

# TEKNOFEST

## HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

### ÇEVRE VE ENERJİ TEKNOLOJİLERİ YARIŞMASI

#### PROJE DETAY RAPORU

**TAKIM ADI:** FUNGO PLASTICA

**PROJE ADI:** Bazı Mantar Türlerinin Antibakteriyel ve Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması ve Ekstraktlarından Kitosan Bazlı Yenilebilir Biyoplastik Film Sentezi

**BAŞVURU ID:** #69386

TEKNOFEST  
HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

## İçindekiler

1. Proje Özeti (Proje Tanımı).....	2
2. Problem/Sorun .....	3
3. Çözüm.....	3
4. Yöntem.....	3
4.1 Mantar- Kitosan Filmlerin Sentezi .....	3
4.2 Mantar- Kitosan Filmlerin Antibakteriyel Özelliğinin Belirlenmesi .....	3
4.3 Mantar- Kitosan Filmlerin Antioksidan Özelliğinin Belirlenmesi .....	4
4.4 Mantar- Kitosan Filmlerin Karakterizasyonu.....	5
4.4.1 Mantar- Kitosan Filmlerin FTIR- ATR Analizi.....	5
4.4.2 Mantar- Kitosan Filmlerin Temas Açısı Ölçümü .....	5
4.4.3 Mantar- Kitosan Filmlerin Şişme Özelliklerinin Belirlenmesi.....	6
5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü .....	6
6. Uygulanabilirlik .....	6
7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması.....	7
8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar):.....	7
9. Riskler.....	7
10. Kaynakça ve Rapor Düzeni.....	7

### 1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Daha önce yapılan araştırmalar petrol türevi sentetik ambalaj malzemelerinin içerdiği kimyasal maddeler ve doğada bozunmamasından dolayı insan ve çevre sağlığına zararlı olduğunu göstermektedir. Petrol bazlı plastik ambalaj malzemelerinin zararları ve insanların bilinçlenmesi, insanları petrolden zararsız ambalaj malzemeleri için bir alternatif arayışı içine sokmuştur. Alternatifler arasında en temiz malzemelerden biri biyoplastik filmlerdir. Biyofilm üretiminde genellikle kitosan kullanılmaktadır. Bunun sebebi kitosanın dünyada en çok bulunan polimerlerden olmasıdır. Şimdiye kadar kitosan temelli biyoplastik film eldesi için çeşitli bitkisel yağlar ve ekstraktlar kullanılmıştır. Mantarların antibakteriyel ve antioksidan özelliklerinin olması mantarları biyoplastik yapımında kullanılması için iyi bir seçenek haline getirmiştir. Mantarların antioksidan ve antibakteriyel özelliklerini organizmaya özgü bazı bileşikler, pürinler, pirimidinler, kuinonlar, terpenoidler ve fenil propanoid türevi maddeler sağlar. Mantarların insan beslenmesinde yer alan birçok yenilebilir türü olduğundan bu projede mantar ekstraktının kitosan bazlı filme eklenmesiyle biyoplastik film maliyetinin düşürülmesi ve kitosan bazlı filmin hidrofobiklik, antibakteriyellik ve antioksidanlık özelliklerinin iyileştirilmesi amaçlanmıştır. Bu projede, yüksek fenolik bileşikler ile yenilebilir mantarlardan alınan su özütü kullanılmıştır. Kullanılan mantarlar dünyada ve Türkiye’de kolaylıkla bulunabilen *Agaricus bisporus* ( halk arasında beyaz şapkalı mantar), *Pleurotus ostreatus* (halk arasında istiridye veya kayın mantarı) ve *Agaricus campestris* (halk arasında kestane mantarı) ‘tir. Mantar ekstraktlarının antibakteriyel ve antioksidan aktivite tayini yapılmıştır. Her 3 mantar için de mantar ekstraktı ve kitosan ile biyoplastik filmler hazırlanmıştır. FT-IR analizinin sonuçlarında mantar özütünün kitosan filme başarıyla eklendiğini göstermiştir.

