T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORGANOKİL İLAVELİ BİYOPOLİMER NANOKOMPOZİT GIDA AMBALAJLARININ ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE MİGRASYON ÖZELLİKLERİ

Semra ÇAVUŞ

DOKTORA TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Prof. Dr. Muhammet ARICI

Ocak, 2026

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORGANOKİL İLAVELİ BİYOPOLİMER NANOKOMPOZİT GIDA AMBALAJLARININ ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE MİGRASYON ÖZELLİKLERİ

Semra ÇAVUŞ tarafından hazırlanan tez çalışması 13.01.2026 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Muhammet ARICI
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Muhammet ARICI, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Ömer Said TOKER, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Işınay Ebru YÜZAY, Üye
İzmir Ekonomi Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Perihan Kübra AKMAN, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Hilal DEMİRKESEN BIÇAK, Üye
İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Muhammet ARICI sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Organokil İlaveli Biyopolimer Nanokompozit Gıda Ambalajlarının Üretimi, Karakterizasyonu ve Migrasyon Özellikleri" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Semra ÇAVUŞ

İmza

Bu çalışma, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'nün TAGEM/HSGYAD/A/22/A3/P1/5256 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

"*Hiçbir şeye ihtiyacımız yok, yalnız bir şeye ihtiyacımız vardır; çalışkan olmak."*

Mustafa Kemal ATATÜRK

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince her türlü bilgi, destek ve emeğini esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Muhammet ARICI'ya;

Doktora sürecimin ilk dönemlerinde rehberliğini ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Fatih TÖRNÜK'e;

Tezimin değerlendirilme aşamalarında değerli fikirleri ile katkıda bulunan jüri üyelerim Prof. Dr. Ömer Said TOKER'e ve Dr. Öğretim Üyesi Işınay Ebru YÜZAY'a;

Tez projemin yürütülmesini maddi olarak destekleyen Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM)'ne ve tezimin önemli bir bölümünü gerçekleştirdiğim Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü yöneticilerine ve mesai arkadaşlarıma,

Laboratuvar çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Ambalaj Teknolojileri ve Mineral Bölüm Başkanım Dr. Burcu KADIOĞLU'na,

Çalışmalarım sırasında laboratuvar imkanlarını kullanmamı sağlayan İstanbul Teknik Üniversitesi Metalürji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü'den Prof. Dr. Aytekin Uzunoğlu'na; Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerine ve lisansüstü öğrencilerine;

Doktora sürecim boyunca moral ve motivasyonlarıyla yanımda olan M.∀.R.Ƨ. üyelerine, kardeşim Serap ERTÜRK'e ve prensesim Defne ERTÜRK'e;

Hayatım boyunca yanımda olan, sevgilerini ve ilgilerini her zaman hissettiğim, destekleri sayesinde bugünlere gelmemde sonsuz emekleri bulunan sevgili babam Zafer ÇAVUŞ'a ve biricik annem Berrin ÇAVUŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Semra ÇAVUŞ

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ viii
KISALTMA LİSTESİ x
ŞEKİL LİSTESİ xiii
TABLO LİSTESİ xvi
ÖZET xviii
ABSTRACT xx
1 GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 4
2 GENEL BİLGİLER 5
2.1 Giriş 5
2.1.1 Nanokil Yapısı ve Özellikleri 5
2.1.2 Organokil Yapısı ve Özellikleri 7
2.1.3 Polimer-Kil Nanokompozit Malzemeler ve Gıda Ambalajlamada Kullanımı 9
2.1.4 Gıda ile Temas Eden Madde ve Malzemelerde Nanomateryallerin Kullanımına İlişkin Ulusal ve Uluslararası Yasal Düzenlemeler 14
2.1.5 Nanokil İçeren Polimerik Gıda Ambalajlama Sistemlerinde Kütle Transfer Mekanizmaları 19
2.1.6 Migrasyon Testleri 21
2.1.7 Nanokil Karakterizasyonu 25
3 MATERYAL VE METOT 32
3.1 Materyal ve Kimyasallar 32
3.1.1 Nanokil Organomodifikasyonu 33
3.1.2 Organokil Karakterizasyonu 34

3.1.3 Sitotoksik Etkinin Belirlenmesi 35
3.1.4 Film Materyallerinin Eldesi 36
3.1.5 Film Materyallerinin Karakterizasyonu 41
3.1.6 Migrasyon Analizleri 47
3.1.7 İstatistiksel Analiz 50
4 BULGULAR VE TARTIŞMA 51
4.1 Organokil Karakterizasyonu 51
4.1.1 Organokillerin Partikül Boyut Analizi 51
4.1.2 Organokillerin Zeta Potansiyel Değerleri 54
4.1.3 Organokil Solüsyonlarının Elektriksel İletkenliği 55
4.1.4 Organokilerin Yapısal Özellikleri 57
4.1.5 Organokillerin XRD Analizi 62
4.1.6 Organokillerin Sitotoksik Özellikleri 65
4.2 Termoplastik Nişasta Esaslı Nanokompozit Filmlerin Özellikleri 73
4.2.1 Filmlerin Özellikleri 73
4.2.2 Filmlerin Migrasyon Özellikleri 98
4.3 Sodyum Aljinat Esaslı Filmler 108
4.3.1 Optimizasyon Çalışmaları 108
4.3.2 Filmlerin Özellikleri 113
4.3.3 Filmlerin Migrasyon Özellikleri 136
5 SONUÇ VE ÖNERİLER 146
KAYNAKÇA 152
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR 167

SİMGE LİSTESİ

w	Ağırlık
w/w	Ağırlık/ağırlık
w/v	Ağırlık/hacim
Å	Angström
±	Artı eksi
/	Bölü
>	Büyüktür
T_g	Camsı geçiş sıcaklığı
×	Çarpı
dk	Dakika
rpm	Dakikadaki devir sayısı
λ	Dalgaboyu
°	Derece
dm^2	Desimetre kare
R^2	Determinasyon katsayısı
ΔH_m	Erime entalpisi
T_m	Erime sıcaklığı
g	Gram
v	Hacim
v/v	Hacim/hacim
J	Joule
kg	Kilogram
kHz	Kilohertz
T_c	Kristalizasyon sıcaklığı
<	Küçüktür
L^*	Lightness (Aydınlık)
L	Litre
mPa	Megapaskal

m^2	Metrekare
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
meq	Milieşdeğer
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mS	Milisaniye
mV	Milivolt
ppb	Milyarda bir
ppm	Milyonda bir
-	Negatif
N	Normal
nm	Nanometre
Pa	Paskal
+	Pozitif
s	Saniye
°C	Santigrad derece
cm	Santimetre
cm^2	Santimetre kare
S/N	Sinyal/gürültü
θ	Teta
ΔE	Toplam renk farkı
ε	Uzama katsayısı
W	Watt
%	Yüzde
ζ	Zeta potansiyel

KISALTMA LİSTESİ

AAS	Atomic Absorption Spectrometry (Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi)
AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AFM	Atomic Force Microscopy (Atomik Kuvvet Mikroskobu)
ANOVA	Analysis of Variance (Varyans Analizi)
AR-GE	Araştırma ve Geliştirme
ASTM	American Society for Testing and Materials (Amerikan Test ve Malzeme Topluluğu)
ATCC	American Type Culture Collection (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu)
CEC	Cation Exchange Capacity (Katyon Değişim Kapasitesi)
CMC	Critical Micelle Concentration (Kritik Misel Konsantrasyonu)
CNC	Selüloz Nanokristal
CTAB	Cetyltrimethylammonium Bromide
DLS	Dynamic Light Scattering (Dinamik Işık Saçılımı)
DSC	Differential Scanning Calorimetry (Diferansiyel Taramalı Kalorimetri)
EB	Elongation at Break (Kopma Anında Uzama)
ENP	Engineered Nanoparticles (Tasarlanmış Nanopartiküller)
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
FDA	Food and Drug Administration (Amerika Gıda ve İlaç İdaresi)
FE-SEM	Field Emission Scanning Electron Microscopy (Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu)
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi)
GRAS	Generally Recognized as Safe (Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen)
HNT	Halloysit
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma-Mass Spectroscopy (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrokopisi)

ICP-OES	Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (Indüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi)
IR	Infrared (Kızılötesi)
ISO	International Organisation for Standardisation (Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı)
LOD	Limit of Detection (Tespit Limiti)
LOQ	Limit of Quantification (Ölçüm Limiti)
MPPO	Modifiye Polifenilen Oksit
MMT, Mt	Montmorillonit
oMt	Organomodifiye Montmorillonit
PEG	Polyethylene Glycol (Polietilen Glikol)
PEO	Polietilen Oksit
PET	Polyethylene Terephthalate (Polietilen Tereftalat)
PLA	Polylactic Acid (Polilaktik Asit)
PV	Peroxide Value (Peroksit Değeri)
PVA	Polivinil Alkol
RH	Relative Humidity (Bağıl Nem)
RSM	Response Surface Method (Yüzey Yanıt Yöntemi)
SML	Spesifik Migrasyon Limiti
SA	Sodyum Aljinat, Aljinat
SEM	Scanning Electron Microscopy (Taramalı Elektron Mikroskobu)
T	Transmitans, Işık Geçirgenliği
TAGEM	Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
TEM	Transmission Electron Microscopy (Geçirimli Electron Mikroskobu)
TPS	Thermoplastic Starch (Termoplastik Nişasta)
TS	Tensile Strength (Çekme Dayanımı)
TM	Toplam Migrasyon
TML	Toplam Migrasyon Limiti
Tween-80	Polyethylene Glycol Sorbitan Monooleate
UV	Ultraviyole
W_a	Su Absorpsiyon Kapasitesi
W_s	Suda Çözünürlük
WCA	Water Contact Angle (Su Temas Açısı)

WVP	Water Vapor Permeability (Su Buharı Geçirgenliği)
XRD	X-Ray Diffractometer (X-Işını Kırınımı)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Montmorillonit nanokilinin yapısı [14] 7

Şekil 2.2 Organokilde kullanılan sürfaktan yapısına bağlı olarak tabakalı montmorillonit için olası reaksiyon mekanizmaları [22] 9

Şekil 2.3 Polimer nanokil kompozitlerin hazırlanmasında farklı yöntemler ile elde edilebilecek kompozit tipleri [25] 10

Şekil 2.4 Permeatın difüzyon yolunun şematik gösterimi (a) saf polimerde, (b) polimer-kil nanokompositte [18] 11

Şekil 2.5 Amiloz ve amilopektinin kimyasal yapısı [30] 12

Şekil 2.6 Sodyum aljinat zincirinde 1-4 glikozidik bağları ile bağlanan β-D-mannuronic acid (M monomeri) ve α-L-guluronic acid (G monomeri) kimyasal yapısı [35] 14

Şekil 2.7 Aljinatın Ca^{+2} iyonu ile çapraz bağlanması ve yumurta kutusu (egg-box) modeli [33] 14

Şekil 2.8 Plastik ambalaj materyali boyunca sorpsiyon, difüzyon ve desorpsiyon [50] 20

Şekil 2.9 Nanoparçacıkların çevreyle etkileşimi (Biorender.com kullanılarak görsel oluşturulmuştur.) 21

Şekil 2.10 Bir partikül etrafında oluşan elektriksel çift tabaka [63] 26

Şekil 2.11 TEM tekniğinde projeksiyon ile nanokompozitlerdeki üç boyutlu (3D) nano yapıların iki boyuta (2D) dönüştürülmesi [64] 27

