96 $\pm$ 0.132 <sup>a</sup>	7.48 $\pm$ 2.231 <sup>b</sup>
Tip 3 kitin film 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 Type 3 chitin film 10xMIC equivalent K-ZIF-8	27.2 $\pm$ 4.70 <sup>a</sup>	7.14 $\pm$ 0.990 <sup>a</sup>	4.27 $\pm$ 0.618 <sup>a</sup>	7.26 $\pm$ 0.793 <sup>b</sup>

\*Aynı sırada farklı harfler önemli farklılığı gösterir ( $P < 0.05$ ).

\* Different letters in the same column show the significance ( $P < 0.05$ ).

Sabit sürede tip 1 ve tip 3 filmlerin suda çözünürlüklerin istatistiksel olarak birbirinden oldukça farklı olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 1). K-ZİF-8 eklenmiş tip 3 filmlerin suda çözünürlükleri, K-ZİF-8 miktarı fark etmeksizin tip 1 kontrol filmlerine göre oldukça düşüktür. Suda çözünmedeki söz konusu azalışı kurkuminin ve ZİF-8 nanokristallerinin sahip olduğu yüksek hidrofobik özelliğe bağlanabilir (Musso vd., 2017; Roy ve Rhim, 2020; Zhang vd., 2018). Kurkumin hidrofobik yapısı nedeniyle pH 1 ve 7 arasında su ile etkileşimi çok az olan diferuloylmetan formundadır (Musso vd., 2017). Diğer taraftan ZİF-8 nanokristallerinin çerçeve yapısının oldukça hidrofobik olmasının nedeni imidazolat bağlayıcının hidrofilik fonksiyonel gruplar içermemesinden kaynaklanır (Zhang vd., 2018). Suda çözünme testlerinde ZİF-8 içerisine kapsüllenmiş kurkumin su ile etkileşime geçmeyerek ZİF-8 ile beraber suda çözünürlüğü oldukça düşürmüştür.

Diferansiyel Tarama Kalorimetre (DTK) kullanılarak nanokompozit filmlerin termal özelliklerine karar verilmiştir (Çizelge 2). Filmler

termal teste başlanmadan önce 25°C ve %50 bağıl nem altında iki hafta ön koşullandırılmış ve filmler DTK analizlerine koşullandırmadan sonra maruz bırakılmışlardır. Ölçümler 0 ile 350°C sıcaklık değerleri arasında yapılmıştır. Kitin, kristal yapısının bozulması için yüksek ısı enerjisine ihtiyaç duyan bir biyopolimerdir (Bershtein vd., 1994). DTK ölçümleri incelendiğinde tip 1 ve tip 3 numunelerde benzer tepe noktalarının elde edildiği görülmüştür. İlk tepe nokta 100 ile 200°C arasında geniş bir endotermik tepe olarak 175°C civarında gözlemlenmiştir. Söz konusu tepe nokta yapı içerisinde hapsolmuş suyun buharlaşmasına atfedilmiştir (Nam vd., 2010). K-ZİF-8 ilavesi ve konsantrasyonunun kitin filmler içerisinde artmasıyla beraber ilk tepe noktanın ve karşılık gelen entalpi değişimlerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu azalışın sebebi oldukça hidrofobik kurkumin ve ZİF-8 içerisine eklenen kitin nanokompozit filmlerin su tutma kapasitesinin azalması ve su ile yapının etkileşiminin zayıflamasıdır (Nam vd., 2010). Gözlemlenen ikinci endotermik tepe noktası kitinin yapısının bozulmasıyla açıklanmıştır (Saravana vd., 2018).

Çizelge 2. Tip 1 ve tip 3 kitin nanokompozit filmlerin geçiş sıcaklıkları ve karşılık gelen entalpi değişimi  
Table 2. Transition temperatures and corresponding enthalpy changes of type1 and type 3 chitin nanocomposite films

		Tepe 1 Peak 1	Tepe 2 Peak 2
Tip 1 kitin film	T °C	178.66	278.50
Type 1 chitin film	$\Delta H$ (J/g)	111.736	59.359
Tip 3 kitin film 1xMÖK K-ZİF-8 ile	T °C	172.04	300.99
Type 3 chitin film with 1xMIC K-ZIF-8	$\Delta H$ (J/g)	75.963	34.444
Tip 3 kitin film 5xMÖK K-ZİF-8 ile	T °C	167.08	304.14
Type 3 chitin film with 5xMIC K-ZIF-8	$\Delta H$ (J/g)	43.162	59.533
Tip 3 kitin film 10xMÖK K-ZİF-8 ile	T °C	173.11	298.06
Type 3 chitin film with 10xMIC K-ZIF-8	$\Delta H$ (J/g)	52.941	108.941

Son olarak Tip 1, tip 2 ve tip 3 filmlerin optik özelliklerine ışık geçirgenliklerine göre karar verilmiştir (Çizelge 3). Işık geçirgenliği özellikle kurkuminin antimikrobiyal uygulamalarda görünür ışık dalga boyunun etkili çalışabilmesi için önem arz etmektedir. Düşük şeffaflık değerleri filmlerin görünür ışık altında daha şeffaf olduğunu gösterir (Vidal vd., 2020). Tip 1 kitin filmler ZİF-8 yüklenmiş filmlere göre daha opak olduğu sonucuna varılmıştır. Diğer taraftan ZİF-8 eklendiğinde filmlerin şeffaflık değerleri artmıştır.

K-ZİF-8 konsantrasyonu kitin film içerisinde arttığında tip 3 filmlerde şeffaflığın azaldığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde literatürde kurkumin konsantrasyonundaki artışla oldukça şeffaf olan polilaktik asit kompozit filmlerinin ışık geçirgenliğinin önemli oranda düştüğü raporlanmıştır (Roy ve Rhim 2020). Yapılan çalışmalar sonunda genel olarak tip 1 ve tip 3 filmler arasında önemli bir özellik değişimi olmadığı gözlemlenmiştir. Filmlerin mekanik, bariyer ve optik özellikleri incelendiğinde filmlerin

gıda paket malzemesi olarak kullanılmaya müsait olduğu kanaatine varılmıştır.

Çizelge 3. Tip 1, tip 2 ve tip 3 kitin nanokompozit filmlerin şeffaflık değerleri, toplam fenolik miktarları ve DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri

Table 3. Transparency values, total phenolic contents and DPPH free radical scavenging activities of type 1, type 2 and type 3 chitin nanocomposite films

Örnek Sample	600 nm'de şeffaflık değeri Transparency value at 600 nm	Toplam fenolik miktarı (mg galik asit/g) Total phenolic content (mg gallic acid/g)	% DPPH serbest radikal giderme aktivitesi %DPPH free radical scavenging activity
Tip 1 kitin film Type 1 chitin film	1.92±0.001 <sup>a</sup>	22.01±0.242 <sup>a</sup>	4.09±0.165 <sup>a</sup>
Tip 2 kitin film ZİF-8 ile Type 2 chitin film with ZIF-8	1.49±0.001 <sup>b</sup>	22.72±1.789 <sup>a</sup>	4.47±0.215 <sup>a</sup>
Tip 3 kitin film 1xMÖK K-ZİF-8 ile Type 3 chitin film with 1xMIC K-ZIF-8	1.41±0.005 <sup>c</sup>	23.77±0.302 <sup>a</sup>	11.26±0.111 <sup>b</sup>
Tip 3 kitin film 5xMÖK K-ZİF-8 ile Type 3 chitin film with 5xMIC K-ZIF-8	1.45±0.016 <sup>bc</sup>	25.05±0.303 <sup>a</sup>	14.76±1.022 <sup>c</sup>
Tip 3 kitin film 10xMÖK K-ZİF-8 ile Type 3 chitin film with 1xMIC K-ZIF-8	1.49±0.003 <sup>b</sup>	34.32±0.121 <sup>b</sup>	19.29±0.094 <sup>d</sup>

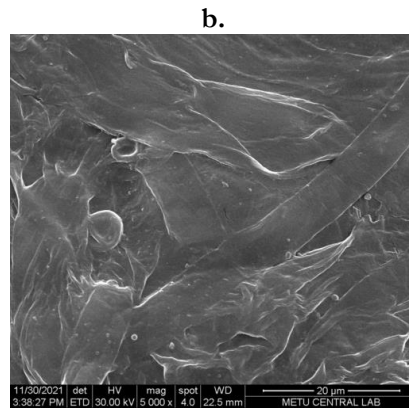
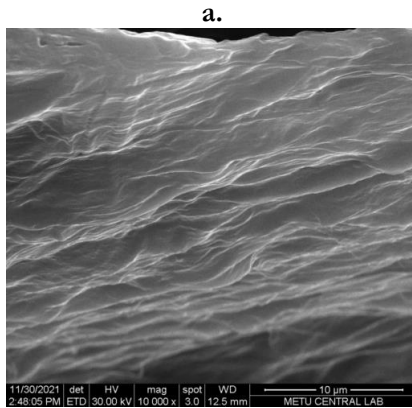
\*Aynı sırada farklı harfler önemli farklılığı gösterir ( $P < 0.05$ ).