## 2. Problem/Sorun

Günlük hayatta kullandığımız pek çok ambalaj malzemesi, petrol türevi malzemelerden üretilmiştir ve petrol türevi malzemelerin doğada çözünememesi, çöp dağları oluşturmaları, çevreye zarar vermesi ve insan sağlığı üzerinde pek çok olumsuz etkisi olması nedeniyle büyük bir sorun haline gelmiştir (Kılıç ve Yüce, 2014). Aynı zamanda petrol gibi bir enerji kaynağının ambalaj malzemesi olarak kullanılması enerji kaynaklarının tükenmesine neden olmaktadır.

## 3. Çözüm

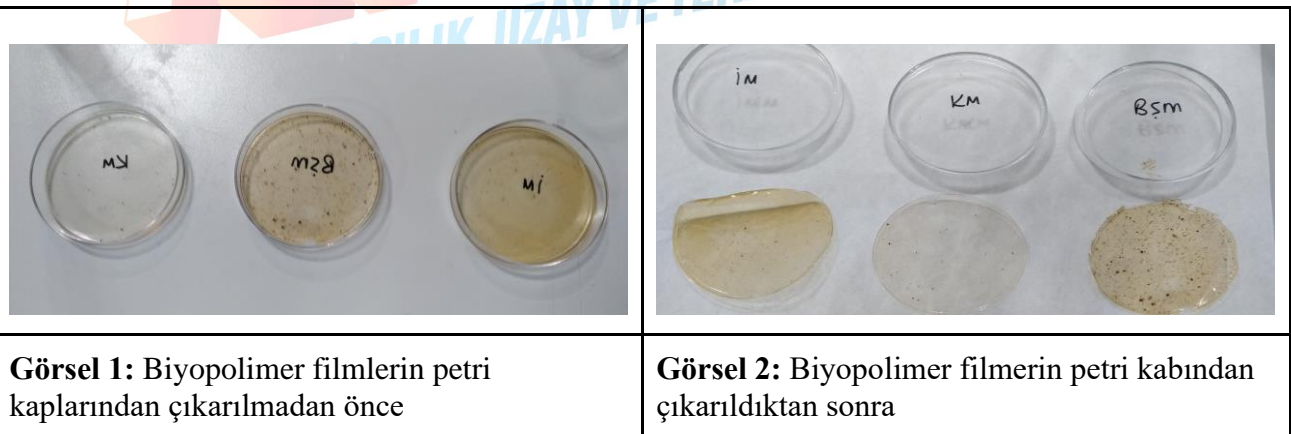
Kullandığımız plastik ambalaj kağıtları gibi tek kullanımlık maddeleri petrol türevi malzemeler ile üretmek yerine alternatif bir malzeme üretme ihtiyacı doğmuştur. Bilinen en yaygın alternatif malzemelerden biri kitosan bazlı biyoplastik filmlerdir (Kumar, 2000). Bu projede ülkemizde kolayca bulunan ve insan sağlığına olumlu etkileri bilinen farklı mantar ekstraktlarının, petrol bazlı malzemelerin alternatifi olan kitosan filme mantar özütleri eklenerek bilinen kitosan bazlı biyofilmi antioksidanlık, antibakteriyellik gibi yönlerden geliştirip maliyetini düşürerek petrol bazlı filmlere karşı iyi bir alternatif olması amaçlanmıştır.

a.

## 4. Yöntem

### 4.1 Mantar- Kitosan Filmlerin Sentezi

Mantarlar, etüv içerisinde kurutulmuştur. Mantarlar toz haline getirilip 100 mL damıtılmış su eklenerek karışım 100°C'de kaynatılmıştır. Karışım, gözenek boyutu 110 µm olan bir filtre kağıdı ile süzülüş ve sulu faz ayrılmıştır. Son olarak, mantarın su özü, bir etüv kullanılarak 100 ° C' de ısıtılmış ve kuru mantar özü elde edilmiştir. Mantar ekstraktları ve kitosan ile mantarlar için film hazırlanmıştır. Filmler 20 mL %1 asetik asit - 0.2 g kitosan çözeltisi içinde çözülmüş ve 100 µL gliserol (0.63 g gliserol / kitosan) eklenmiştir. Her film matrisine 0.2 g mantar ekstraktı eklenmiştir. Her film matrisi 26000 rpm'de 10 dakika karıştırılmıştır. Film oluşturucu jel matris, petri kaplarına dökülüp 30 °C'de 48 saat boyunca kurutulmuştur (Koç, 2019).