Şekil 2.12 Kristal düzlemler tarafından X-ışınlarının kırılımı [66] 30

Şekil 2.13 ICP-MS sisteminin şematik gösterimi [66] 31

Şekil 3.1 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmleri hazırlama prosedürü (Biorender.com kullanılarak görsel oluşturulmuştur.) 37

Şekil 3.2 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin hazırlama prosedürü (Biorender.com kullanılarak görsel oluşturulmuştur.) 41

Şekil 3.3 Ambalaj filminin su buharı geçirgenlik hızının belirlenmesinde kullanılan desikant metodunun şematik gösterimi [93] 44

Şekil 4.1 Katyonik sürfaktan içeren organokil (CTAB-oMt) solüsyonlarının konsantrasyon ve iletkenlik grafiği 56

Şekil 4.2 Farklı miktarlarda katyonik sürfaktan (CTAB) ile modifiye edilmiş organokillerin FT-IR spektrumları 58

Şekil 4.3 Farklı miktarlarda non-iyonik sürfaktan (Tween-80) ile modifiye edilmiş organokillerin FT-IR spektrumları 61

Şekil 4.4 Kontrol nanokilinin (Mt), katyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokilin (5-CTAB-oMt) ve non-iyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokilin (3-Tween-oMt) XRD desenleri 63

Şekil 4.5 Kil tabakaları arasındaki katyonlarının potansiyel konfigürasyonları ... 64

Şekil 4.6 Non-iyonik sürfaktan (glycol mono-n-decyl ether, $C_{10}E_3$) ile montmorillonit organomodifikasyonu sonucu oluşan tek ve çift tabaka konfigürasyonlarının şematik gösterimi [22] 65

Şekil 4.7 Farklı konsantrasyondaki örneklerin HT-29 kanser hücresi canlılığına (%) etkisi 68

Şekil 4.8 Farklı konsantrasyonda 5-CTAB-oMt numunesi ile muamele sonucunda HT-29 kanser hücrelerinin mikroskobik görüntüleri (20x) 69

Şekil 4.9 Farklı konsantrasyondaki örneklerin L-929 sağlıklı hücre canlılığına (%) etkisi 71

Şekil 4.10 L-929 sağlıklı hücrelere ait kontrol ve 62,5 ppm katyonik CTAB sürfaktanı ile muamele sonrası elde edilen mikroskop görüntüleri (20x) 72

Şekil 4.11 Modifiye edilmemiş kil ve organokillerin L-929 sağlıklı hücre canlılığına (%) etkisi 73

Şekil 4.12 Termoplastik nişasta esaslı filmlerin FT-IR spektrumları 75

Şekil 4.13 Farklı oranlarda (a) Mt, (b) CTAB-oMt, (c) Tween-oMt içeren termoplastik nişasta esaslı materyallerin DSC termogramları 76

Şekil 4.14 Termoplastik nişasta esaslı filmlerin mekanik özellikleri (çekme dayanımı ve kopma anındaki uzama) 85

Şekil 4.15 TPS esaslı film materyallerinin su buharı geçirgenliği (WVP) 88

Şekil 4.16 Termoplastik nişasta esaslı filmler ile kapatılmış ayçiçek yağlarının peroksit değerleri (PV) 90

Şekil 4.17 Termoplastik nişasta esaslı film materyallerinin su absorpsiyon kapasitesi (W_a) ve suda çözünürlüğü (W_s) 93

Şekil 4.18 Termoplastik nişasta esaslı (a) en hidrofilik (N) ve (b) en hidrofobik (N-CTAB-oMt-3) filmlere ait su temas açısı görüntüleri 96

Şekil 4.19 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit film yüzeylerinin düşük (250x) ve yüksek (10.000x) büyütmedeki SEM mikrografları 97

Şekil 4.20 Termoplastik nişasta esaslı film materyallerinin asitli ve sulu gıda benzeri ile toplam migrasyon (TM) değerleri 99

Şekil 4.21 Termoplastik nişasta esaslı filmlerin alüminyum (Al) elementi spesifik migrasyon değerleri (ppb) 104

Şekil 4.22 Toplam migrasyon analizinin gliserol (X_1) ve $CaCI_2$-mix (X_2) oranlarına göre değişimini gösteren (a) kontur, (b) üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri 112

Şekil 4.23 Toplam migrasyon analizinin gliserol (X_1) ve $CaCI_2$-immerse (X_3) oranlarına göre değişimini gösteren (a) kontur, (b) üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri 112

Şekil 4.24 Sodyum aljinat esaslı filmlerin 4000-400 cm^{-1} aralığındaki FT-IR spektrumları 114

Şekil 4.25 Sodyum aljinat esaslı filmlerin 1700-1300 cm^{-1} aralığındaki FT-IR spektrumları 115

Şekil 4.26 SA-CTAB-oMt-3 nanokompozitin daldırma yöntemi ile kalsiyumla çapraz bağlanma öncesi ve sonrası FT-IR spektrumları (4000-1200 cm^{-1}) 116

Şekil 4.27 Sodyum aljinat (SA) matriksine farklı oranlarda (%1, 3, 5) katyonik sürfaktan içeren organokil (SA-CTAB-oMt) ilavesinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g) değerlerine etkisi 118

Şekil 4.28 Sodyum aljinat esaslı film materyallerinin su buharı geçirgenliği (WVP) 127

Şekil 4.29 Sodyum aljinat esaslı filmler ile kapatılmış ayçiçek yağlarının peroksit değerleri (PV) 129

Şekil 4.30 Sodyum aljinat esaslı film materyallerinin su absorpsiyon kapasitesi (W_a) ve suda çözünürlüğü (W_s) 131

Şekil 4.31 Sodyum aljinat esaslı (a) en hidrofilik (SA) ve (b) en hidrofobik (SA-Tween-oMt-5) materyallerine ait su temas açısı görüntüleri 134

Şekil 4.32 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit film yüzeylerinin düşük (250x) ve yüksek (10.000x) büyütmedeki SEM mikrografları 135

Şekil 4.33 Farklı oranlarda (%1, 3, 5) kil içeren sodyum aljinat esaslı film materyallerinin asitli gıda benzeri ile toplam migrasyon (TM) sonuçları 137

Şekil 4.34 Sodyum aljinat esaslı filmlerin farklı temas koşullarında (40°C-30 dk ve 70°C-2 saat) alüminyum (Al) migrasyon seviyeleri 140

Şekil 4.35 Sodyum aljinat esaslı filmlerin farklı temas koşullarında (40°C-30 dk ve 70°C-2 saat) demir (Fe) migrasyon seviyeleri 140

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Migrasyon testlerinde kullanılan gıda benzerleri ve kapsadığı gıda grupları 24

Tablo 3.1 Organomodifikasyonda kullanılan sürfaktan oranları 34

Tablo 3.2 Üretilen nanokompozit film materyallerine ait deneme planı 38

Tablo 3.3 Asidik gıda benzerinde SA esaslı filmlerin toplam migrasyon optimizasyonu seviyeleri 39

Tablo 4.1 Katyonik sürfaktan ile modifiye edilen organokillerin ortalama partikül boyutu ve zeta potansiyel değerleri 52

Tablo 4.2 Non-iyonik sürfaktan ile modifiye edilen organokillerin ortalama partikül boyutu ve zeta potansiyel değerleri 52

Tablo 4.3 Non-iyonik Tween-80 sürfaktan içeren organokil solüsyonlarının konsantrasyon ve iletkenlik değerleri 56

Tablo 4.4 Farklı miktarlarda katyonik sürfaktan içeren organokillerin FT-IR analizi ile belirlenen fonksiyonel grup ve frekans değerleri 59

Tablo 4.5 Farklı miktarlarda non-iyonik sürfaktan organokillerin FT-IR analizi ile belirlenen fonksiyonel grup ve frekans değerleri 60

Tablo 4.6 Farklı konsantrasyonda örneklerin HT-29 hücrelerinin hücre canlılığına etkisi (%) 67

Tablo 4.7 Farklı oranlarda kil içeren termoplastik nişasta esaslı materyallerin DSC analizinden elde edilen veriler 78

Tablo 4.8 Termoplastik nişasta esaslı materyallerin renk değerleri 80

Tablo 4.9 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmlerin UV bölge (360 nm) ve görünür bölgedeki (660 nm) ışık geçirgenliği (T) ve opaklık sonuçları 81

Tablo 4.10 Yapısında farklı konsantrasyonlarda kil içeren termoplastik nişasta esaslı nanokompozitlerin çekme dayanımı ve kopma uzaması değerleri 84

Tablo 4.11 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmlere ait su buharı geçirgenliği (WVP) sonuçları 87

Tablo 4.12 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmler ile korunan yağ örneklerine ait peroksit değerleri (PV) 89

Tablo 4.13 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmlerin su absorpsiyon kapasitesi (W_a) ve suda çözünürlük (W_s) sonuçları 91

Tablo 4.14 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmlerin su temas açısı (WCA) değerleri 95

Tablo 4.15 Termoplastik nişasta esaslı film materyallerine ait toplam migrasyon değerleri (mg/dm^2) 102

Tablo 4.16 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit film örneklerinin spesifik migrasyon değerleri (ppb) 107

Tablo 4.17 Sodyum aljinat esaslı filmlerin üretimine ait optimizasyon çalışmalarında kullanılan Box-Behnken deney tasarımı bağımsız değişkenler ve bağımlı değişken sonuçları 108

Tablo 4.18 Toplam migrasyon analizinde bağımlı değişkenler için uygun regresyon modeli 109

Tablo 4.19 Toplam migrasyon analizindeki model özet istatistikleri 109

Tablo 4.20 Toplam migrasyon analizi için varyans analizi (ANOVA) 110

Tablo 4.21 Sodyum aljinat esaslı materyallerin DSC analizinden elde edilen veriler 118

Tablo 4.22 Sodyum aljinat esaslı materyallerin renk değerleri 120

Tablo 4.23 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin UV bölge (360 nm) ve görünür bölgedeki (660 nm) ışık geçirgenliği (T) ve opaklık sonuçları 121

Tablo 4.24 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin çekme dayanımı ve kopma uzaması değerleri 123

Tablo 4.25 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin su buharı geçirgenliği (WVP) sonuçları 125

Tablo 4.26 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmler ile korunan yağ örneklerinin ait peroksit değerleri (PV) 128

Tablo 4.27 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit film materyallerinin su absorpsiyon kapasitesi (W_a) ve suda çözünürlük (W_s) analiz sonuçları 130

Tablo 4.28 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin su temas açısı (WCA) değerleri 133

Tablo 4.29 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin toplam migrasyon değerleri (mg/dm^2) 139

Tablo 4.30 Sodyum aljinat esaslı filmlerin 40°C-30 dk temas koşulu için element spesifik migrasyon değerleri (ppb) 144

Tablo 4.31 Sodyum aljinat esaslı filmlerin 70°C-2 saat temas koşullu için spesifik migrasyon değerleri (ppb) 145

ÖZET

Organokil İlaveli Biyopolimer Nanokompozit Gıda Ambalajlarının Üretimi, Karakterizasyonu ve Migrasyon Özellikleri

Semra ÇAVUŞ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Gıdaların korunmasında nanokompozit ambalajların kullanımı artmakta olup, biyoesaslı filmlere nanodolgu ilavesi endüstriyel ölçeklenebilir ve sürdürülebilir bir yaklaşım sunmaktadır. Bu çalışmada, montmorillonit nanokili katyonik ve non-iyonik sürfaktanlarla organomodifiye edilerek interkalasyon arttırılmış; elde edilen organokillerin fizikokimyasal özellikleri incelenmiş ve optimum sürfaktan seviyeleri belirlenmiştir. Sitotoksisite analizleri, sağlıklı hücre hattında optimum organokillerin 15,6-250 ppm konsantrasyon aralığında toksik etki göstermediğini ortaya koymuştur. Optimize edilmiş termoplastik nişasta (TPS) ve sodyum aljinat (SA) matrikslerine %1, %3 ve %5 oranlarında organokil ilavesiyle nanokompozit filmler üretilmiştir. Filmlerin spektroskopik, termal, mekanik, renk-optik, bariyer ve morfolojik özellikleri değerlendirilmiştir. Modifiye edilmemiş nanokile kıyasla daha düşük miktarda organokil kullanımı matrikslerin termal özelliklerinde iyileşmeler sağlamış; TPS filmlerde T_g'de yaklaşık %42 artış ve T_m'de %19 azalış elde edilmiştir. Renk analizi, organokil içeren nanokompozitlerin kontrol örneklerine daha yakın değerler sergilediğini ve organomodifikasyonun kilin polimer matriksi içerisinde daha homojen dağılım sağladığını göstermiştir.