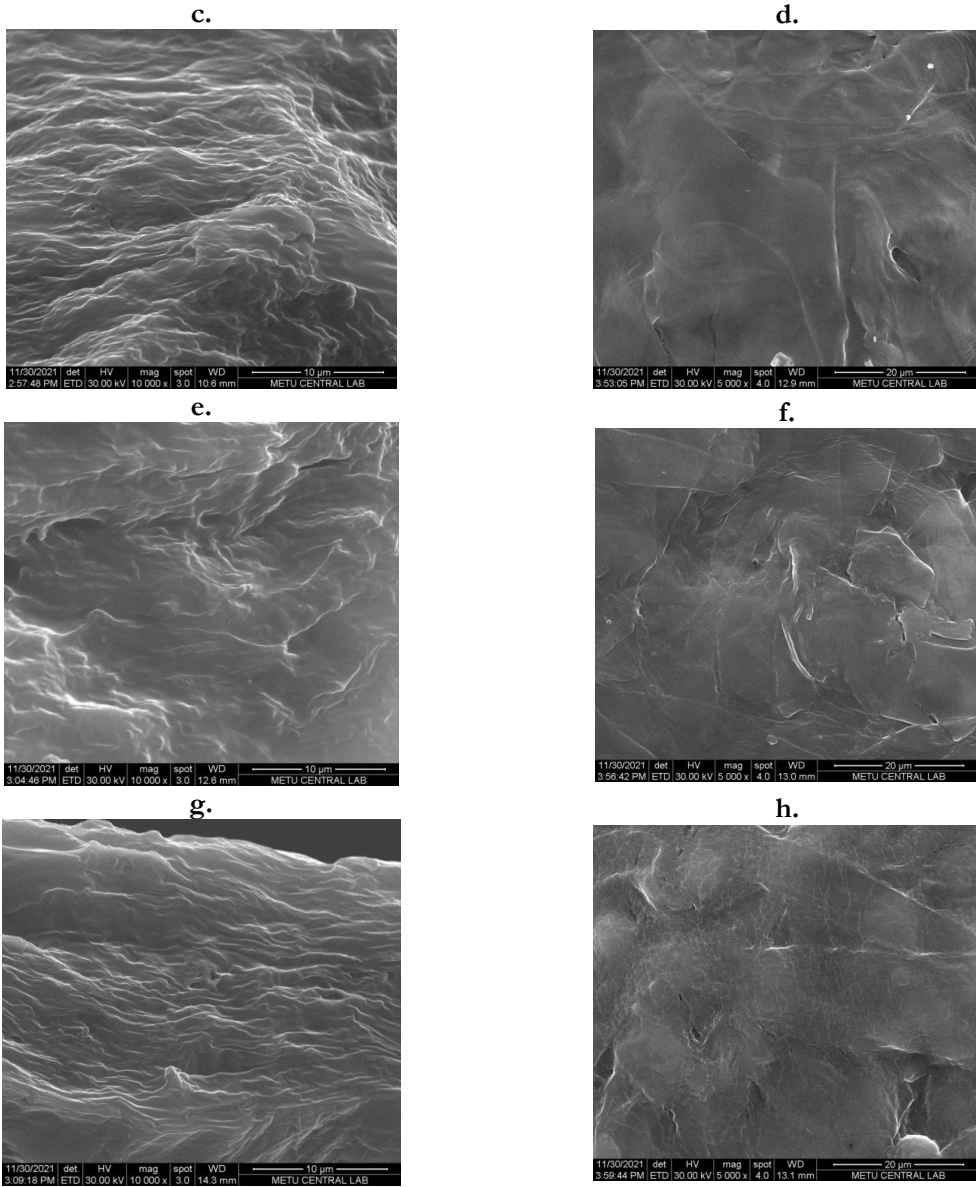
\* Different letters in the same column show the significance ( $P < 0.05$ ).

### Filmlerin Morfolojik Analizleri

Nanokompozit film yüzey ve mikro yapı bilgilerinin incelenmesi için Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskopi (FESEM) ile görüntüleme yapılmıştır (Şekil 4). Yan kesit ve yüzey alan görüntülerinde tip 1 ya da tip 3 film olması fark etmeksizin dalgalı ve pürüzlü bir sonuç elde edilmiştir. Söz konusu sonuç, belirgin bir şekilde mevcut FESEM büyütme seviyesinde gözlemlenememiş olsa da mantardan kitin

nanokompozit film elde etme işlemi sırasında oluşan kitin nanoliflerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Fazlı Wan Nawawi vd., 2019). FESEM analizleri film yüzeyinde nanoparçacık toplanması olup olmadığını ve nanoparçacık ile film polimer yapısı uyumluluğuna karar vermek için de kullanılmaktadır (Aziz vd., 2019). Tip 3 filmlerin yan kesit ve yüzey alanı görüntülerinde K-ZİF-8 nanokristallerinin toplanması ile ilgili herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.





Şekil 4. Kitin nanokompozit filmlerin Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüleri. (a) Tip 1 kitin film yan kesiti (10000x büyütme), (b) Tip 1 kitin film yüzey görüntüsü (5000x büyütme), (c) Tip 3 1xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yan kesiti (10000x büyütme), (d) Tip 3 1xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yüzey görüntüsü (5000x büyütme), (e) Tip 3 5xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yan kesiti (10000x büyütme), (f) Tip 3 5xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yüzey görüntüsü (5000x büyütme), (g) Tip 3 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yüklenmiş yan kesiti (10000x büyütme), (h) Tip 3 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 ile yüklenmiş kitin film yüzey görüntüsü (5000x büyütme)

Figure 4. TEM images of chitin nanocomposite films (a) Type 1 chitin film, side view (10000x magnification), (b) Type 1 chitin film, top view (5000x magnification), (c) Type 3 1xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, side view (10000x magnification), (d) Type 3 1xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, top view (5000x magnification), (e) Type 3 5xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, side view (10000x magnification), (f) Type 3 5xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, top view (5000x magnification), (g) Type 3 10xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, side view (10000x magnification), (h) Type 3 10xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded chitin film, top view (5000x magnification)

### Toplam Fenolik Miktarının Tespiti

Çizelge 3'de tip 1 kitin nanokompozit filmlerin toplam fenolik miktarı kültür mantarının (*Agaricus bisporus*) literatürde verilen 3.1-3.9 g galik asit/100 gram değerine çok yakın çıkmıştır (Savoie vd., 2008). Kültür mantarında mevcut fenolün büyük bir kısmı melanojen fenollerden ve vitaminlerden gelmektedir (Sommer vd., 2009). Tip 2 filmin içerisine eklenen boş ZİF-8 nanokristallerinin herhangi bir fenol aktivitesine rastlanmamıştır. Bu nedenle tip 1 ve tip 2 filmlerinin toplam fenol değerlerinde herhangi bir farka rastlanmamıştır. Mevcut toplam fenolik değeri iki film için ana yapıyı oluşturan mantardan gelmektedir. Kurkumin düşük moleküler ağırlıklı polifenollerdir. Beklendiği gibi tip 3 filmlerde toplam fenol miktarı film içerisine eklenen K-ZİF-8 arttıkça artmıştır (Ma vd., 2017).

### Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Çizelge 3'de gösterildiği üzere mantardan elde edilen kitin tabanlı filmlerde yüksek antioksidan aktiviteye rastlanmamıştır. Kültür mantarının (*Agaricus bisporus*) % DPPH serbest radikal giderme aktivitesi %3 civarında raporlanmıştır (Reis vd. 2012). Tip 1 film sadece mantardan özütlenmiş kitin ve glukandan üretilmiştir bu nedenle DPPH serbest radikal giderme aktivitesi kültür mantarının literatürde gösterilen değerine

oldukça yakındır. Tip 2 filmin içerisine eklenen boş ZİF-8 nanokristallerinin herhangi bir antioksidan aktivitesine rastlanmamıştır. Bu nedenle tip 1 ve tip 2 filmlerinin % DPPH serbest radikal giderme aktivitesinde istatistiksel bir farka rastlanmamıştır. Tip 3 filmlerde K-ZİF-8 konsantrasyonu arttıkça % DPPH serbest radikal giderme aktivitesinde dikkate değer artış gözlenmiştir. Her ne kadar kurkuminin fenolik hidroksil grubunun hidrojen atomu verme yeteneği antioksidan yeteneğinin başlıca sorumlusu olsa da kurkuminin  $\beta$ -diketon yapısının metilen grubu da kurkuminin antioksidan aktivitesine katkıda bulunur (Roy ve Rhim 2020). Bu nedenle tip 3 filmler kurkumin içerikleriyle en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermişlerdir.

### Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite testleri Hafsa ve arkadaşlarının (2016) betimlediği disk difüzyon tekniği ile Kromojenik *E. coli* ve Baird Parker katı besiyeri (Diatek, Türkiye) üzerinde gerçekleştirilmiştir (Hafsa vd., 2016). Antimikrobiyal aktiviteye disk-difüzyon testlerinde 2 cm çaplı film besiyeri üzerine yerleştirilerek ve etrafında kalan/oluşan temiz bölge ölçülerek karar verilmiştir. Testler tüm film tiplerinde gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4'de özetlenmiştir.

Çizelge 4. Disk difüzyon metoduyla *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı belirlenen kolonisiz bölge (cm)

Table 4. Inhibition zone (cm) determined by disc diffusion method against *E. Coli* and *S. Aureus* bacteria

	Işıksız/without light		Işıklı/with light	
	Kolonisiz bölge (cm)		Kolonisiz bölge (cm)	
	Inhibition zone (cm)		Inhibition zone (cm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Tip 1 kitin film		Oluşmadı		Oluşmadı
Type 1 chitin film	4.41±0.14 <sup>a</sup>	No zone	4.76±0.34 <sup>a</sup>	No zone
Tip 2 kitin film ZİF-8 ile		Oluşmadı		Oluşmadı
Type 2 chitin film with ZIF-8	4.46±0.07 <sup>a</sup>	No zone	4.64±0.21 <sup>a</sup>	No zone
Tip 3 kitin film 1xMÖK K-ZİF-8 ile		0.115±0.007 <sup>a</sup>		Oluşmadı
Type 3 chitin film with 1xMIC K-ZIF-8	4.55±0.07 <sup>a</sup>		4.39±0.14 <sup>a</sup>	No zone
Tip 3 kitin film 5xMÖK K-ZİF-8 ile		0.110±0.014 <sup>a</sup>		Oluşmadı
Type 3 chitin film with 5xMIC K-ZIF-8	5.12±0.14 <sup>b</sup>		4.53±0.07 <sup>a</sup>	No zone
Tip 3 kitin film 10xMÖK K-ZİF-8 ile		0.085±0.007 <sup>a</sup>		Oluşmadı
Type 3 chitin film with 10xMIC K-ZIF-8	5.76±0.07 <sup>c</sup>		4.42±0.14 <sup>a</sup>	No zone

\* Aynı sırada farklı harfler önemli farklılığı gösterir ( $P < 0.05$ ).

\* Different letters in the same column show the significance ( $P < 0.05$ ).

Kullanılan kromojenik besiyeri *E.coli*'nin beta glukonidaz ve beta galaktosidaz aktivitelerine karşı seçicidir ve *E.coli*'nin büyümesi durumunda mavi/turkuaz koloniler oluşarak besiyerinin rengini maviye dönüştürmektedir (Şekil 5). Aynı şekilde Baird Parker besiyeri *S.aureus*'un lipoliz ve proteoliz aktivitelerine karşı seçicidir ve büyüme sonucunda siyah etrafı haleli koloniler oluşarak besiyerinin rengini siyaha dönüştürmektedir (Şekil 5). Mevcut çalışmada elde edilen tüm filmler Nawawi ve arkadaşlarının yöntemi ile kültür mantardan (*Agaricus bisporus*) kitin özütlenerek ve gliserol eklenerek elde edilmiştir (Fazli Wan Nawawi vd., 2019). Fazli Wan Nawawi ve arkadaşlarının söz konusu çalışmasında elde edilen film yapılarının kitin nanolifleri ile yüksek oranda glukandan oluştuğu gösterilmiştir (Fazli Wan Nawawi vd., 2019). Mantardan elde edilen tip 1 kitin nanokompozit filmlerin K-ZİF-8 eklemeyen dahi gram negatif *E.coli* kolonilerinin büyümesine karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir. Daha önce yapılan pek çok çalışmada kitin nanoliflerinin antimikrobiyal aktivitesi gösterilmiştir (Li vd., 2016;Riaz Rajoka vd., 2020). Kitinin deasetilasyonu ile elde edilen kitosanın gram negatif bakterilere karşı olan antimikrobiyal etkisi son yıllarda artarak farklı çalışmalarda gösterilmiştir. Söz konusu antimikrobiyal mekanizmanın nedeni şu şekilde özetlenebilir: (i) kitosan yüzeyindeki pozitif yüklü katyonik grupların gram negatif bakteri hücre zarındaki aniyonik gruplarla etkileşime geçerek, hücre içi unsurların hücreden sızmasına sebep olması; (ii) düşük moleküler ağırlıklı kitosanın hücre içerisine girerek RNA ve protein sentezini engellemesi; (iii) kitosanın kısaçaplı molekül gibi davranarak metalleri bağlayarak hücrenin büyümesini ve toksin üretimini önlemesidir (Papineau vd., 1991;Liu vd., 2001;Li vd., 2016). Yukarıda sıralanan sebepler kitin nanoliflerinden oluşan mantar tabanlı kitin nanokompozit filmlerin gram negatif *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal etkisini açıklamak için kullanılabilir. Ancak söz konusu etkinin gram pozitif *S.aureus* için aynı şekilde geçerli olmadığı görülmektedir. Bunun sebebi ise kitin nanokompozit yapının ve *S. aureus* bakteri yüzeyinin pozitif yüklü olmasından dolayı kitinin *S. aureus* kolonileriyle etkileşiminin sınırlı olmasıyla açıklanabilir (Li vd., 2016). Tip 1 ve tip

2 nanokitin filmler arasında antimikrobiyal etki bakımından herhangi bir farka rastlanmamıştır. İki film arasındaki tek fark tip 2 filme boş ZİF-8 nanokristallerinin eklenmiş olmasıdır. Daha önce yapılan çalışmalarda boş ZİF-8 nanokristallerinin mevcut çalışmada olduğu gibi *E. coli* ve *S. aureus* patojenlerine karşı antimikrobiyal bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Fu vd.,2022). Tip 3 filmler içerisinde istatistiksel olarak önemli farklılık K-ZİF-8 konsantrasyonu 5XMÖK ve üstüne çıktığında gözlemlenmiştir. Gözlemlenen farkın kurkuminin öncelikli olarak ZİF-8 içerisinden salınarak gram negatif bakteri koloni oluşumunu engellediği düşünülmektedir. Kurkuminin *E. coli* ve *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etkisi pek çok çalışmada gösterilmiştir. Ancak bu çalışmalarda gözlemlenen kurkuminin farklı antimikrobiyal etkisi, bakterilerin farklı özellik gösteren hücre zarlarıyla alakalıdır (Tyagi vd., 2015). Kurkuminin benzer şekilde *E. coli* kolonilerinin büyümesine karşı oldukça etkili olduğu ancak aynı etkiyi *S. aureus* kolonilerinin büyümesine karşı gösteremediği, kurkumin zein ve glukomannan nanoliflerinin içerisine eklendiğinde gözlemlenmiştir (Wang vd., 2019).