### 4.2 Mantar- Kitosan Filmlerin Antibakteriyel Özelliğinin Belirlenmesi

Disk difüzyon yönteminde ise, agarlı besiyeri üzerine çalışılacak uygun dilüsyondaki mikroorganizma kültüründen sürüm yapılarak agarın bakteri solüsyonunu emmesi

sağlanmakta, ardından önceden uçucu yağ ekstraktı emdirilen steril diskler yerleştirilmektedir. 37°C’de ve 24 saat süresi sonunda inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirilmektedir(Adıgüzel, 2005).

Yapılan çalışmada hastalardan alınan örneklerden elde edilen ve daha önce yapılan çalışmalarda birçok antibiyotiğe karşı dirençli olduğu bilinen suşlardan izole edilen bakteriler kullanılmıştır.. E. Coli için Müller Hilton Agar, S.Aureus için Kanlı Agar, besiyerlerine 0,5 macFarland’lık süspansiyonlardan ekim yapılmıştır. Daha sonra steril pamuklara uçucu yağları ve özütleri emdirilmiş ve inhibisyon zonlarını gözlemlenmiştir. Kıyaslama yapmak için ise standart antibiyogram diskler kullanılmıştır. E. Coli için AMC (Amoxicilin/clovulanic asit), S. Aureus için ise Cefoxitin antibiyogram diskleri kullanılmıştır.

Tablo 1: Mantar- Kitosan Filmlerin Antibakteriyel Özelliğinin Belirlenmesi

	S.Aureus	E.Coli
Beyaz Şapkalı Mantar	20mm	13mm
İstiridye mantarı	21mm	16mm
Kestane mantarı	15mm	17mm
Antibiyotik	17mm	15mm

### 4.3 Mantar- Kitosan Filmlerin Antioksidan Özelliğinin Belirlenmesi

Hazırlanan mantar özütlerinin toplam antioksidan aktivite tayini için DPPH 2,2- difenil-1- pikril hidrazil) reaktifi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DPPH’in nötrleştirilmesi işleminin spektrofometrik olarak ölçülmesi ile absorbans değerleri belirlenmiştir. Spektrofotometrik ölçümler rügel marka UV spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir. Bunun için her bir örnekten üçer, kontrol çözeltilerinden ikişer paralel çözeltiler hazırlanmıştır. 250 µL ekstrakta %100lük 2,5 ml metanol ile 2.5 mL DPPH çözeltisi eklenerek karanlık bir ortamda bir saat kadar bekletilmiş ve 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri belirlenmiştir. Kontrol çözeltilerinde ise sadece DPPH ve metanol kullanılmıştır. Denklem 1’deki formülden yararlanılarak ölçülen absorbans değerlerinden yola çıkılarak örneklerin DPPH radikali yakalama aktiviteleri yani toplam antioksidan kapasiteleri hesaplanmıştır (Güder, 2016).

$$\text{Antioksidan Aktivite (\%)} = (1 - \text{örnek}) \cdot 100 / \text{Kontrol}$$

#### Denklem 1: Antioksidan aktivite hesaplanması

Tablo 2: Mantar örneklerinin % Toplam Antioksidan Kapasiteleri

	Absorbans Değerleri	% Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri
Beyaz Şapkalı Mantar	0,139	96,513
İstiridye Mantarı	0,154	96,137