Organokil ilavesi; görünür bölgeye kıyasla UV bölgede geçirgenliği daha fazla azaltmış (TPS ve SA filmlerde sırasıyla %26–38 ve %20–23) ve görsel saydamlık korunurken yüksek UV bariyer özelliği kazandırmıştır. Mekanik özellikler açısından nanokompozitler, kontrole kıyasla daha yüksek çekme dayanımı ve daha düşük kopma uzaması sergilemiş; bariyer özelliklerinde belirgin iyileşmeler göstermiştir. Organokil ilaveli TPS filmlerde su buharı geçirgenliği %16-28 azalırken, SA filmlerde su absorpsiyon kapasitesi %15-30 ve suda çözünürlük %65-84 oranında düşmüştür. Su temas açısı ölçümleri, nanokompozitlerin yüzey hidrofobikliğinin anlamlı düzeyde arttığını ($p<0,05$) ortaya koymuştur. Yüzey morfolojisi, organokillerin polimer yapısında modifiye edilmemiş kil içerenlere göre daha homojen dağıldığını ortaya koymuştur. Toplam migrasyon analizlerinde, organokil içeren nanokompozitlerin polar; tüm nanokompozitlerin ise non-polar simulantlarla elde edilen değerleri, mevzuat sınırı olan 10 mg/dm^2'nin altında kalmıştır. Ayrıca nanokompozitlerin spesifik element migrasyonları SML limitlerinin oldukça altında bulunmuştur. Bu bulgular, TPS ve SA esaslı biyopolimerlere düşük oranlarda (<%5) organokil ilavesinin, gıda ambalajı uygulamaları için etkin, güvenli ve ekonomik bir nanokompozit alternatif sunduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Montmorillonit, organokil, nanokompozit film, gıda ambalajlama, migrasyon.

ABSTRACT

Production, Characterization, and Migration Profiles of Organoclay Enhanced Biopolymer Nanocomposite Food Packaging

Semra ÇAVUŞ

Department of Food Engineering

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Muhammet ARICI

The use of nanocomposite packaging materials in food preservation has increased, and incorporation of nanofillers into bio-based films offers a scalable and sustainable approach for industrial production. In this study, montmorillonite nanoclay was organomodified with cationic and non-ionic surfactants to enhance intercalation; physicochemical properties of organoclays were investigated, and optimum surfactant levels were determined. Cytotoxicity analyses revealed that organoclays did not exhibit toxic effects on healthy cell lines within 15,6–250 ppm. Nanocomposite films were produced by incorporating 1%, 3%, and 5% organoclays into optimized thermoplastic starch (TPS) and sodium alginate (SA) matrices. The films were characterized in terms of spectroscopic, thermal, mechanical, color–optical, barrier, and morphological properties. Compared to unmodified nanoclay, lower amounts of organoclay contents improved thermal properties of matrices, resulting in an approximately 42% increase in T_g and 19% decrease in T_m of TPS-based films. Color analysis showed that organoclay-containing nanocomposites closely matched control values, and organomodification promoted a more homogeneous clay dispersion within polymer matrix. Organoclay addition reduced

UV transmittance more effectively than visible light transmittance, achieving 26–38% and 20–23% reductions in TPS and SA films, respectively, while maintaining transparency. Nanocomposites exhibited higher tensile strength and lower elongation at break, along with enhanced barrier properties. WVP decreased by 16–28% in TPS films, while SA films showed 15–30% and 65–84% reductions in W_a and W_s. Contact angle measurements indicated a significant increase in surface hydrophobicity ($p<0,05$). Surface morphology revealed more uniform organoclay dispersion than in films with unmodified clay. Total migration tests showed that values in polar and non-polar simulants remained below 10 mg/dm² regulatory limit**.** Additionally, specific migration of elements was well below established SML limits. These findings demonstrate that incorporation of low amounts (<5%) of organoclay into TPS- and SA-based biopolymers provides an effective, safe and cost-efficient nanocomposite alternative for food packaging.

Keywords: Montmorillonite, organoclay, nanocomposite film, food packaging, migration.

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Ambalaj içine konulan ürünü taşıması, muhafaza etmesi ve kalitesini koruması, ürünü tüketiciye sunması ve ürün hakkında detaylı bilgi vermesi nedeniyle tüketim malları için önemli bir rol oynamaktadır. Ambalaj materyalleri cam, kağıt, metal, kumaş ve plastik gibi çeşitli matrikslerde olabilmektedir. Diğer malzemeler ile karşılaştırıldığında plastik polimeri nispeten yeni bir malzeme olup, ambalajlamada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [1].

Plastik madde ve malzemeler prosesteki işleme kolaylığı, hafifliği, format çeşitliliği ve düşük maliyetinden dolayı gıda ambalajı için oldukça popülerdir. Genel olarak ambalajlamada kullanılan polimerik materyallerdeki sorunlardan biri gazlara ve diğer küçük moleküllere karşı doğasında var olan geçirgenliktir. Polimerin geçirgenliği yan zincirlerin pozisyonu, polaritesi, hidrojen bağları, molekül ağırlığı, çapraz bağlanma ve kristalinite özellikleri gibi pek çok faktörden etkilenmektedir. Saf polimerler her türlü gıda ambalajında kullanımı için gereken bariyer ve mekanik özelliklere sahip olamadığında, farklı polimer karışımları veya çok katmanlı filmler ile kullanılmaktadır. Plastik malzemeyi geliştirmek için kullanılan yöntemler arasında yapıya nanopartikül ilavesi ile materyalin karakteristik özelliklerin arttırılması da yer almaktadır [2].

Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı (International Organisation for Standardisation, ISO) tarafından yapılan tanıma göre nanoboyut, 1-100 nm arasındaki uzunluğu ifade etmektedir. Nanoölçek boyutunu kavrayabilmek için bir vişne (1 nm) ile Dünya (1 m) karşılaştırılması yapılabilir [3]. Polimer nanokompozitler, polimerler ile inorganik veya organik dolguların hibrit materyalleri olarak tanımlanmakta olup, dolgu fazının en az bir boyutu 100 nm'den daha küçüktür. Polimerik malzemenin yapısında nanopartikül kullanımı ile gazlara karşı bariyer özelliklerinin iyileşmesi, mekanik özelliklerinin gelişmesi,

antimikrobiyal ve biyoçözünürlük özelliklerinin artması veya nano-sensörler ile depolama ve taşıma sırasında izlenebilirlik gibi özellikler sağlanabilmektedir. Sürekli büyüme potansiyeline sahip nanomateryal disiplini içinde gıda ambalajlama sektörü, AR-GE ve ticari uygulamalar açısından geleceği parlak ve gelişmiş bir etki alanına sahiptir. Nanopartiküllerin sahip olduğu geniş çeşitlilik (organik/mineral nano-küre, nano-tüp veya nano-tabaka) gıda için inovatif ambalaj malzemelerin (sürdürülebilir, biyoçözünür, aktif veya akıllı) geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Nanokompozit gıda ambalajlama sayesinde polimer ana materyal ağırlığında azalma, mekanik güçte artış, arttırılmış ısıl direnç ve alev geciktirme gibi özelliklerin yanı sıra, gıdanın raf ömrü uzayabilmekte, besinsel kalite ile duyusal özellikler korunmakta ve gelişmiş bariyer özellikler (örneğin oksijen (O_2), karbon dioksit (CO_2), ultraviyole (UV), nem ve uçucu bileşenlere karşı) elde edilebilmektedir. Ayrıca yapısında nanokil içeren daha ince/hafif malzemeler, nanokil içermeyen daha kalın/ağır materyaller ile benzer mekanik ve bariyer özelliklerine sahip olarak üretilebilmesi ile kullanım sonrasında oluşan plastik katı atık miktarı azaltılabilmektedir [2], [4].

Küresel nanomateryal pazarı, son yıllarda hızlı bir büyüme göstermiştir. Gerçekleştirilen bir pazar araştırmasına göre, global nanomateryal pazarının 2021 yılında 16,3 milyar ABD doları büyüklüğünden, yıllık %14,6'lık bir artış hızıyla 2031 yılında 62,8 milyar ABD dolarına ulaşması öngörülmüştür. İlgili raporda 2020 yılında COVID-19 salgınındaki karantinalar nedeniyle nanomateryallere olan talebin azaldığı belirtilmiştir. Ancak 2021 yılı itibariyle özellikle COVID-19 ve diğer viral enfeksiyonların tespiti, önlenmesi ve tedavisinde nanomateryallerin kullanılmasına yönelik yeni potansiyeller oluşturması ile nanomateryallere olan talep artmıştır [5]. Gıda ve içecek ambalajlama endüstrisi ile beraber farklı sektörlerde (su arıtma, otomotiv, biyomedikal, boya ve kaplama) nanokil kullanımını içeren başka bir pazar araştırmasına göre, nanokil pazarı 2023 yılında yaklaşık 943 milyon ABD doları değerinde olup, yıllık %9 büyüme hızıyla 2032 yılına kadar 2,14 milyar ABD dolarının üzerinde bir pazar değerine ulaşması beklenmektedir. Bu raporda nanokiller arasında özellikle montmorillonit (MMT, Mt)'in baskın bir pazar payına sahip olduğu belirtilmiş olup, 2032 yılına kadar 1,36 milyar ABD dolarına ulaşması öngörülmektedir [6].