Kurkuminin gram negatif ve gram pozitif bakterilerin koloni büyümelerine karşı gösterdiği antimikrobiyal etki farkı bakterilerin hücre duvarı farklılıkları ile açıklanabilir (Bhawana vd., 2011). Bir diğer sebep kurkuminin iki farklı katı besiyerindeki farklı difüzyon hızlarıyla açıklanabilir (Suppakul vd., 2003). Literatürde kurkumine karşı gözlemlenen farklılıkların bakterilerin farklı dirençte olan suşlarının kullanımdan da kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir.

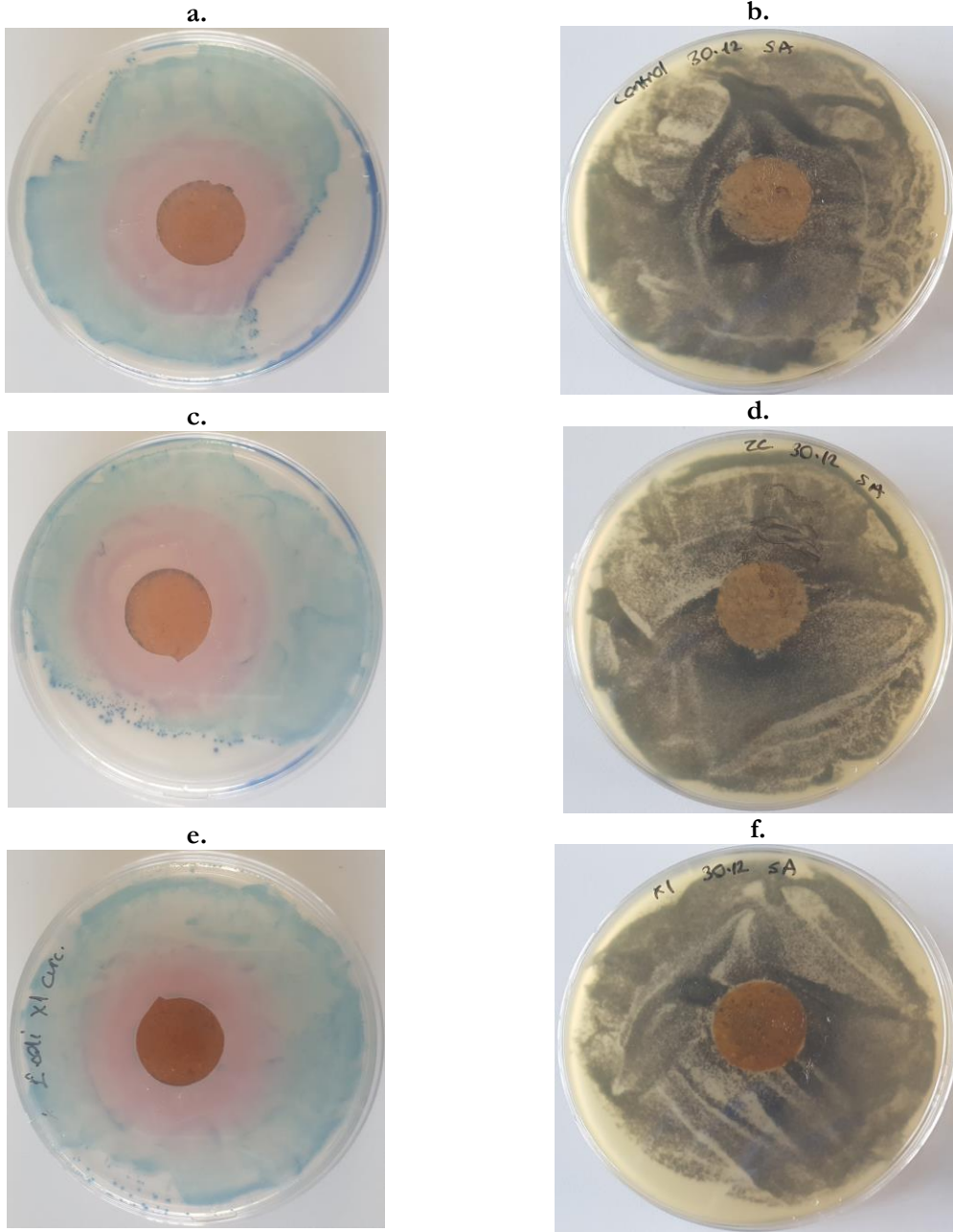
### Filmlerden Kurkumin Salınım Testleri

Çalışmanın en önemli çıktılarından bir tanesi kurkuminin zamanla aktif paket malzemesi içerisinden salınarak paket içerisindeki gıdayı korumasıdır. Bu nedenle 5 farklı uyarıcı içerisinden salınım testleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 6). Tip 3 kitin filmlerinin kurkuminin salınım analizlerinde genel eğilim ilk hızlı bir salınım sonrasında yavaşlayarak salınımın dengeye ulaştığı görülmüştür. Benzer sonuçlar kurkumin tara gum

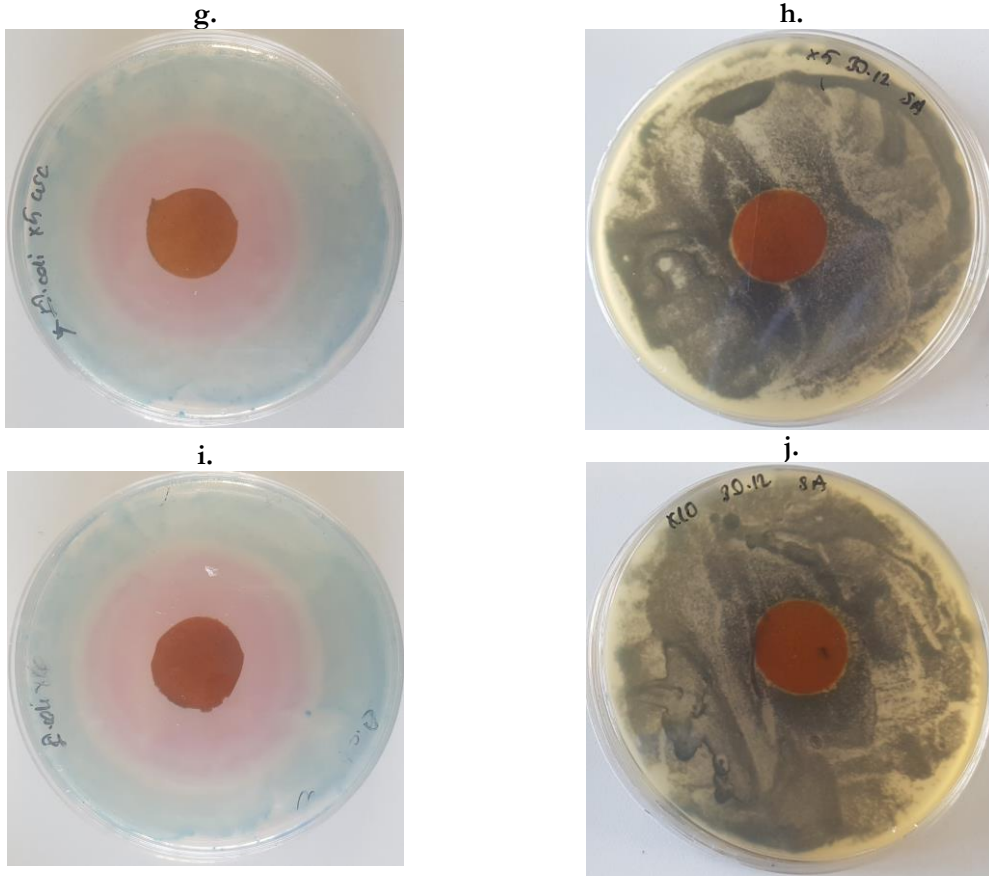
## Kurkumin yüklenmiş zeolitik imidazolat çerçeve-8 ile aktif film geliştirilmesi