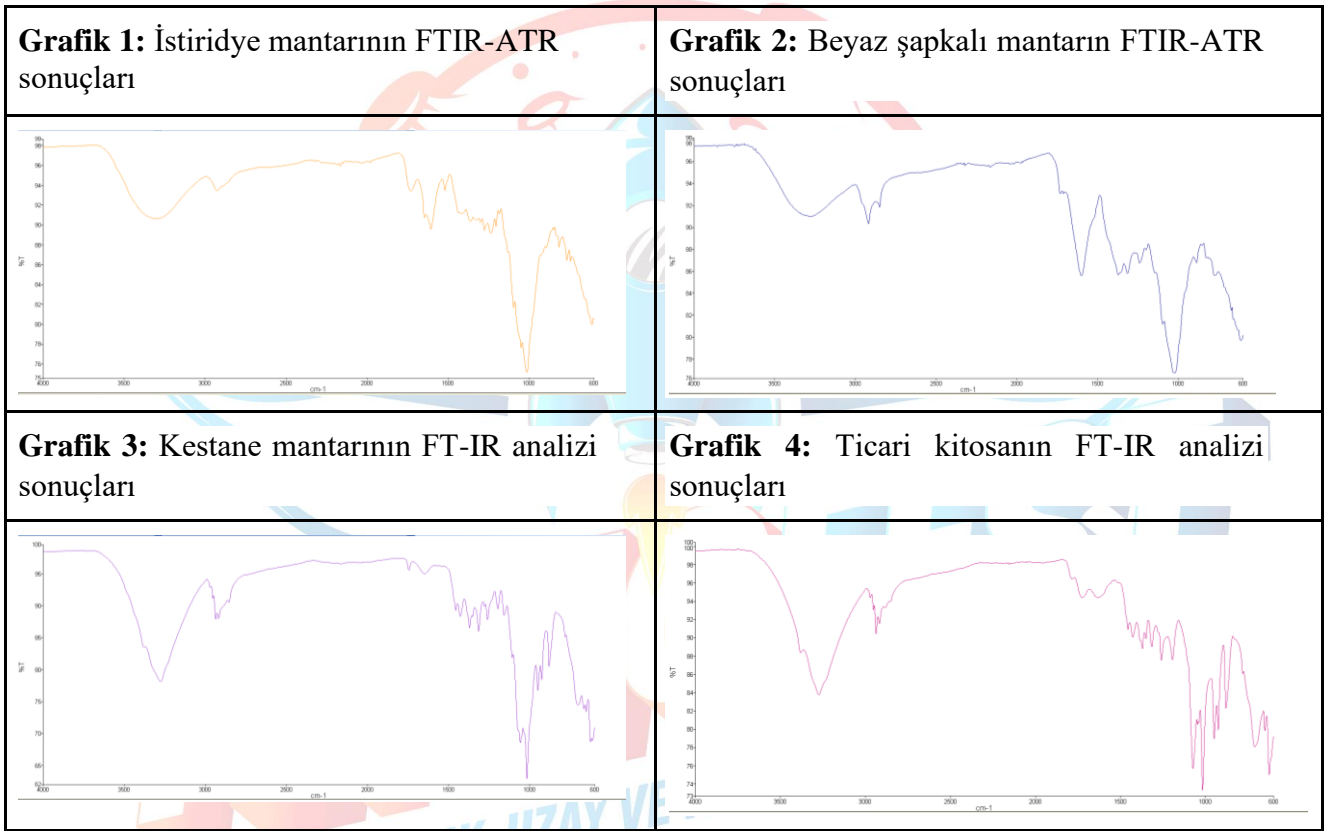
Kestane Mantarı	0,168	95,780
-----------------	-------	--------

#### 4.4 Mantar- Kitosan Filmlerin Karakterizasyonu

Sentezlenen filmlerin karakterizasyonu için FTIR-ATR analizi, Su temas açısı ölçümleri, şişme testleri, antioksidan ve antibakteriyel aktivite tayinleri yapılmıştır.