Nanomateryallerin potansiyeli büyük olmakla beraber, bu teknolojilerin gelecekteki büyümesini şekillendirecek bazı kritik faktörler vardır. Nanomateryal pazarının büyümesini kısıtlayan başlıca faktörler arasında insan sağlığı ve çevre üzerindeki etkilerine ilişkin endişeler (nanomalzemelerin toksisitesi, toksik çözücülerin varlığı, tehlikeli ara bileşen salınımı, nanomateryallerin üretimi veya işlenmesinden kaynaklanan atıkların toksisitesi) ve hükümetlerin çevre regülasyonları kapsamında yaptıkları kısıtlamalar yer almaktadır [7]. Tasarlanmış nanopartiküller (engineered nanoparticules) biyolojik sistemlere atmosferik, akuatik (su), karasal çevre ya da gıda gibi farklı yollarla doğrudan ve/veya dolaylı olarak temas sonucunda girebilmektedir. Nanopartiküllerin yapısına eklendiği matriks materyal boyunca kütle transferi, güvenilirliği ve maruz kalma dozajının belirlenmesi konuları kritik öneme sahiptir. Nanokompozitlerin yaygın bir şekilde kullanımı, nanopartikül ve yan ürünlerinin farklı ortamlara salınması sonucunda çevre ve biyolojik sistemlere olası bulaşısı endişelerini arttırmaktadır. Nanopartiküller biyolojik sistemlere girdikten sonra hücre ve canlı dokularla etkileşime girerek istenmeyen bazı sağlık sorunlarına neden olabilmektedir [8].

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) ve Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) özellikle gıda ile temas eden malzemelerde nanomateryal kullanımının farkında olup, belli aralıklarla regülasyonlarda düzenlemeler yapmakta, çalışma ve raporlar yayınlamaktadır. FDA tarafından nanoteknolojinin gıda ile temas eden malzemeleri de içerecek şekilde farklı ürünlerde kullanımı üzerine rehber dokümanlar yayınlanmıştır [9]. EFSA tarafından ise gıda ve yem ürünlerinde (örneğin yenilikçi gıda, katkı maddeleri, gıda ile temas eden materyaller ve pestisitler gibi) nanopartiküller dahil olmak üzere küçük parçacıkların varlığını tanımlamak ve belirlemek için teknik gereksinimler hakkında bilgi gerekliliklerini belirleyen rehberler belli aralıklarla güncellenerek yayınlanmaktadır [10], [11], [12]. Türkiye'de nanomateryaller hakkında özel bir yasa ve/veya düzenleme bulunmamakla birlikte, genel olarak ülkemizdeki regülasyonlar, uluslararası ve Avrupa Birliği (AB) normlarına paralel şekilde hazırlanmaktadır.

Kısacası inorganik ve organik esaslı nanomateryallerin çevre ve biyolojik sistemler üzerindeki potansiyel riskleri, özellikle kompleks matrikslerde nanopartiküllerin tespit ve karakterize edilmesindeki eksiklikler nedeniyle tam olarak anlaşılamamış ve maruz kalma seviyeleri değerlendirilememiştir [13]. Polimer nanokompozit gıda

ambalaj materyallerinden nanokil ve sürfaktanların salınım mekanizmaları üzerine yapılmış çalışmalar oldukça sınırlıdır. Özellikle farklı gıda türleri, temas sıcaklık ve sürelerinde farklı biyopolimer yapılarından bu bileşenlerin taşınma mekanizmalarının incelenmesi, migrasyon karakteristiklerinin belirlenmesi ve risk değerlendirilmesinin yapılması son derece önemlidir.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında, gıda ambalaj uygulamalarında kullanılmak üzere biyoesaslı nanokompozit filmler geliştirmek amacıyla montmorillonit nanokilinin farklı sürfaktanlar ile organomodifikasyonunu gerçekleştirmek ve elde edilen organokillerin termoplastik nişasta ve sodyum aljinat matriksleri içerisindeki etkilerini kapsamlı olarak değerlendirmek amaçlanmıştır. Bu kapsamda, organomodifikasyon işleminin etkinliği karakterizasyon analizleri ile incelenerek optimum sürfaktan seviyeleri belirlenmiştir. Buna göre en iyi performansı gösteren organokillerin ve üretiminde kullanılan bileşenlerin (kil ve sürfaktan), sağlıklı hücre hatlarında biyogüvenlilikleri, kanserli hücreler hatlarında ise antiproliferatif potansiyelleri sitotoksisite testleri aracılığıyla değerlendirilmiştir. Ayrıca, farklı oranlarda organokil içeren termoplastik nişsata ve sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin spektroskopik, termal, mekanik, renk-optik, bariyer ve morfolojik özellikleri değerlendirilerek, ambalaj uygulamaları açısından performansları, güvenlikleri ve potansiyel kullanım olanakları ortaya konmuştur. Nanokompozit gıda ambalaj film materyallerinin toplam ve spesifik migrasyon özellikleri incelenerek, gıda güvenliği açısından salım mekanizmalarının anlaşılması ve mevzuat limitleri çerçevesinde uygunluklarının belirlenmesi hedeflenmiştir. Böylece, gıda ambalajlamasında nanomateryal kullanımına yönelik risk değerlendirilmesi yapılarak ülkesel mevzuat düzenlemeleri ve kontrol mekanizmalarına bilimsel veri sağlanması; hammadde olarak büyük ölçüde ithal edilen petrol esaslı plastiklere alternatif olarak biyoesaslı gıda ambalajlarının daha etkin, kaliteli, ekonomik biçimde kullanılmasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

2
GENEL BİLGİLER

2.1 Giriş

Bu bölümde nanokillerin yapı ve özellikleri, organomodifikasyonu, polimer-kil nanokompozitler, potansiyel riskleri ile gıda ambalajı konusundaki AB ve Türkiye'deki güncel regülasyonlar özetlenmiştir. Ayrıca nanokil ve sürfaktanın gıda ambalajlamada kullanımı, migrasyon testleri, nanokilin tespit ve karakterizasyon yöntemleri açıklanmıştır.

2.1.1 Nanokil Yapısı ve Özellikleri

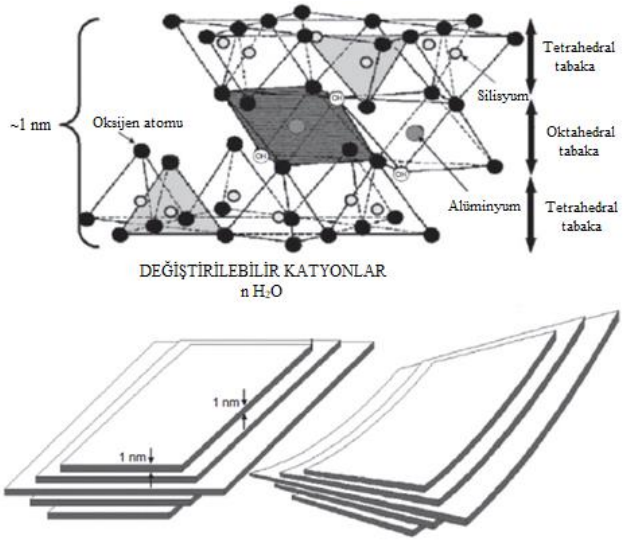
Kil minerali, 2:1 filosilikatlar (tabakalı silikatlar) grubunda yer alan kaya, tortul ve toprakların çok ince taneli yapılardır. Mineraller içerisinde silikatlar yeryüzündeki en büyük ve kompleks sınıfı içermekte olup, yer kabuğunun %90'ının silikatlardan oluştuğunu tahmin edilmektedir. Oksijen ve silisyum yer kabuğunda en bol bulunan iki element olduğundan silikatların doğadaki bolluğu sürpriz bir sonuç değildir. Silikatların temel kimyasal birimi SiO_4 olup, -4 yüke sahip tetrahedron (dört yüzlü) şeklinde anyonik bir grup içermektedir [14]. Silikatların yapısında değişen oranlarda SiO_4 ve AlO_6 birimlerinden oluşan tetrahedral ve oktahedral tabakalar belirli bir düzen halinde bir arada bulunmaktadır. Yapıda bir tetradedral ve bir oktahedral yapı bulunuyorsa tabaka tipi 1:1, iki tetrahedral ve bir oktahedral yapı bulunuyorsa tabaka tipi 2:1 olarak isimlendirilmektedir [15].

Yapıdaki her katmanın (tabakanın) kalınlığı 1 nm civarında olup, bu tabakaların yanal boyutları 30 nm'den birkaç mikrona kadar değişebilmektedir. Bu katmanların istiflenmesi, katmanlar arasındaki boşlukta düzenli van der Waals bağlarının oluşumuna yol açmakta ve bu boşluğa ara katman (interlayer) veya galeri denilmektedir. Her bir yapı 0,25-0,9 negatif yüke sahip olup, ara katmanlarda çeşitli türlerde değiştirilebilir katyonlar yer almaktadır. Katmanlar arasında katyonların izomorfik yer değiştirmesi sonucunda negatif yükler üretilmekte ve galerilerin

içinde yer alan alkali ve toprak alkali katyonlar dengelenmektedir. Buna örnek olarak Al^{+3} iyonu ile Mg^{+2} veya Fe^{+2} iyonlarının yer değiştirmesi ya da Mg^{+2} ile Li^{+} iyonunun yer değiştirmesi verilebilir. Genellikle silikatların yapısındaki galerilerde büyük yüzdelerde hapsolmuş su molekülleri yer almaktadır. Silikatlar kimyasal ve yapısal olarak birbirine benzerlik gösterse de, yapılarında değişen oranlarda su bulundurmakta ve katyonları yer değiştirebilmektedir [14], [16].

Tabakalı silikat türü katyon değişim kapasitesi (cation exchange capacity, CEC) olarak bilinen yüzey yükü ile karakterize edilmekte olup, genellikle milieşdeğer (meq) pozitif yük/100 g olarak ifade edilmektedir. CEC değeri, kil mineralinin yüzeyindeki negatif yüklü iyonlar tarafından tutulan pozitif iyon (genellikle Al^{+3}, Ca^{+2}, Mg^{+2}, Mn^{+2}, Zn^{+2}, Cu^{+2}, Fe^{+2}, Na^{+}, K^{+}, H^{+}) miktarını ifade etmektedir. İnce taneli kil partiküllerinde yüzey alanı yüksek (yüzlerce m^2/g) olduğundan daha fazla sayıda katyon adsorbe edilebilmektedir. Bu yük, miktarı tabakadan tabakaya göre değiştiğinden tüm kristal için ortalama bir değer olarak hesaplanmaktadır [17].

Genel olarak kil mineralleri kaolin, smektit ve illit veya mika-kil grubu olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar arasında smektit grubu polimer nanokompozitler alanında en yaygın kullanılan killerdir. Smektit grubundaki montmorillonit (MMT, Mt), doğada bol bulunduğu ve ucuz olduğu için nanokompozitlerin üretimi için en yaygın kullanılan tabakalı silikattır. Montmorillonit ismi, tabakalı silikatın Fransa'daki Montmorillon yakınlarında bulunmasından dolayı verilmiş olup, ilk kez 1847'de tanımlanmıştır [14]. Bu çalışmada kullanılan nanokil montmorillonitin genel formülü M_y $(Al_{(4-y)}$ $Mg_y)$ $Si_4O_{10}(OH)_2 \cdot nH_2O$ (M: Na^{+}, Ca^{+2} gibi pozitif katyonlar)'dir. MMT'nin kristal yapısı, iki silika (Si^{+4}) tetrahedral tabaka arasındaki alüminyum (Al^{+3}) veya magnezyum (Mg^{+2}) içeren oktahedral bir tabakadan oluşmaktadır (Şekil 2.1). Doğal olarak oluşan MMT yapısında yaklaşık 1 nm ara katman boşluklu paralel kil tabakaları istiflenmiştir. Her katman kalınlığı yaklaşık 1 nm ve çapı 20-200 nm'dir. MMT, 750 m^2/g 'lik geniş bir yüzey alanına ve 110 meq/100 g 'lık yüksek bir CEC değerine sahiptir. Geniş yüzey alanı ve yüzey yükü, MMT'yi hem küçük hem de büyük moleküller için ideal bir sorbent haline getirmektedir. Su molekülleri hem iç hem de dış nanokil yüzeylere adsorbe edilerek kil tabakalarının şişmesini sağlamaktadır. Adsorpsiyon temel olarak kil galerisindeki katyonların boyutu ve yükü ile sillika tabakalarındaki yükten etkilenmektedir [18].