ve polivinil alkol filmleri ile peynir altı proteini isolatlarından elde edilen filmler içerisine eklendiğinde elde edilmiştir (Ma vd., 2017; Kevij vd.,2020). K-ZİF-8 konsantrasyonu ile beraber kurkumin konsantrasyonu kitin filmler içinde arttıkça kurkumin salınım hızı artmıştır (Guo vd. 2011). Uyarıcılar içerisinde en yüksek salınım uyarıcı D2 sonrasında uyarıcı D1’de gözlemlenmiştir. Kurkuminin oleik asit içerisinde

gözlemlenen yüksek salınımı kurkuminin yapısal olarak yağ sever olmasından kaynaklanmaktadır (Kevij vd.,2020). Benzer şekilde etanol içerisinde çözünürlüğü yüksek olan kurkumin %50’lik etanol olan uyarıcı D1 içerisinde de oldukça yüksek bir salınım göstermiştir (Ramos vd., 2014). Özetle tip 3 filmler içerisinde kurkumin test edilen uyarıcılar içerisinde belirli ölçülerde salınım göstermiştir.

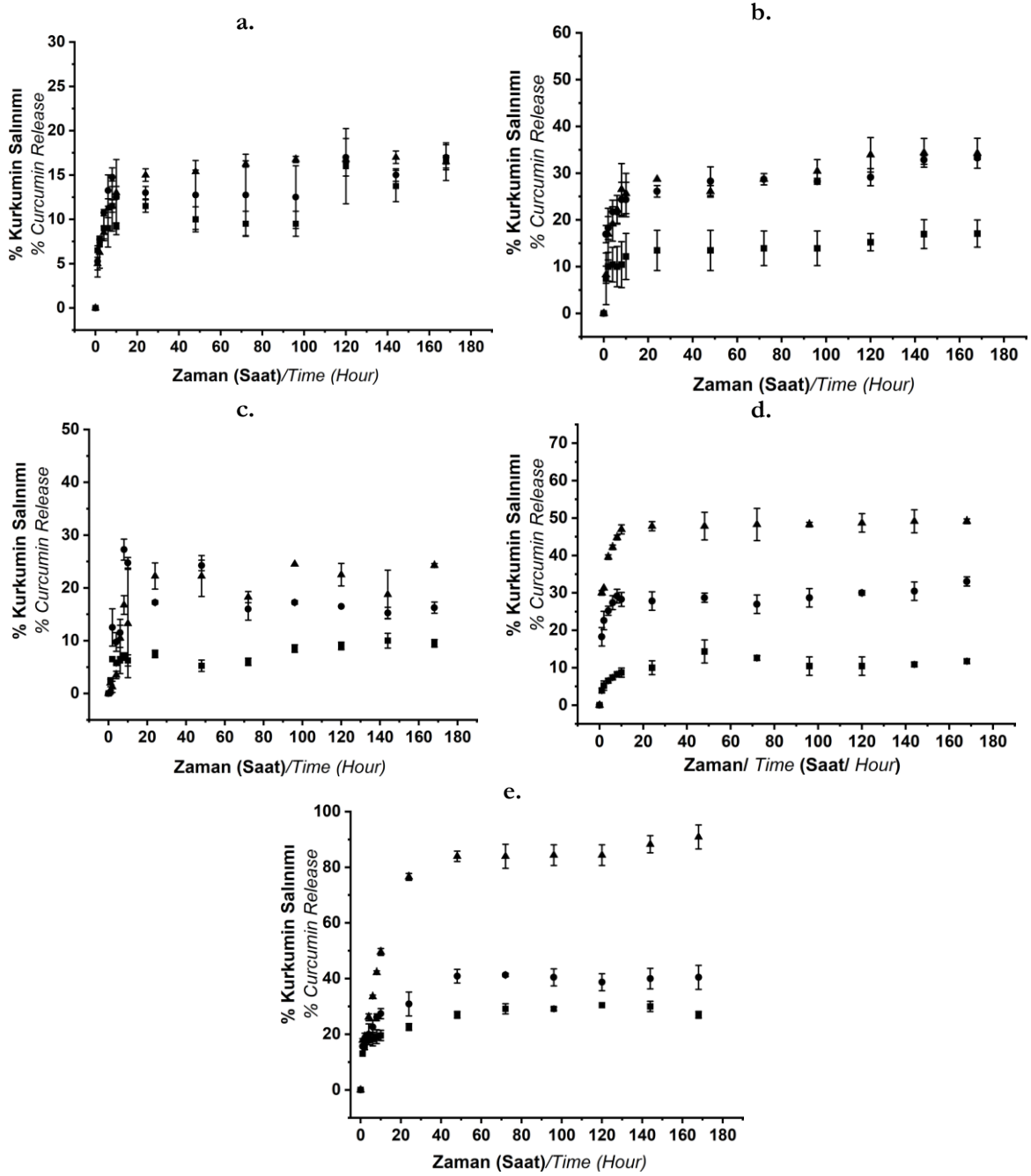






Şekil 5. Antimikrobiyal testleri disk difüzyon metodu ile tip 1 kitin nanokompozit filmleri için (a) *E. coli* ve (b) *S. Aureus* bakterilerine karşı, tip 2 kitin nanokompozit filmleri için (c) *E.coli* ve (d) *S. aureus* bakterilerine karşı, 1xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin film için (e) *E.coli* ve (f) *S. aureus* bakterilerine karşı, 5xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin film için (g) *E. coli* ve (h) *S. aureus* bakterilerine karşı, 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin film için (i) *E. coli* ve (j) *S. aureus* bakterilerine karşı gösterilmiştir.

Figure 5. Antimicrobial tests with disc diffusion method for type 1 chitin nanocomposite films against (a) *E. coli* and (b) *S. aureus* bacteria, for type 2 chitin nanocomposite films against (c) *E. coli* and (d) *S. aureus* bacteria, for 1xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded type 3 chitin film against (e) *E. coli* and (f) *S. aureus* bacteria, for 5xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded type 3 chitin film against (g) *E. coli* and (h) *S. aureus* bacteria, for 10xMIC equivalent K-ZIF-8 loaded type 3 chitin film against (i) *E. coli* and (j) *S. aureus* bacteria were illustrated.



Şekil 6. Farklı uyarıcılar içerisinde tip 3 kitin filmlerin % kurkumin salınımı (a) uyarıcı A içerisinde, (b) uyarıcı B içerisinde, (c) uyarıcı C içerisinde, (d) uyarıcı D1 içerisinde, (e) uyarıcı D2 içerisinde.

■ Tip 3 Kitin Film 1XMÖK K-ZİF-8 ile, ● Tip 3 Kitin Film 5XMÖK K-ZİF-8 ile, ▲ Tip 3 Kitin Film 10XMÖK K-ZİF-8 ile

Figure 6. In different stimulants, % curcumin release for type 3 chitin films (a) in stimulant A, (b) in stimulant B, (c) in stimulant C, (d) in stimulant D1, (e) in stimulant D2.