##### 4.4.1 Mantar- Kitosan Filmlerin FTIR- ATR Analizi

FT-IR analizi, Kitosan-mantar ekstraktı filmlerinin yapısal değişimlerini belirleme amacıyla FTIR-ATR(Fourier-transformInfraredSpectroscopy - Attenued Total Reflectance) kullanılarak 600-4000  $\text{cm}^{-1}$  dalga aralığında yapılmıştır (Koç,2019).



##### 4.4.2 Mantar- Kitosan Filmlerin Temas Açısı Ölçümü

Elde edilen filmler şehrimizde bulunan üniversiteye götürülerek yüzey temas açısı ölçüm cihazı ile ölçümler alınmıştır. Cihaz saniyede 10 kez ölçüm alacak şekilde ayarlanmış ve elde edilen değerlerin ortalamaları hesaplanmıştır.

Tablo 3: Mantar- Kitosan Filmlerin Temas Açısı Değerleri

	Beyaz Şapkalı Mantar + Kitosan	İstiridye Mantarı + Kitosan	Kestane Mantarı + Kitosan	Kitosan
Su Temas Açısı	75°	74°	78°	70°

#### 4.4.3 Mantar- Kitosan Filmlerin Şişme Özelliklerinin Belirlenmesi

Şişme testi için filmlerden yaklaşık 2 x 3 cm<sup>2</sup> boyutlarında numuneler alınıp 60 °C’de belli bir ağırlığa getirilene kadar kurutulmuştur. Kurutmadan sonra her film petri kabına alınıp üzerine 20 mL damıtılmış su eklenmiştir. daldırma işleminden 2 gün sonra filmler çözülmüş ve filmlerin kalan kısmı 24 saat boyunca 60 ° C’de belirli bir ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur. Kaybedilen ağırlık Denklem 2’ye göre hesaplanmıştır (Koç,2019).

$$\% WL = ((W_i - W_f) / W_i) \times 100 \quad (1)$$

WL = kaybedilen ağırlık, W<sub>i</sub> = başlangıçtaki ağırlık ve W<sub>f</sub> = sondaki ağırlık

**Denklem 2:** Şişme oranının hesaplanması

Tablo 4: Mantar- Kitosan Filmlerin Şişme Özelliklerinin Belirlenmesi

	Beyaz Şapkalı Mantar + Kitosan	İstiridye Mantarı + Kitosan	Kestane Mantarı + Kitosan	Kitosan
Şişme Oranı	%148	%156	%139	%125

#### 5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Projemiz petrol türevi malzemeler yerine alternatif olarak kullanılan kitosan bazlı filmin mantar ekstraktıyla antibakteriyellik, hidrofobiklik, antioksidanlık yönünden iyileştirilmesini sağlamıştır ve kitosan bazlı filmlerin maliyeti düşürülmüştür. Araştırmalar sonucunda şu ana kadarki çalışmalarda kitosan bazlı biyofilm elde etmek için hayvansal ürünlerin ve bitki özlerinin katkı maddesi olarak kullanıldığı belirlenmiştir (Koç,2019). Ancak mantar ekstraktı katkılı kitosan bazlı biyofilm çalışmaları oldukça azdır. Bu çalışmada kitosan bazlı biyofilm sentezi için yenilebilir mantar türlerinin üçünden (*Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*, *Agaricus campestris*) elde edilen ekstrakt kullanılmıştır.