Şekil 2.1 Montmorillonit nanokilinin yapısı [14]

2.1.2 Organokil Yapısı ve Özellikleri

Saf nanokiller hidrofilik olduğundan, tabakalar arasındaki katyonların hidrasyonu yoluyla su molekülleri tarafından şişebilmektedir. Saf nanokiller, nanokompozitleri oluşturmak üzere polimerlerin içine gömüldüklerinde tam olarak homojen bir dağılım sağlamayabilir; bu durum nanokil partiküllerinin bir araya toplanması ve faz ayrımına yol açabilir. Nanokil ile polimer arasındaki uyumu geliştirmek ve polimerde homojen dağılımını sağlamak için nanokilin organofilik yapıya dönüştürülmesi gerekebilmektedir [18].

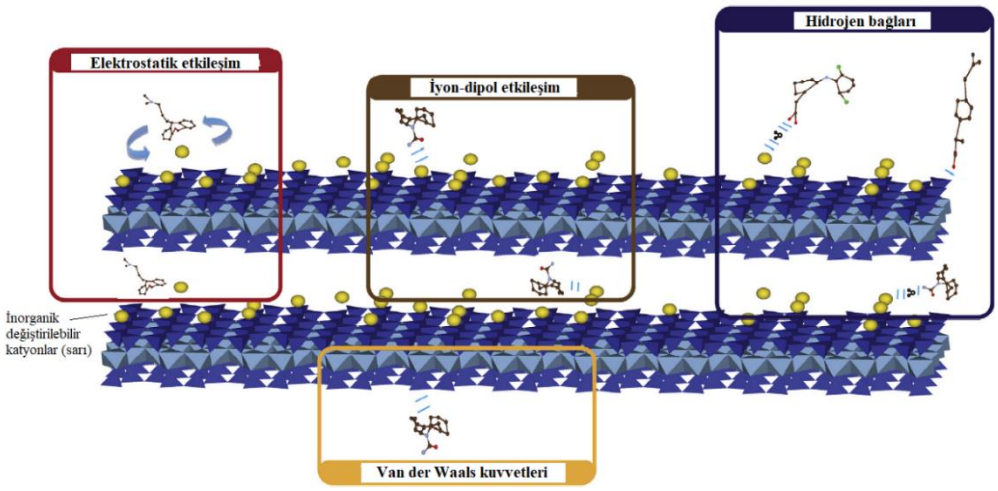
Organomodifikasyon, kil minerallerinin organik bileşikler (yüzey etken madde, sürfaktan) ile birleştirildiği reaksiyonlara dayanmaktadır. Yer değiştirme reaksiyonlarında, ara katman katyonları çeşitli organik katyonlarla yer değiştirmektedir. Organofilizasyon olarak da adlandırılan bu işlemin, polimerik matriks içindeki kil mineral partiküllerinin tabakalarına ayrılmasının (exfoliation) başarılı olması için önemlidir. Organofilik yapıda kil mineralinin enerjisi azalmakta ve organik polimer ile daha uyumlu hale gelmektedir. Ayrıca organokillerin polimerik matrikslere ilavesi, matrikslerin mekanik, fiziksel (termal ve bariyer) ve kimyasal özelliklerini iyileştirmekte ve kullanılan materyal maliyetini düşürebilmektedir [16], [19].

Sürfaktanlar uzun organik moleküller olup**,** hem hidrofilik hem lipofilik gruplara sahiptirler. Çözücü içinde düşük konsantrasyonlarda çözündüklerinde, sürfaktan molekülleri solüsyonda monomerler halinde bulunurlar. Solüsyona nanopartiküller

eklendiğinde, sürfaktanların polar grupları nanopartikül yüzeyi ile güçlü bağlar oluşturma eğiliminde olup, elektrostatik itme ve sterik engeller nanopartiküllerin agregasyonuna engel olmaktadır. Sürfaktan konsantrasyonunun arttırılması devam ettiğinde, nanopartikül yüzeyinde çoklu tabaka (multilayer) adsorpsiyonu gerçekleşmekte ve sürfaktan miselleri oluşmaktadır [20]. Kritik misel konsantrasyonu (critical micelle concentration, CMC) iyonik sürfaktanlar için önemli bir özelliktir. Sürfaktanın CMC noktasının belirlenmesi, sulu ortamda adsorpsiyon mekanizması ve aktif yüzey kimyasının anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. CMC değerinin altındaki konsantrasyonlarında sürfaktan bağımsız moleküller (monomer) halinde iken, CMC kritik seviyesi geçildikten sonra sürfaktanlar misel yapılarını oluştururlar. Sulu ortamdaki iyonik sürfaktanın CMC noktası yüzey gerilimi, elektriksel iletkenlik, termal iletkenlik gibi farklı teknikler ile belirlenebilmektedir. Elektriksel iletkenlik, CMC noktasının belirlenmesinde en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir [21].

Organokil elde etmek için en kolay yöntem sulu çözelti hazırlamaktır. Sulu çözeltideki değişebilir katyonlar, itici kuvvetler oluşturarak filosilikat tabakalarının eksfoliye olmasını (kil tabakalarının birbirlerinden tamamen ayrılması) sağlar ve yüzey alanı artar. Böylece sürfaktan ile kilin adsorpsiyon ve etkileşimi kolaylaşmaktadır. Organokil eldesinde montmorillonit kili ile çeşitli organik bileşikler Şekil 2.2'de gösterildiği gibi farklı mekanizmalar ile etkileşime girebilmektedir. Yüzeyi negatif yüklü olan tabakalı yapıdaki (tetrahedral-oktahedral-tetrahedral) montmorillonitin ara katman boşluğuna inorganik değişebilir katyonların girmesi sonucu yüzey yükü değişebilmektedir. Organik sürfaktanın yapısına bağlı olarak kil ile etkileşim mekanizmaları iyon-dipol etkileşimi, hidrojen bağları, asit-baz reaksiyonları, yük transferi, elektrostatik etkileşim ve van der Waals kuvvetleridir. Böylece sürfaktan, nanokile adsorbe olmakta ve organik katyonlar kil tabakalarında interkalasyon etkinliği göstermektedir [22].

Montmorillonit kiline sürfaktanların adsorpsiyonu yapısal değişikliklere yol açabilmektedir. Sürfaktan ile modifiye edilmiş montmorillonitin yüzey özellikleri ve adsorpsiyon davranışı, montmorillonitin ara tabakasındaki sürfaktanın konumlanması (arrangement) ve sürfaktanın çeşidinden etkilenmektedir [23].



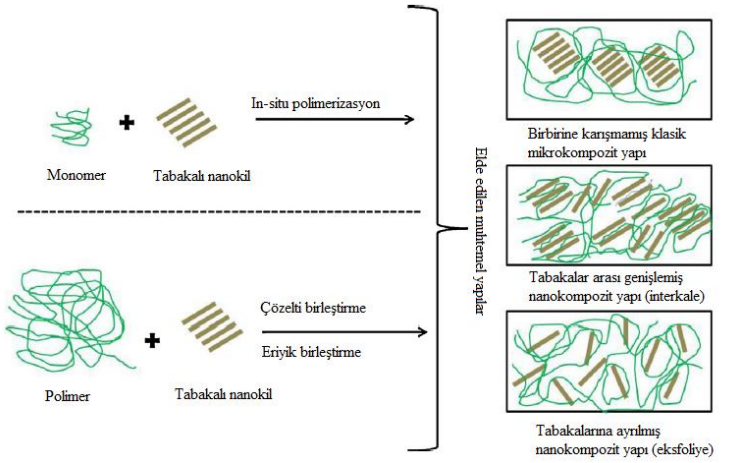
Şekil 2.2 Organokilde kullanılan sürfaktan yapısına bağlı olarak tabakalı montmorillonit için olası reaksiyon mekanizmaları [22]

2.1.3 Polimer-Kil Nanokompozit Malzemeler ve Gıda Ambalajlamada Kullanımı

Genel olarak killerin sahip olduğu iki özellik, polimer-tabakalı silikat nanokompozitlerin elde edilmesinde önem taşımaktadır. İlk özellik silikat parçacıklarının tek tek tabakalara dağılma yeteneğine sahip olmaları iken; diğeri ise organik ve inorganik katyonların iyon değişimi reaksiyonları ile yüzey kimyasında değişiklik yapılabilme yeteneğine sahip olmalarıdır. Bu iki özellik birbiriyle ilişkili olup, tabakalı silikatların polimer matriksinde dağılma derecesi ara katmandaki katyonlara bağlıdır [14].

Polimer ve nanokilin fiziksel karışımı her zaman nanokompozit oluşumunu sağlamaz. Kilin polimer matriksinde dağılım derecesine bağlı olarak Şekil 2.3'de gösterildiği gibi farklı tipte kompozit yapılar elde edilebilmektedir. Polimer, silika tabakaları arasına girmemiş ve yer yer topaklanma olduğu durumda "**klasik mikrokompozit (not-intercalated, birbirine karışmayan)**" yapı elde edilmektedir. Bu yapıda organik ve inorganik bileşenler arasındaki zayıf fiziksel etkileşim, zayıf mekanik ve termal özelliklere neden olmaktadır. Tabakalar arasındaki galerilerin kısmen açılması ve polimerin tabaka aralarına girmesi sonucu "**tabakalar arası genişlemiş nanokompozit (intercalated, interkale)**" yapı oluşurken, kil tabakaları birbirlerinden tamamen ayrılmış ve polimer zincirleri arasında tam bir dağılım sergilemiş olduğu durumda "**tabakalarına ayrılmış nanokompozit (exfoliated, eksfoliye)**" yapı elde edilmektedir. Tabakalarına ayrılmış nanokompozit yapı, ideal nanokompozit yapısı olmakla birlikte elde

edilmesi oldukça zordur. Genel olarak polimer nanokompozit yapıda Şekil 2.3'te gösterilen interkale ve eksfoliye morfolojileri beraber bulunmaktadır. Polimer-tabakalı silikat nanokompozitlerde polimer ve kil arasındaki güçlü etkileşimler, organik ve inorganik fazların nanometre seviyesinde dağılmasını sağlamaktadır. Sonuç olarak nanokompozitler, mikrokompozit polimerlerde olmayan benzersiz özellikler sergileyebilirler [14], [15]. Organomodifiye MMT (oMt), birçok termoplastik ve termoset polimerde dolgu maddesi olarak yaygın şekilde kullanılmakta ve polimer özelliklerinde iyileşmeler sağlamaktadır [24].