■ Type3 chitin film with 1XMIC K-ZIF-8, ● Type3 chitin film with 5XMIC K-ZIF-8, ▲ Type3 chitin film with 10XMIC K-ZIF-8

### Film Dayanıklılık Testleri

Gerçekleştirilen karakterizasyon testlerinde en iyi performansı gösteren kitin nanokompozit filmin, tüm yapılan analizler değerlendirildiğinde en yüksek K-ZİF-8 konsantrasyonlu 10xMÖK kurkumin yüklenmiş tip 3 kitin film olduğu sonucu çıkarılmıştır. Dayanıklılık testinde paketlenme sonrası ya da paket malzemenin depolanması sırasında antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinde meydana gelebilecek değişimler 28 gün boyunca gözlemlenmiştir. Filmlerin ilk günden başlayarak dört hafta boyunca haftalık antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerindeki değişim Çizelge 5’de listelenmiştir. İlk 14 günlük süreçte 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin filmlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinde önemli bir değişim olmamıştır. Genel olarak her iki aktivitede düşüş eğilimi görülmüş ve bu düşüş eğilimi 21 günden sonra daha belirgin hale gelmiştir. Mevcut çalışmada söz konusu aktivite değişiminin kurkumin kaynaklı olabileceği

düşünülmektedir. Literatürde kurkumin ihtiva eden filmlerin depolama kararlılıklarındaki değişim genel olarak renk değişim değerlerindeki ( $\Delta E$ ) değişim incelenerek karar verilmiştir (Zhang vd., 2021; Yuan vd., 2022). Her ne kadar kullanılan metotlar farklı olsa da kurkuminin ZİF-8 ve mantar film içerisine hapsedildiğinde gösterdiği kararlılık literatürle benzerlik göstermektedir. Kurkumin antioksidan özellikli polifenolik bir bileşiktir. Bu nedenle uzun süre oksijen ve yüksek ısıya maruz bırakıldığında kararlılığında ve aktivitesinde değişimler yaşanabilmekte ve uzun süreli kullanımlar için biyoyumlu malzemelerin içerisine kapsüllenmeye gerek duymaktadır (Condat vd., 2015). Çalışmamızda yaşanan aktivite kaybının büyük oranda kurkuminin film içerisinde ısıdan ziyade oksijenle etkileşimi sonucu yaşandığı düşünülmektedir. Sonuç olarak 28 gün sonunda antioksidan ve antimikrobiyal aktivite kaybı gözlenmiş olmasına rağmen filmlerde hala anlamlı miktarda aktivite mevcuttur.

Çizelge 5. 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin filmlerin haftalık antioksidan ve antimikrobiyal aktivite değişimleri

Gün Day	% DPPH serbest radikal giderme aktivitesi %DPPH free radical scavenging activity	<i>E. coli</i> için kolonizasyon bölgesi (cm) Inhibition zone for <i>E. coli</i> (cm)
0	19.81±0.728 <sup>a</sup>	5.67±0.212 <sup>a</sup>
7	19.60±0.198 <sup>a</sup>	5.48±0.071 <sup>a</sup>
14	18.21±0.325 <sup>ab</sup>	5.22±0.141 <sup>ab</sup>
21	17.84±0.255 <sup>b</sup>	4.83±0.071 <sup>b</sup>
28	17.31±0.381 <sup>b</sup>	4.60±0.085 <sup>b</sup>

\*Aynı sırada farklı harfler önemli farklılığı gösterir ( $P < 0.05$ ).

\* Different letters in the same column show the significance ( $P < 0.05$ ).

### SONUÇ

K-ZİF-8 konsantrasyonunun kitin filmlerin mekanik, bariyer ve optik özelliklerine etkisi incelendiğinde filmlerin biyoaktif özelliklerine etki ettiği kadar belirgin bir etkinin gözlemlenemediği sonucuna varılmıştır. Bunun nedeni kitin nanoliften yüksek nanokompozit filmlerin tek başına dahi üstün özellik göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca ZİF-8 nanokristallerinin mekanik ve bariyer özelliklerini önemli ölçüde arttırdığı çalışmalarda çok daha yüksek ZİF-8 konsantrasyonunun kompozit yapının içerisine eklendiği görülmüştür. Yine aynı

nedenden dolayı, K-ZİF-8 eklemenin kitin filmlerin termal ve morfolojik özelliklerinde çok büyük bir değişime sebebiyet vermediği düşünülmektedir. Filmlerin kurkumin salınım testlerinde beklendiği gibi hidrofobik bir bileşik olan kurkumin, en çok zeytinyağında salınım göstermiştir. Filmlerin antimikrobiyal test sonuçları kültür mantarından özütlenen kitin tabanlı nanokompozit filmlerin tek başına dahi gram negatif *E.coli* bakteri kolonilerine karşı etkili olduğunu göstermiştir. Ancak aynı seviyede etki gram pozitif *S.aureus* kolonilerinde gözlemlenememiştir. Aynı şekilde, görünür ışığın

koloni oluşumunu engellemekle ilgili olarak herhangi bir olumlu etkisi olmamıştır. Işıksız inkübasyonda en yüksek antimikrobiyal etki 10XMÖK değerinde K-ZİF içeren filmde elde edilmiştir. Benzer bir eğilim toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktive analizlerinde de gösterilmiştir. K-ZİF-8 miktarı arttıkça artan biyoaktif aktivite kurkuminin antioksidan özellikli bir polifenolik birleşik olmasına bağlanmıştır. Filmlerin biyoaktif ve fizikokimyasal özellikleri belirlenip karşılaştırıldığında en yüksek performansı 10XMÖK değerinde K-ZİF-8 içeren kitin filmlerin sahip olduğuna karar verilmiştir. 10xMÖK değerinde K-ZİF-8 yüklenmiş tip 3 kitin filmlerin 4°C'de %75 bağıl nem ile koşullandırılmış görünür ışık altındaki ortamda 14 günlük saklama boyunca aktivitesinde önemli bir değişim olmazken 21 günden sonra belirgin bir aktivite kaybı meydana gelmiştir. Bu sonuçtan yola çıkarak geliştirilen malzemenin uzun süre depolamaya çok uygun olmadığı üretildikten hemen sonra aktif malzeme olarak kullanıma daha uygun olduğu kanaatine varılmıştır.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yazarların başka kişiler ya da kurumlarla çıkar çatışmaları bulunmamaktadır.

#### YAZAR KATKILARI

Bu çalışma Leyla Nesrin Kahyaoğlu tarafından tasarlanmış ve yürütülmüştür. Analizler Ecem Kaya tarafından gerçekleştirilmiştir. Makale Leyla Nesrin Kahyaoğlu tarafından yazılmıştır.

#### TEŞEKKÜR

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na bu çalışmayı TÜBİTAK 120O886 nolu proje ile maddi olarak desteklediği için teşekkür ederiz.

#### KAYNAKLAR

ASTM. (2005). Standard test method for water vapor transmission of materials (E 96- 05). Philadelphia, PA, USA.

ASTM. (2009). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting (D 882-09). Philadelphia, PA, USA.

Adilah, A. N., Jamilah, B., Noranizan, M. A., & Hanani, Z. A. N. (2018). Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 1–7. <http://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.006>

Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807–818. <http://doi.org/10.1021/mp700113r>

Aziz, S. B., Abdullah, O. G., Brza, M. A., Azawy, A. K., & Tahir, D. A. (2019). Effect of carbon nano-dots (CNDs) on structural and optical properties of PMMA polymer composite. *Results in Physics*, 15. <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2019.102776>

Bajpai, S. K., Chand, N., & Ahuja, S. (2015). Investigation of curcumin release from chitosan/cellulose micro crystals (CMC) antimicrobial films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.05.012>

Bernd, A. (2014). Visible light and/or UVA offer a strong amplification of the anti-tumor effect of curcumin. *Phytochemistry Reviews*, 13(1), 183–189. <http://doi.org/10.1007/s11101-013-9296-2>

Bershtein, V. A., Egorov, V. M., Egorova, L. M., & Ryzhov, V. A. (1994). The role of thermal analysis in revealing the common molecular nature of transitions in polymers. *Thermochimica Acta*, 238(C). [https://doi.org/10.1016/S0040-6031\(94\)85206-5](https://doi.org/10.1016/S0040-6031(94)85206-5)

Bhawana, Basniwal, R. K., Buttar, H. S., Jain, V. K., & Jain, N. (2011). Curcumin nanoparticles: Preparation, characterization, and antimicrobial study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5). <https://doi.org/10.1021/jf104402t>

Cai, Y., Guan, J., Wang, W., Wang, L., Su, J., & Fang, L. (2021). pH and light-responsive polycaprolactone/curcumin@zif-8 composite films with enhanced antibacterial activity. *Journal of Food Science*, 86(8). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15839>

Cano, A., Cháfer, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2016). Development and