#### 6. Uygulanabilirlik

Projemiz Türkiye’de kolayca elde edilebilecek mantar türlerini kullandığından gerekli malzemeler kolayca karşılanabilmekte ve plastik ambalaj kağıdı ve benzeri ürünlerde kullanılabilir. Kitosanın maliyeti çok yüksek olmakla birlikte projemizde kitosan bazlı film geliştirilerek uygulanabilmesinde kolaylık sağlanmıştır. Sentezlenen kitosan-mantar ekstraktı bazlı biyoplastik filmlerle ticari kitosan bazlı biyoplastik filmlerin FT-IR sonuçlarının benzemesi mantar ekstraktının kitosan filme başarıyla eklendiğini göstermektedir. Antioksidan aktivite tayinine göre antioksidan aktivitesi en yüksek olan mantar %96,513 ile beyaz şapkalı mantar olmuştur. Ardından %96,137 ile istiridye mantarı; %95,780 ile kestane mantarı olmuştur. Mantar özütlerinin inhibisyon zonlarının yarıçapı; *S.Aureus* bakterisi için beyaz şapkalı mantar ve istiridye mantarında antibiyotikten iyi, *E.Coli* bakterisi için kestane mantarı ve istiridye mantarında antibiyotikten iyi sonuç alınmıştır. Ayrıca mantar ekstraktlarının kitosan filmi hidrofobiklik ve elastiklik bakımından geliştirdiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak tüm bu özellikler göz önüne alındığında kitosan-mantar ekstraktı bazlı filmler, mikrobiyal ataklara karşı bir bariyer olabilecek bir ambalaj malzemesi alternatifi olarak önerilebilmektedir.

## 7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

TARİH	YÖNTEM BASAMAKLARI	MALZEME	DENEY ORTAMI	MALİYET
				2₺
15.10.2020	Mantarların Elde Edilmesi	<i>Agaricus bisporus, Pleurotus ostreatus ve Agaricus campestris</i> (her birinden 150 gram)	-	13₺
22.10.2020	Mantarlardan Ekstrakt Elde Edilmesi	<i>Agaricus bisporus, Pleurotus ostreatus ve Agaricus campestris</i> (her birinden 150 gram)	Şehit Prof. Dr. İlhan Varank BİLSEM Lab.	-
05.11.2020	Antibakteriyel Analizi ve Yorumları	Müller Hilton Agar, Kanlı Agar, <i>Agaricus bisporus</i> özütü, <i>Pleurotus ostreatus</i> özütü, <i>Agaricus campestris</i> özütü, Mcfarland cihazı	Balıkesir Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Lab.	25₺
03.12.2020	difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) Reaktifinin Hazırlanması	metanol, 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) reaktifi	Şehit Prof. Dr. İlhan Varank BİLSEM Lab.	3,5₺
12.01.2021	Filmlerin Sentezi	<i>Agaricus bisporus</i> özütü, <i>Pleurotus ostreatus</i> özütü, <i>Agaricus campestris</i> özütü, kitosan,	Şehit Prof. Dr. İlhan Varank BİLSEM Lab.	2₺
28.01.2021	(FITR/IR) Analizi ve Yorumlanması	Kitosan-mantar ekstraktı filmler, Perkin Elmer Spectrum FTIR Spektroskopisi	Balıkesir Üniversitesi Kimya Lab.	-
15.02.2021	Su Temas Açısı Testi ve Yorumlanması	Temas Açısı Ölçüm Cihazı	Balıkesir Üniversitesi Kimya Lab.	-
28.02.2021	Şişme Testi Yapılması ve Yorumlanması	Saf su, hassas terazi	Şehit Prof. Dr. İlhan Varank BİLSEM Lab.	-

## 8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar):

a. Elde edilen biyopolimer filmler kullanıldığında yüksek maliyetli bir biyopolimer olan kitosanın hem maliyeti düşürülüp hem de fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini iyileştirecek katkıları yapıldığından çalışmamızda elde edilen ürünlerin sağlıktan, gıda ambalajına, ilaçtan yapı malzemelerine kadar pek çok alanda kullanılabilir olduğundan çok geniş bir hedef kitleye hitap etmektedir. Bununla birlikte sentezlediğimiz malzemeler kullanıldığında petrol türevi malzemelerin çevreye ve insan sağlığına verdiği zararın en aza indirgeneceğini söyleyebiliriz.