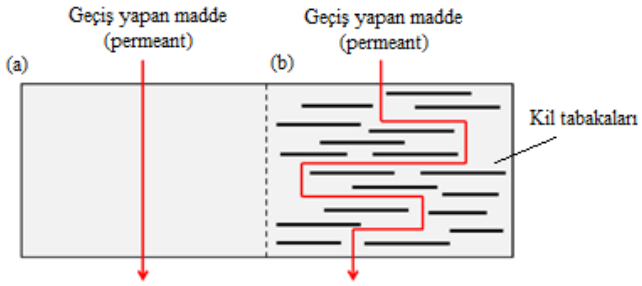


Şekil 2.3 Polimer nanokil kompozitlerin hazırlanmasında farklı yöntemler ile elde edilebilecek kompozit tipleri [25]

Gıda ambalajları olarak petrol esaslı sentetik polimerler kolay işlenebilmesi ve düşük maliyetleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır; ancak bu durum çevre üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Bu nedenle gıda ambalajlamasında özellikle son yıllarda biyoçözünür ve çevre dostu ambalaj materyalleri (örneğin nişasta, kitosan, sodyum aljinat, selüloz vb.) üzerine çalışmalara ilgi artmıştır. Çevre dostu polimer materyaller belli koşullar altında su, mikroorganizma ve diğer çevresel faktörlerin etkisi ile doğada kısa sürede bozunabilmektedir [26]. Ancak biyopolimer malzemeler, ambalajlama gibi endüstriyel uygulamalarda sentetik polimerlerin yerini alabilen bir malzeme olarak gerekli standartları karşılanmada zayıf kalabilmektedir [27]. Son yıllarda polimer-kil nanokompozitler yoğun araştırma, geliştirme ve ticarileştirme konusu haline gelmiştir. Saf polimer veya geleneksel kompozit ile karşılaştırıldığında, polimere düşük oranlarda (<%6 w) nanokil ilavesi malzemenin mekanik, termal ve bariyer gibi özelliklerini geliştirebilmektedir [18].

Mekanik özellikler açısından, kil tabakalarının polimerik yapıya ilavesi dayanıklılığın artmasına katkı sağlamaktadır. Nanokiller, matriksteki çatlakların ilerlemesini sınırlandırarak kırılmayı engellemektedir. Buna ek olarak, kil yüzeyine yakın konumlanan makromoleküler zincirlerde meydana gelen yapısal değişikler de mekanik özellikler üzerinde belirleyici olmaktadır. Polimer-kil nanokompozitlerin mekanik özelliklerindeki iyileşme; nanokompozitteki silikat tabakalarının dağılım derecesi ile kil yüzeyi ve polimer matriks arayüzeyinde hidrojen bağlarının oluşumu ile doğrudan ilişkilidir [28].

Materyalin bariyer özelliklerindeki iyileşme, kompozit yapıdaki nanopartikülün matriksteki dağılımı (dispersiyon) ile yakından ilişkilidir. Polimer yapısında tabakalarına ayrılmış nanokil tabakalar, gaz ve nem gibi geçiş yapan moleküller için difüzyon yolundaki engeli (tortuosity) arttırmakta ve geçiş yapan maddelerin (penetrant) geçişini Şekil 2.4'te gösterildiği gibi geciktirmekte ve daha uzun ve dolambaçlı bir yol izlemelerini sağlamaktadır. Böylece polimer-kil nanokompozit materyalin bariyer özelliği gelişmektedir [4].

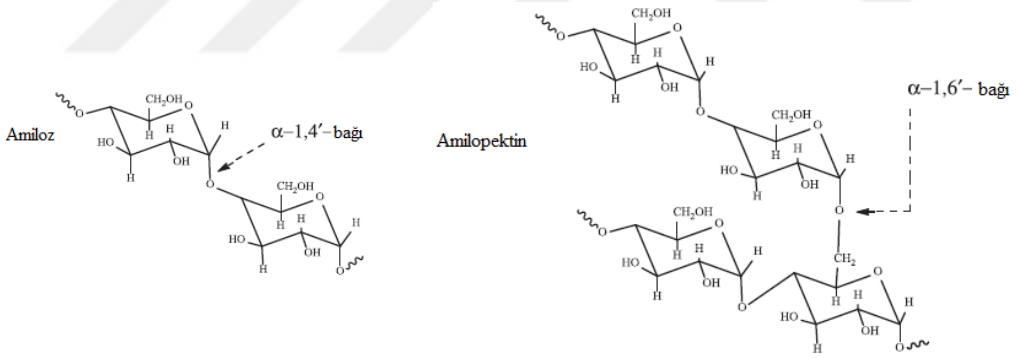


Şekil 2.4 Permeatın difüzyon yolunun şematik gösterimi (a) saf polimerde, (b) polimer-kil nanokompositte [18]

Kilin polimer matriksine ilave edilmesi, genel olarak saf polimerin termal stabilitesini de arttırmaktadır. Materyalin termal kararlılığındaki bu iyileşmenin nedeni, tabakalı silikat tabakalardan kaynaklı artan yüzey hacim oranı, çok düşük geçirgenlik, polimerin dekompozisyonu sırasında oluşan uçucu bileşenlerin geçişine engel olması ve oluşan gazın absorbe edilmesi gibi farklı etkilerinden kaynaklı olabilmektedir. Ancak polimer-kil nanokompozit yapıya ilave edilen nanokil miktarının doğru ayarlanması gerekmekte; aşırı kil ilavesi nanokompozit malzemenin termal kararlılığında azalmaya neden olabilmektedir [29].

2.1.3.1 Nişasta Esaslı Nanokompozitler

Nişasta biyopolimeri düşük maliyeti, doğada bol bulunması, toksik olmayışı ve film oluşturma özellikleri nedeniyle potansiyel bir gıda ambalajlama materyali olup [30], esas olarak Şekil 2.5'te gösterildiği gibi amorf yapıdaki lineer polimer amiloz ve kristalin yapıdaki dallanmış polimer amilopektin homopolisakkaritlerinden oluşmaktadır [31]. Sulu ortamda nişasta yapısındaki amiloz, amilopektine kıyasla dağılma, jel ve film oluşturma ile yeniden kristallenme eğilimi göstermektedir [30]. Nişasta granülleri suda çözünmez iken; su ile temas ettiklerinde suyu absorbe ederek şişmektedir. Su molekülleri temel olarak amiloz polimerinden oluşan amorf faz tarafından absorplanmaktadır. Bunun nedeni, amilopektin polimerinin oluşturduğu kristalin bölgede zincirler arası etkileşimlerin oldukça kuvvetli olması ve su moleküllerinin bağlanmasına karşı sterik engel oluşturmasıdır. Suyun absorpsiyonu sonucunda nişasta granülünün hacmindeki değişim geri dönüşümlüdür. Sistemin jelatinizasyon sıcaklığının altında ısıtılması granülde başka bir değişime neden olmazken; yüksek sıcaklıklarda ısıtma geri dönüşümsüz değişikliklere neden olmaktadır [31].



Şekil 2.5 Amiloz ve amilopektinin kimyasal yapısı [30]

Sulu ortamda nişastanın ısıtılması ile su molekülleri amorf bölgeye nüfuz etmekte; bu durum amilopektinin heliks yapılarının bozulmasına ve granüllerin düzenli yapısının kaybolmasına yol açmaktadır. Sistem, serbest amiloz ve amilopektin moleküllerini içeren uniform bir matrikse dönüşmekte, solüsyonun vizkozitesi artmakta ve kristalin yapı kaybolarak jel oluşmaktadır. Bu prosese jelatinizasyon denilmektedir. Jelatinize nişasta süspansiyonları hızlı bir şekilde soğutulduklarında su içeren agregatlar oluşturdukları için bütünlüklerini kaybetmekte ve amiloz molekülleri çözünmeyen kristaller oluşturmaktadır. Bu nedenle, jelatinleştirilmiş

sistemde dolaylı olarak plastikleştirici görevi gören ve su moleküllerini nişasta sistemi içinde tutmaya yardımcı olan ve son ürün film materyalinin esnekliğinin sağlayan bir maddenin eklenmesi zorunludur. Plastikleştirici ilave edilen nişasta sistemine termoplastik nişasta (thermoplastic starch, TPS) denilmektedir. TPS elde etmek için sıklıkla kullanılan plastikleştirici gliseroldur [27].

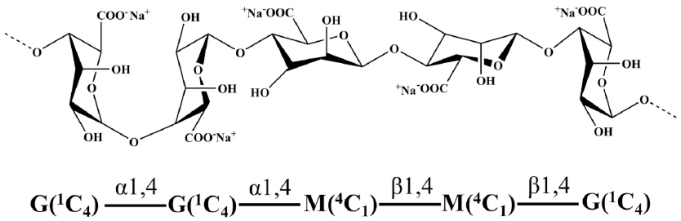
Biyopolimer filmlerin istenilen özellikleri arasında hidrofobiklik, esneklik, gaz bariyeri, çekme gerilimi, nem direnci sayılabilir. Nişasta esaslı filmlerin yapısındaki serbest hidroksil gruplarından dolayı hidrofilik özelliği önemli bir sorundur. Oldukça nemli bir ortamda, nişastadaki bu serbest hidroksil grupları nemle etkileşime girerek, film materyalinin dayanım ve bariyer özelliklerinin azalmasına neden olurken; düşük nemli bir ortamda film materyalinin kırılgan olmasına neden olmaktadır. Ancak, bu hidroksil gruplarının hidrofobik fonksiyonel gruplar ile yer değiştirmesi (örneğin yapıya kil gibi nanodolguların eklenmesiyle) sonucunda nişasta esaslı filmlerin hidrofobikliği artabilmektedir [30]. Kil minerali montmorillonit gibi katmanlı silikat malzemeler, termoplastik nişasta sistemlerini güçlendirmek için kullanılabilmektedir [27]. Bu olumlu etki, nanodolgu maddesinin sert yapısı ve nişasta matriksi ile nanodolgu arasında karşılıklı etkileşim sayesinde gerçekleşmektedir [32].

2.1.3.2 Sodyum Aljinat Esaslı Nanokompozitler

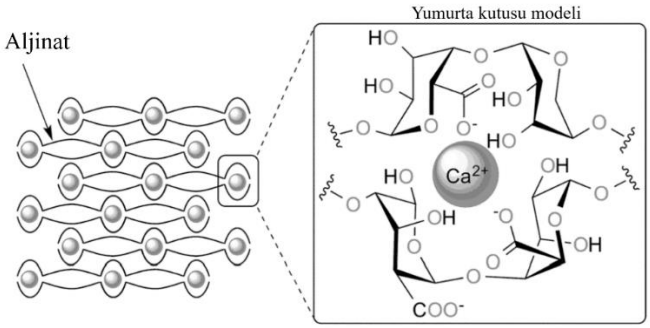
Sodyum aljinat (aljinat, SA) biyopolimeri dallanmamış bir kopolimer olup, 1-4 glikozidik bağları ile bağlanan β-D-mannuronik asit (M monomeri) ve α-L-guluronik asit (G monomeri) monomerlerinden oluşan lineer bir polisakkarittir (Şekil 2.6). Aljinat esaslı malzemeler uniform, şeffaf ve iyi oksijen bariyer özelliklerine sahip olmasına ragmen, hidrofilik özelliklerinden dolayı suya karşı dirençleri zayıf kalmaktadır. SA esaslı materyaller su ile temas ettirildiğinde hızla şişip çözünmektedir [26], [33].