- characterization of active films based on starch-PVA, containing silver nanoparticles. *Food Packaging and Shelf Life*, 10, 16–24. <http://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.07.002>
- Chen, J., Zhang, X., Huang, C., Cai, H., Hu, S., Wan, Q., vd. (2017). Osteogenic activity and antibacterial effect of porous titanium modified with metal-organic framework films. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 105(3), 834–846. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.35960>
- Condat, M., Mazeran, P. E., Malval, J. P., Lalevée, J., Morlet-Savary, F., Renard, E., vd. (2015). Photoinduced curcumin derivative-coatings with antibacterial properties. *RSC Advances*, 5(104), 85214–85224. <http://doi.org/10.1039/C5RA19499G>
- Devarayan, K., & Kim, B.-S. (2015). Reversible and universal pH sensing cellulose nanofibers for health monitor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 209, 281–286. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.120>
- Dujic, J., Kippenberger, S., Hoffmann, S., Ramirez-Bosca, A., Miquel, J., Diaz-Alperi, J., vd. (2007). Low Concentrations of Curcumin Induce Growth Arrest and Apoptosis in Skin Keratinocytes Only in Combination with UVA or Visible Light. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(8), 1992–2000. <http://doi.org/10.1038/sj.jid.5700801>
- European Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food.
- Fazli WAn Nawawi, W. M., Lee, K.-Y., Kontturi, E., Murphy, R. J., & Bismarck, A. (2019). Chitin Nanopaper from Mushroom Extract: Natural Composite of Nanofibers and Glucan from a Single Biobased Source. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(7), 6492–6496. <http://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b00721>
- Fu D., Ding Y., Guo R. vd. (2022) Polylactic acid/polyvinyl alcohol-quaternary ammonium chitosan double-layer films doped with novel antimicrobial agent CuO@ZIF-8 NPs for fruit preservation, *International Journal of Biological Macromolecules*, 195:538-46. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.022>
- Gan, I., & Chow, W. S. (2018). Antimicrobial poly(lactic acid)/cellulose bionanocomposite for food packaging application: A review. *Food Packaging and Shelf Life*, 17, 150–161. <http://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.06.012>
- Gontard, N., Duchez, C., Cuq, J. L., & Guilbert, S. (1994). Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 29(1), 39–50. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02045.x>
- Gortari M.C., Hours R.A. (2013) Biotechnological processes for chitin recovery out of crustacean waste: a mini-review, *Electronic Journal of Biotechnology*, 16 (3), 14. <http://dx.doi.org/10.2225/vol16-issue3-fulltext-10>
- Gunes, H., Gulen, D., Mutlu, R., Gumus, A., Tas, T., & Topkaya, A. E. (2013). Antibacterial effects of curcumin: An *in vitro* minimum inhibitory concentration study. *Toxicology and Industrial Health*, 32(2), 246–250. <https://doi.org/10.1177/0748233713498458>
- Guo G., Fu S., Zhou L. Vd. (2011) Preparation of curcumin loaded poly(ε-caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(ε-caprolactone) nanofibers and their *in vitro* antitumor activity against Glioma 9L cells, *Nanoscale*, 3, 3825-32. <https://doi.org/10.1039/C1NR10484E>
- Hafsa, J., Smach, M. A., Ben Khedher, M. R., Charfeddine, B., Limem, K., Majdoub, H., & Rouatbi, S. (2016). Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 356–364. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.050>
- Hai L., E.S. Choi, L. Zhai, P.S. Panicker, J. Kim (2020) Green nanocomposite made with chitin and bamboo nanofibers and its mechanical, thermal and biodegradable properties for food packaging, *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 491-499. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.124>

- Han, J. H., & Floros, J. D. (1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13(4). <https://doi.org/10.1177/875608799701300405>
- Hewlings, S. J., & Kalman, D. S. (2017). Curcumin: A Review of Its' Effects on Human Health. *Foods*, 6(10), 92. <http://doi.org/10.3390/foods6100092>
- Hoop, M., Walde, C. F., Riccò, R., Mushtaq, F., Terzopoulou, A., Chen, X. Z., vd. (2018). Biocompatibility characteristics of the metal organic framework ZIF-8 for therapeutical applications. *Applied Materials Today*, 11, 13–21. <http://doi.org/10.1016/j.apmt.2017.12.014>
- Huang, D., Xin, Q., Ni, Y., Shuai, Y., Wang, S., Li, Y., Ye, H., Lin, L., Ding, X., & Zhang, Y. (2018). Synergistic effects of zeolite imidazole framework@graphene oxide composites in humidified mixed matrix membranes on CO<sub>2</sub> separation. *RSC Advances*, 8(11). <https://doi.org/10.1039/c7ra09794h>
- Ifuku S., Nogi M., Abe K., Yoshioka M., Morimoto M., Saimoto H., Yano H. (2009) Preparation of chitin nanofibers with a uniform width as  $\alpha$ -chitin from crab shells. *Biomacromolecules*, 10 (6), 1584-1588. <https://doi.org/10.1021/bm900163d>
- Ifuku S. (2014) Chitin and Chitosan Nanofibers: Preparation and Chemical Modifications, *Molecules*, 19, 18367-18380. <https://doi.org/10.3390/molecules191118367>.
- Ifuku, S., & Saimoto, H. (2012). Chitin nanofibers: preparations, modifications, and applications. *Nanoscale*, 4(11), 3308–3318. <http://doi.org/10.1039/c2nr30383c>.
- Karimi Alavijeh, R., Beheshti, S., Akhbari, K., & Morsali, A. (2018). Investigation of reasons for metal–organic framework's antibacterial activities. *Polyhedron*, 156, 257–278. <http://doi.org/10.1016/j.poly.2018.09.028>
- Kaur, S., & Dhillon, G. S. (2015). Recent trends in biological extraction of chitin from marine shell wastes: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(1), 44–61. <http://doi.org/10.3109/07388551.2013.798256>
- Kevij H.T., Salami M., Mohammadian M., Khodadi M. (2020) Fabrication and investigation of physicochemical, food simulant release, and antioxidant properties of whey protein isolate-based films activated by loading with curcumin through the pH-driven method, *Food Hydrocolloids*, 108, 106026. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106026>
- Knowles, T. P. J., Oppenheim, T. W., Buell, A. K., Chirgadze, D. Y., & Welland, M. E. (2010). Nanostructured films from hierarchical self-assembly of amyloidogenic proteins. *Nature Nanotechnology*, 5(3), 204–207. <http://doi.org/10.1038/nnano.2010.26>
- Ko, J. H., Yin, H., An, J., Chung, D. J., Kim, J. H., Lee, S. B., & Pyun, D. G. (2010). Characterization of cross-linked gelatin nanofibers through electrospinning. *Macromolecular Research*, 18(2), 137–143. <http://doi.org/10.1007/s13233-009-0103-2>
- Kohsari, I., Shariatnia, Z., & Pourmortazavi, S. M. (2016). Antibacterial electrospun chitosan-polyethylene oxide nanocomposite mats containing ZIF-8 nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.039>
- Kolev, T. M., Velcheva, E. A., Stamboliyska, B. A., & Spiteller, M. (2005). DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. *International Journal of Quantum Chemistry*, 102(6). <https://doi.org/10.1002/qua.20469>
- Kontturi, E., Laaksonen, P., Linder, M. B., Nonappa, Groechel, A. H., Rojas, O. J., & Ikkala, O. (2018). Advanced Materials through Assembly of Nanocelluloses. *Advanced Materials*, 30(24). <http://doi.org/10.1002/adma.201703779>
- Lee, J., Farha, O. K., Roberts, J., Scheidt, K. A., Nguyen, S. T., & Hupp, J. T. (2009). Metal–organic framework materials as catalysts. *Chemical Society Reviews*, 38(5), 1450–1459. <http://doi.org/10.1039/B807080F>
- Li, M. C., Wu, Q., Song, K., Cheng, H. N., Suzuki, S., & Lei, T. (2016). Chitin Nanofibers as