## 9. Riskler

Elde ettiğimiz biyofilm asetik asit ve sitrik asit gibi zayıf asit çözeltilerinde çözünmediği için çevre sağlığı için herhangi bir risk oluşturmamakta ve katı atık problemine sebep olmamaktadır. Bununla birlikte çalışmamızda elde edilen biyopolimer filmler pH değeri 3'ün altında kuvvetli asidik içeceklerin ve malzemelerin depolanmasında kullanılmamalıdır. Ancak bu malzemelerin dışında her türlü ambalaj ve kaplama malzemesi olarak güvenle kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

## 10. Kaynakça ve Rapor Düzeni

- Adıgüzel, A., Güllüce, M., Şengül, M., Öğütçü, H., Şahin, F., Karaman, İ., 2005. Antimicrobial Effects of *Ocimum basilicum* Extract. *Turk J. Biol.* 29: 155-160.
- Baublis, A.J., Clydesdale, F.M., Decker, E.A. 2000. Antioxidants in Wheat-Based Breakfast Cereals. *Cereals Foods World.* 45:71-74.
- Benedict, C. V., Cook, W. J., Jarrett, P., Cameron, J. A., Huang, S. J., & Bell, J. P., "Fungal degradation of polycaprolactones", *Journal of Applied Polymer Science*, (1983).
- Bilgehan H. Enterobacteriaceae familyası. *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. 10. Baskı. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi 2000; 1-17.
- Cos, P., Vlietinck, A. J., Berghe, D. V., & Maes, L. (2006). Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *Journal of ethnopharmacology*, 106(3), 290-302.
- Eriksson, K.E., Blanchette, R.A., & Ander, P., (1990). Biodegradation of lignin. In *Microbial*

and enzymatic degradation of wood and wood components. Springer-Verlag KG, Berlin, 225-233.

Evans, C., Hedger, J. (2001). Degradation of cell Wall polymers. Bulunduğu yer: Gadd G. (ed) Fungi in Bioremediation, Cambridge, UK.

Güder,A,2016,Iranian Journal of Pharmaceutical Research (2016), 15 (1): 301-309.

Haliskaranfil, S., (2012). Termoalkalifilik Amilaz ve Selülaz Enzim (Multi Enzim) üreticisi Bacillus sp. İzolasyonu, Enzimlerin Karakterizasyonu ve Biyoteknolojik Uygulanabilirliği. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana.

Kılıç M.,Yüce A.E.,(2014). PVC ve PET Atıkların Seçimli Flotasyonu Bölüm 1: Plastikler; Çevresel Etkileri; Geri Dönüşümü. Çukurova Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi, 29(2), 79-93 ss., Aralık 2014.

Koç,B.,2019. Mantardan (Tricholoma Terreum) elde edilen su ekstraktı ile kitosan temelli yenilebilir film eldesi ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.

Kuday, I. (2009). Tasarım Sürecini Destekleyici Faktör Olarak Biyotaklit Kavramının İncelenmesi , Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Mimar Sinan Güzel Sanatlar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 3-14-16-19-47-53-59 s.

Kumar, M.N.R., 2000. A review of chitin and chitosan applications, Reactive and functional polymers, 46, 1, 1-27.

Öztürk, A.F.,2015. Mimarlıkta Temel Tasarım Eğitim Yönetimi Olarak Biyotaklit, Yüksek Lisans Tezi, Maltepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Mimarlık Anabilim Dalı, İstanbul.

Saldır, Y(2015),Bazı Mantarların Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Araştırılması, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı.

Solak, M. H., Kalmis, E., Sağlam, H., & Kalyoncu, F. (2006). Antimicrobial activity of two wild mushrooms Clitocybe alexandri (Gill.) Konr. and Rhizopogon roseolus (Corda) TM Fries collected from Turkey. Phytotherapy Research, 20(12), 1085-1087.

Tripathi, S., Mehrotra, G. ve Dutta, P., 2009. Physicochemical and bioactivity of cross- linked chitosan-PVA film for food packaging applications, International journal of biological macromolecules, 45, 4, 372-376.

Üstün,O. (2011). Makrofungusların Besin Değeri ve Biyolojik Etkileri, Türk Hijyen Derneği Biyoloji Dergisi: 68(4): 223 – 240. Erişim Linki:

<http://www.turkhijyen.org/jvi.aspx?pdireturkhijyen&plng=tur&un=THDBD-00922>

DOI:

10.5505/TurkHijyen.2011.00922

HAVACILIK, UZAY