Aljinat, iki ve üç değerlikli katyonlarla (özellikle kalsiyum iyonları ile) reaksiyona girebilmektedir. Yapıda Ca^{+2} katyonları sodyum iyonları ile yer değiştirerek farklı aljinat zincirleri arasında köprüler oluşturmak için polimerin G monomerleri ile güçlü bir şekilde etkileşime girmektedir. Aljinat yapısındaki G blokları üç boyutlu bir ağ yapısı oluşturmakta ve Ca^{+2} iyonları karton yumurta kutusundaki yumurtalar gibi oyuklara gömülerek Şekil 2.7'de gösterilen "yumurta kutusu" (egg-box)

modelini oluşturmaktadır. Aljinat polimerinin yapısındaki G ve M birimlerinin oranı, Ca^{+2} bazlı aljinat materyalinin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile doğrudan ilişkilidir. Yüksek G birim içeriği (M/G < 1) iyi termal stabiliteye sahip güçlü, yoğun ve sert yapılar oluşturabilirken; yüksek M birim içeriği (M/G > 1) iyi donma-çözülme özelliğine sahip yumuşak, esnek ve elastik yapı özelliklerini desteklemektedir [34].



Şekil 2.6 Sodyum aljinat zincirinde 1-4 glikozidik bağları ile bağlanan β-D-mannuronic acid (M monomeri) ve α-L-guluronic acid (G monomeri) kimyasal yapısı [35]



Şekil 2.7 Aljinatın Ca^{+2} iyonu ile çapraz bağlanması ve yumurta kutusu (egg-box) modeli [33]

Literatürde aljinat esaslı filmlerde kalsiyum ile çapraz bağlanma sonucunda malzemenin hidrofilik özelliğinde azalma, su buharı geçirgenliğinde gelişme ve suda çözünürlükte azalma elde edilebildiği raporlanmıştır. Materyalin mekanik özelliklerinde çapraz bağlanma ve uygun plastikleştiricilerin kullanımı sonucunda iyileşmeler elde edilmesi, sodyum aljinat matriksinin potansiyel kullanımını genişletmektedir [33], [34], [35].

2.1.4 Gıda ile Temas Eden Madde ve Malzemelerde Nanomateryallerin Kullanımına İlişkin Ulusal ve Uluslararası Yasal Düzenlemeler

Nanokil katkılı nanokompozitler ticari olarak ilk defa 1990'lı yıllarda Toyota Motors Corporation tarafından triger kayış kılıflarında kullanılan malzeme miktarının %25 azalması ve daha iyi sertlik ile termal kararlılık sergilediği için

kullanılmaya başlamıştır. Ardından farklı şirketler tarafından da araba parçalarında nanokil katkılı nanokompozit malzemeler geliştirilerek piyasaya sürülmüştür. Benzer şekilde, gıda ambalajı olarak kullanılan polimer-kil nanokompozit malzemeler, gelişmiş oksijen ve su buharı bariyer özelliklerinin yanı sıra dengeli mekanik performans sergileyerek birçok paketlenmiş gıdanın raf ömrünü önemli ölçüde arttırmaktadır. Polimer-kil nanokompozit malzemelerin sahip olduğu avantajlar gıda ambalajlama sektöründe et ve süt ürünleri, tahıl, şekerleme, alkollü ve alkolsüz içecekler gibi ürünlerin ambalajlanmasında kabul edilebilir kılmaktadır. Ayrıca bu malzemeler çok katmanlı gıda ambalajlama gereksinimini azaltma ve dolayısıyla yiyecek-içecek ambalajlarının geri dönüştürülme oranını artırma potansiyeline sahiptir. Artan geri dönüşüm, çevreyi önemli ölçüde olumlu etkileyecek olup, özellikle biyoboyuzunur esaslı polimer kil nanokompozitler gelecek vaat etmektedir [36]. Örneğin Aegis™ (Honeywell Polymers), Imperm® (ColorMatrix Corp.), Durethan® (LANXESS Deutschland GmbH), NanoTuff™ ve NanoSeal™ gıda ambalajlama pazarında bulunan ticari nanokil esaslı polimer nanokompozitler arasındadır. Bu tür malzemeler özellikle içecek endüstrisinde O_2 ve CO_2 gibi gazlara karşı yüksek bariyer özelliği ile plastik şişe üretiminde kullanılmaktadır [2], [4].

Pek çok ulusal ve uluslararası standardizasyon kuruluşu, organizasyon, otorite "nanomateryal" kavramı ve nanoteknoloji için terminoloji dokümanları yayınlamıştır. AB Komisyonu tarafından 2011/696/EU sayılı tavsiye kararında gıda ile temas eden madde ve malzemeler alanında nanomateryaller için kapsamlı ve bilimsel esaslı bir tanımlama belirtilmiştir. Bu dokümanda nanomateryal "doğal, kendiliğinden oluşmuş veya üretilmiş malzemedeki partiküllerin bağlı durumda olmayan veya agrege (topaklanmış) halde bulunan ve partiküllerin boyut dağılımında %50 veya daha fazlasının en az bir boyutu 1 nm ile 100 nm arasında bulunan yapılar" şeklinde tanımlanmıştır. Bununla birlikte özel durumlarda partiküllerin boyut dağılımındaki %50 eşik değerinin, %1-50 arasındaki daha düşük bir seviyeye çekilebileceği de belirtilmektedir. Bu tanım ile AB'de yasama ve politika amaçları için bir materyalin "nanomateryal" olarak kabul edilip edilmemesi gerektiğini belirlemek ve yasal olarak durumu netleştirmek için referans olması amaçlanmaktadır. Avrupa Birliği mevzuatında "nanomateryal" teriminin bu tanımı

ile tehlike veya risk dikkate alınmaksızın, yalnızca bir malzemeyi oluşturan parçacıkların boyutuna dayalı olacağı da açıkça belirtilmektedir [37].

Gıda ile temas etmesi amaçlanan bir madde veya malzeme için genel ilkeleri ortaya koyan (EC) No 1935/2004 AB Çerçeve Yönetmeliği'nde bu tür madde ve malzemelerde nanoteknolojinin kullanımına yönelik olarak henüz açıkça değinilmemiştir. Bununla birlikte ilgili yönetmeliğin Madde 3'ünde belirtildiği şekilde "insan sağlığını tehlikeye sokacak veya gıdanın bileşiminde istenmeyen değişimlere yol açacak veya ürünün duyusal özelliklerinde bozulmaya neden olacak miktarda geçiş olamayacağına" yönelik genel kurallar, nanoform yapıları da içerebilecek her türlü gıda ile temas eden madde ve malzeme için geçerli olmaktadır [38]. AB'ye uyum çerçevesinde ilgili mevzuatlara paralel olarak Türkiye tarafından yayınlanan yönetmelikte de aynı ifadeler yer almaktadır [39].

Gıda ile temas eden plastik madde ve malzemelere ilişkin 10/2011 sayılı AB Yönetmeliği'nde özel olarak nanomateryaller ele alınmaktadır. Nanomateryallerin farklı fiziko-kimyasal özellikler gösterebilmesi ve bu nedenle makro ölçekli maddelere kıyasla toksikolojik profillere sahip olabilmesi nedeniyle, nanoform halindeki maddelerin kullanımına ancak ilgili yönetmeliğin Ek I'inde belirtilen spesifikasyonlara uygun olarak açıkça belirtilmesi durumunda izin verilebileceği Madde 9'da belirtilmektedir. Diğer bir ifade ile geleneksel bir maddenin risk değerlendirilmesine dayalı yetkilendirilmesi, aynı maddenin nanopartikül boyutundaki kullanımını kapsamamaktadır [40]. Özellikle son yıllarda üretilen yenilikçi plastik esaslı madde ve malzemeler farklı katmanlardan oluşabilmekte ve bu katmanlar gıdadan işlevsel bir bariyer ile ayrılabilmektedir. Bu yönetmelikte fonksiyonel bir bariyerin arkasında izin verilmeyen maddelerin kullanımına yönelik olarak belirli kriterleri karşılamaları ve 0,01 mg/kg migrasyon düzeyinin altında kalması koşulu ile izin verilebileceği belirtilmekle beraber, özellikle daha büyük ölçekte tasarlanmış maddelerden önemli ölçüde farklı fiziksel ve kimyasal özellikler sergileyen parçacık boyutundaki nanopartiküllerin risk değerlendirilmesinin daha fazla bilgi edilinene kadar vaka bazında yapılması gerektiği ve bu nedenle fonksiyonel bariyer konsepti kapsamında olmaması gerektiği belirtilmiştir [40]. Türkiye tarafından yayınlanan 2019/44 sayılı Gıda ile Temas Eden Plastik Madde ve Malzemeler Tebliği'nde de benzer ifadelerin yer aldığı açıkça görülmektedir [41].

Aktif ve akıllı madde ve malzemelere ait (EC) No 450/2009 AB Yönetmeliği'nde benzer şekilde nanoform maddelere ilişkin daha fazla bilgi elde edilinceye kadar, olası risklerin özel olarak incelenmesi gerektiği ve fonksiyonel bariyer kapsamında değerlendirilmemesi gerektiği tanımlanmaktadır [42]. Türkiye tarafından yayınlanan 2018/9 sayılı Gıda ile Temas Eden Aktif ve Akıllı Madde ve Malzemelere Dair Tebliğ'de doğrudan nanoform malzemelerin hariç tutulmasına dair bir ifade yer almamaktadır. Bununla birlikte ilgili tebliğde aktif ve akıllı malzemelerin üretiminde izin verilmeyen bileşenler arasında yer alan "parçacık boyutu, daha büyük parçacık boyutlarından önemli ölçüde farklı fiziksel ve kimyasal özellik göstermesi için tasarlanmış maddeler" ifadesi ile nanoform malzemelerin hariç tutulması gerektiği anlaşılmaktadır [43]. Genel olarak baktığımızda 10/2011 sayılı AB Yönetmeliği'nde "nanoform yapıdaki maddeler" şeklinde atıfta bulunurken, 450/2009 sayılı AB Yönetmeliği'nde nanoyapılar "daha büyük parçacık boyutundakilerden önemli ölçüde farklı olan fonksiyonel fiziksel ve kimyasal özellikler sergileyen kasıtlı olarak tasarlanmış maddelerin fonksiyonel bariyer kapsamında girmediği" şeklinde tanımlamaktadır [40], [42]. Bu tanımlamanın özellikle 2011/696/EU sayılı AB Komisyon Kararı'nda [37] belirtilen nanopartikül tanımından belirgin bir şekilde farklı olduğu görülmektedir.