- Reinforcing and Antimicrobial Agents in Carboxymethyl Cellulose Films: Influence of Partial Deacetylation. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 4(8). <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b00981>
- Liu, J., Wang, H., Wang, P., Guo, M., Jiang, S., Li, X., & Jiang, S. (2018). Films based on  $\kappa$ -carrageenan incorporated with curcumin for freshness monitoring. *Food Hydrocolloids*, 83, 134–142. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.012>
- Liu, X. F., Guan, Y. L., Yang, D. Z., Li, Z., & Yao, K. De. (2001). Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*, 79(7), 1324–35. [https://doi.org/10.1002/1097-4628\(20010214\)79:7<1324::AID-APP210>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1097-4628(20010214)79:7<1324::AID-APP210>3.0.CO;2-L)
- Ma Q., Ren Y., Wang L. (2017) Investigation of antioxidant activity and release kinetics of curcumin from tara gum/polyvinyl alcohol active film, *Food Hydrocolloids*, 70, 286–92. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.04.018>
- Musso Y.S., Salgado P.R., Mauri A.N. (2017) Smart edible films based on gelatin and curcumin, *Food Hydrocolloids*, 66, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.007>
- Nam, Y. S., Park, W. H., Ihm, D., & Hudson, S. M. (2010). Effect of the degree of deacetylation on the thermal decomposition of chitin and chitosan nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 80(1). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.11.030>
- Nguyen, T. T. T., Nguyen, L. H. T., Mai, N. X. D., Ta, H. K. T., Nguyen, T. L. T., Le, U. C. N., Phan, B. T., Doan, N. N., & Doan, T. L. H. (2021). Mild and large-scale synthesis of nanoscale metal-organic framework used as a potential adenine-based drug nanocarrier. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102135>
- Pan, Y., Liu, Y., Zeng, G., Zhao, L., & Lai, Z. (2011). Rapid synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8) nanocrystals in an aqueous system. *Chemical Communications*, 47(7). <https://doi.org/10.1039/c0cc05002d>
- Papineau, A. M., Hoover, D. G., Knorr, D., & Farkas, D. F. (1991). Antimicrobial effect of water-soluble chitosans with high hydrostatic pressure. *Food Biotechnology*, 5(1). <https://doi.org/10.1080/08905439109549790>
- Park, K. S., Ni, Z., Côté, A. P., Choi, J. Y., Huang, R., Uribe-Romo, F. J., Chae, H. K., O’Keeffe, M., & Yaghi, O. M. (2006). Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(27). <https://doi.org/10.1073/pnas.0602439103>
- Oliveira, E. F., Tosati, J. V., Tikekar, R. V., Monteiro, A. R., & Nitin, N. (2018). Antimicrobial activity of curcumin in combination with light against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria innocua*: Applications for fresh produce sanitation. *Postharvest Biology and Technology*, 137, 86–94. <http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.014>
- Qian, L., Lei, D., Duan, X., Zhang, S., Song, W., Hou, C., & Tang, R. (2018). Design and preparation of metal-organic framework papers with enhanced mechanical properties and good antibacterial capacity. *Carbohydrate Polymers*, 192. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.049>
- Qiu, S., Xue, M., & Zhu, G. (2014). Metal-organic framework membranes: from synthesis to separation application. *Chemical Society Reviews*, 43(16), 6116–6140. <http://doi.org/10.1039/C4CS00159A>
- Ramos M., Beltran A., Peltzer M., Valente A.J., del Carmen Garrigos M. (2014) Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films, *LWT-Food Science and Technology*, 58, 470–477. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.019>
- Reis F.S., Martins A., Barros L., Ferreira I.C.F.R (2012) Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between in vivo and in vitro samples, *Food and Chemical Toxicology*, 50:5, 1201–1207. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.013>
- Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Wu, Y., Zhao, L., Arfat, Y., Majeed, K., & Anwaar, S.

- (2020). Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: a comprehensive review and future perspectives. In *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 40, Issue 3). <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1713719>
- Roy, S., Rhim, J. W. (2020). Preparation of bioactive functional poly(lactic acid)/curcumin composite film for food packaging application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.094>
- Salame, M., & Steingiser, S. (1977). Barrier polymers. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 8(2). <https://doi.org/10.1080/03602557708545034>
- Saravana, P. S., Ho, T. C., Chae, S. J., Cho, Y. J., Park, J. S., Lee, H. J., & Chun, B. S. (2018). Deep eutectic solvent-based extraction and fabrication of chitin films from crustacean waste. *Carbohydrate Polymers*, 195. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.018>
- Savoie, J.-M.; Minvielle, N.; Largeteau, M. Radical-scavenging properties of extracts from the white button mushroom, *Agaricus bisporus*. *J. Sci. Food Agric.* 2008, 88, 970–975. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3175>
- Siripatrawan, U., & Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24(8), 770–775. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.04.003>
- Smaldone, R. A., Forgan, R. S., Furukawa, H., Gassensmith, J. J., Slawin, A. M. Z., Yaghi, O. M., & Stoddart, J. F. (2010). Metal–Organic Frameworks from Edible Natural Products. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(46), 8630–8634. <http://doi.org/10.1002/anie.201002343>
- Sommer I., Schwartz H., Solar S., Sontag G. (2009) Effect of  $\gamma$ -Irradiation on Agaritine,  $\gamma$ -Glutaminyl4-hydroxybenzene (GHB), Antioxidant Capacity, and Total Phenolic Content of Mushrooms (*Agaricus bisporus*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5790–94. <https://doi.org/10.1021/jf900993h>
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., & Bigger, S. W. (2003). Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. *Journal of Food Science*, 68:2. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05687.x>
- Tiwari, A., Singh, A., Garg, N., & Randhawa, J. K. (2017). Curcumin encapsulated zeolitic imidazolate frameworks as stimuli responsive drug delivery system and their interaction with biomimetic environment. *Scientific Reports*, 7(1), 12598–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12786-6>
- Tyagi, P., Singh, M., Kumari, H., Kumari, A., & Mukhopadhyay, K. (2015). Bactericidal activity of curcumin I is associated with damaging of bacterial membrane. *PLoS ONE*, 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121313>
- Valentini, L., Bon, S. B., & Pugno, N. M. (2018). Combining Living Microorganisms with Regenerated Silk Provides Nanofibril-Based Thin Films with Heat-Responsive Wrinkled States for Smart Food Packaging. *Nanomaterials*, 8(7). <http://doi.org/10.3390/nano8070518>
- Vidal O.L., Tsukui A., Garrett R. vd. (2020) Production of bioactive films of carboxymethyl cellulose enriched with green coffee oil and its residues, *International Journal of Biological Macromolecules*, 146, 730-38. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.123>
- Wang, L., Mu, R. J., Li, Y., Lin, L., Lin, Z., & Pang, J. (2019). Characterization and antibacterial activity evaluation of curcumin loaded konjac glucomannan and zein nanofibril films. *LWT-Food Science and Technology*, 113. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108293>
- Yang, Y., Zan, J., Yang, W., Qi, F., He, C., Huang, S., vd. (2020). Metal organic frameworks as a compatible reinforcement in a biopolymer bone scaffold. *Materials Chemistry Frontiers*, 4(3), 973–984. <http://doi.org/10.1039/C9QM00772E>
- Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M. K., Nygaard, J. N., Ayhan, Z., Rutkaite, R., vd. (2018). Active Packaging Applications for Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*,



17(1), 165–199. <http://doi.org/10.1111/1541-4337.12322>

Yuan, Y., Zhang, S., Ma, M., Wang, D., & Xu, Y. (2022). Encapsulation and delivery of curcumin in cellulose nanocrystals nanoparticles using pH-driven method. *LWT-Food Science and Technology*, 155. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112863>

Zhang, J., Huang, X., Zou, X., Shi, J., Zhai, X., Liu, L., Li, Z., Holmes, M., Gong, Y., Povey, M., & Xiao, J. (2021). A visual indicator based on curcumin with high stability for monitoring the freshness of freshwater shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Food Engineering*, 292. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110290>

Zhang, Y., Jia, Y., Li, M., & Hou, L. (2018). Influence of the 2-methylimidazole/zinc nitrate hexahydrate molar ratio on the synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 crystals at room temperature. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28015-7>

Zheng, M., Liu, S., Guan, X., & Xie, Z. (2015). One-Step Synthesis of Nanoscale Zeolitic Imidazolate Frameworks with High Curcumin Loading for Treatment of Cervical Cancer. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(40), 22181–22187. <http://doi.org/10.1021/acsami.5b04315>