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından gıda ile temas eden madde ve malzemelerde nanomateryallerin kullanımına yönelik özel düzenlemeler henüz oluşturulmamıştır. Ayrıca nanoteknoloji, nanomateryal veya nanoölçek gibi terimlerin bile yasal tanımlamaları yapılmamıştır. FDA tarafından yayınlanan gıda ile temas eden maddelerin de yer aldığı endüstri rehberinde nanometre ölçeği için 1 nm ile 1 µm arasındaki parçacık boyutu şeklinde bir açıklama yer almaktadır [44]. FDA tarafından yayınlanan Federal Düzenlemeler Yasası Başlık 21 (21 CFR) altında gıda ile temas eden madde ve malzemeler için güvenli olarak kabul edilen maddelerin partikül boyutu, boyut dağılımları ve morfolojisi ile ilgili herhangi bir spesifikasyon bulunmamaktadır [45]. Ancak FDA kılavuzunda [44] parçacık boyut dağılımında kasıtlı olarak yapılan değişikliklerin bazı durumlarda maddenin üretimde önemli değişikliklere neden olabileceği belirtilmektedir. Bu nedenle mevzuatta GRAS olarak listelenen bir maddenin nanoboyutunun doğrudan uyumlu anlamına gelmeyeceği yorumu çıkmaktadır. Buna göre, bir gıda maddesinin

parçacık boyut dağılımı daha çok nanometre boyutunda olacak şekilde üretimi gerçekleştirildiğinde, ilgili maddenin nanometre boyutu için ilgili veriler esas alınarak güvenlik değerlendirmelerinin yapılması gerekmektedir [44]. FDA tarafından endüstri için yayınlanan başka bir kılavuzda ise bir ürünün nanoteknoloji uygulamasını içerip içermediğini FDA tarafından değerlendirilirken sorgulanacak konular belirtilmektedir. Buna göre tasarlanmış materyal veya nihai ürünün en az bir boyutunun nanoölçek aralığında olması gerekmektedir. Ayrıca tasarlanmış malzeme veya nihai ürün 1000 nm'ye kadar nanoölçek aralığının dışında kalsa bile, fiziksel veya kimyasal özellikler veya biyolojik etkiler dahil olmak üzere, sahip olduğu boyutlardan kaynaklı özellikler sergileyip sergilemediği incelenecektir [46]. Sonuç olarak FDA, bu kılavuz belgede belirtilen hususları, gıda maddeleri ve gıda ile temas eden madde ve malzemeler de dahil olmak üzere, FDA tarafından düzenlenen tüm ürünlere geniş ölçüde uygulamayı amaçlamaktadır.

Kil mineralleri polimer nanokompozitler için potansiyel nanomateryaller olarak sıklıkla rapor edilmektedir. Ana bileşenleri montmorillonit ve kaolin olan bentonit, AB ve Türkiye'de plastik madde ve malzemeler ile ilgili regülasyonlarda katkı maddesi veya polimer üretim yardımcısı olarak kullanımı onaylanmaktadır [40], [41]. FDA tarafından bentonit (21 CFR 184.1155) ve kaolin (21 CFR 186.1256)'in genel olarak güvenilir kabul edilen (GRAS) maddeler olduğu kabul edilmektedir [45]. En yaygın olarak kullanılan montmorillonit kili 10 μm boyutunda çok katmanlı yığınlardan oluşmaktadır. Bu tabakaların arasını genişleterek eksfoliasyonunu sağlamak, polimer içerisinde homojen bir şekilde dağıtmak ve böylece polimer ile uyumunu sağlamak amacıyla organomodifikasyon işleniminin gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Böylece nanokil yapılar elde edilmektedir [47].

Gıda ile temas eden uygulamalar için nanokillerin mevzuata uygunluğunda iki önemli konu bulunmaktadır. Polimere eklendiğinde saf kil nanoformunda bulunmasa da (üretim sürecinde eksfoliasyon gerçekleştiğinden), AB bakış açısından önemli parametre nihai durumdaki gıda ile temas eden madde ve malzemedeki polimer katkı maddesinin boyutudur. AB tanımına göre tabakalar arası genişlemiş (interkalasyon) ve tabakalarına ayrılmış (eksfoliasyon) nano tabakalar ile bu uygulamaların özel olarak yetkilendirilmesi gerekmektedir. İkinci husus olarak da kilin organomodifikasyonunda kullanılan kimyasalların, 10/2011 sayılı AB Yönetmeliği ve FDA tarafından gıda ile temas amacıyla onay alması

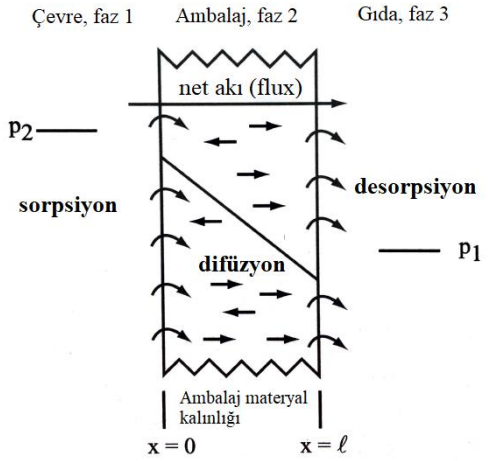
gerekmektedir [47]. Şimdiye kadar organomodifiye nanokiller Avrupa Komisyonu tarafından henüz yetkilendirilmemiştir. EFSA tarafından sadece dimethyldialkyl (C16-C18) ammonium chloride ile modifiye edilmiş montmorillonit kili içeren bir çalışma değerlendirilmiştir. Belirtilen bu çalışmada, etilen matriksinde ağırlıkça %11,4 seviyesine kadar modifiye edilmiş montmorillonit kili katkı olarak kapatma elemanı olarak conta tabakalarında kullanılarak güvenlik değerlendirilmesi, kuru gıdalar için oda sıcaklığında ve buzdolabı koşullarında uzun süreli depolamada incelenmiştir. Çalışmada incelenen organokilin tüketiciler için sağlık açısından herhangi bir risk teşkil etmediği belirtilmiştir [48]. Ancak farklı gıda grupları ve depolama koşulları için nanokil içeren gıda ambalajları ile yapılmış yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bir gerçektir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ise yüzey modifikasyonu yapılmış montmorillonit içeren gıda ile temas malzemeye ait bazı bildirimler FDA tarafından onaylanmıştır [49].

2.1.5 Nanokil İçeren Polimerik Gıda Ambalajlama Sistemlerinde Kütle Transfer Mekanizmaları

Gıda ambalajlama sistemlerinde moleküler etkileşimler, gıdanın ambalaj ile temas etmesiyle başlamakta ve gıdanın raf ömrü boyunca devam etmektedir. Ambalajlama interaksiyonlarında, ambalaj materyali boyunca gerçekleşen kütle transferi nedeniyle gıdada değişimler meydana gelebilmektedir. Şekil 2.8'de şematize edildiği şekilde bir ambalajlama sisteminin geçirgenliğinde temel olarak üç aşama yer almakta olup, materyal içine bileşenlerin sorpsiyonu (absorpsiyon), materyal boyunca bileşenlerin permeasyonu (geçiş, difüzyon) ve materyalden bileşenlerin migrasyonu (desorpsiyon, scalping) olarak kategorize edilebilir [50], [51].

Permeasyon, gaz, buhar veya sıvı olan kimyasal bileşenin (permeant) homojen ambalaj filminin bir yüzeyinden difüzyonu, polimer matriksi boyunca çözünürlüğü ve filmin diğer yüzünden çıkışını ifade etmektedir. Kapalı bir ambalajlama sisteminde bu hareket ambalaj içinden dış ortama doğru olabileceği gibi, dış ortamdan ambalaj içerisine doğru da olabilmektedir. Difüzyon hızını kimyasal molekülün büyüklüğü ve materyaldeki boşluklar etkileyebilmektedir. Permeasyon sonucunda ürünün raf ömrü etkilenmektedir. **Migrasyon**, ambalaj materyalinden gıdaya kimyasal bileşenlerin (migrant) transferidir. Migranta örnek olarak monomer kalıntıları, çözücüler, katalist kalıntıları ve polimer yapısına eklenen katkı

maddeleri verilebilir. Migrasyon hem ambalaj içine konulan ürünün organoleptik (duyusal) özelliklerini etkileyebilmekte, hem de toksikolojik özelliklerinden dolayı sağlık açısından sorunlara neden olabilmektedir. **Sorpsiyon**, gıdadaki aroma veya renk maddeleri gibi bileşenlerin (sorbant) ambalaj materyali tarafından tutulmasıdır. Bu durum gıdanın aromasının değişimine neden olabildiği gibi, polimerin istenilen karakteristik özelliklerinde de kayba neden olabilir [50], [52].



Şekil 2.8 Plastik ambalaj materyali boyunca sorpsiyon, difüzyon ve desorpsiyon [50]

Nanokil parçacıkları ve sürfaktanlar, gıda ile temas halindeki nanokompozitlerden salınma potansiyeline sahiptir. Bu bileşenlerin gıda ambalajlama sistemlerinde taşınmasındaki itici güç, nanokompozit ile gıda arasındaki konsantrasyon farkıdır. Bu farklılığı dengelemek için yüksek konsantrasyonlu ortamdan (nanokompozit) düşük konsantrasyonlu ortama (gıda) kendiliğinden salım (transfer) meydana gelmektedir. Bununla birlikte, nanokil partiküllerinin ve sürfaktanların salım süreci, boyut farklılıkları ve spesifik kimyaları nedeniyle farklı olabilmektedir [18].

Gıda ambalajlama sistemlerinde migrasyon için itici güç, polimer ile temas halindeki gıda arasındaki kimyasal potansiyel (örneğin konsantrasyon) farkıdır. Bir maddenin migrasyonu, yüksek konsantrasyon yüzeyinden (polimer) düşük konsantrasyon yüzeyine (gıda) doğru gerçekleşerek; iki yüzey arasındaki kimyasal potansiyel farkını dengelemektedir [53]. Bir maddenin migrasyonunda kimyasal potansiyel farkı tek ön koşul değildir. Polimerler genellikle kristalin ve amorf yapılardan oluşmaktadır. Kristalin yapıda polimer zincirleri sıkıca istiflendiği için geçirgen değildir. Migrasyon, polimer zincirleri rastgele ve gevşek bir şekilde istiflendiği ve polimerdeki maddelerin taşınması için boşluğa sahip olan amorf

yapıda gerçekleşmektedir. Polimerlerdeki küçük moleküller (örneğin sürfaktan gibi katkı maddeleri, monomerler) yaklaşık 1 nm boyutlarında olup, polimerdeki serbest hacimle benzer ya da daha küçüklerdir. Dolayısıyla küçük moleküllerin polimer matriksindeki hareketleri, daha büyük yapıdaki nanopartiküllere göre daha kolaydır. Difüzyon, nanopartiküllerin migrasyonu altındaki tek fiziksel olgu olmayabilmektedir. Nanopartiküllerin migrasyonu çöp atığı veya geri dönüşüm sırasında bile gerçekleşerek çevresel kontaminasyon kaynağı olabilmektedir. Bu nedenle, nanokompozit materyallerdeki tasarlanmış nanopartiküllerin (engineered nanoparticles, ENP) kütle transfer proseslerini daha iyi anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır. ENP'ler biyolojik sistemlere atmosfer, su ve/veya karasal çevre yoluyla ya da gıda veya tıbbi işlemlerle doğrudan veya dolaylı olarak girebilmektedir (Şekil 2.9). Örneğin üretim tesislerinden havaya bulaşabilecekleri gibi, gömüldükleri atık sahalarından toprağa ve suya karışabilmektedir. Gıdalara doğrudan temas eden polimer nanokompozitlerden yapılmış gıda ambalajları olası maruziyet yollarından biridir. Naoparçacıkların matriks boyunca kütle transferinin belirlenmesi, maruziyet dozu gibi kritik faktörlerin belirlenmesinde önem taşımaktadır [8].



Şekil 2.9 Nanoparçacıkların çevreyle etkileşimi (Biorender.com kullanılarak görsel oluşturulmuştur.)

2.1.6 Migrasyon Testleri

Gıda ile temas eden plastik madde ve malzemelerin uygunluğunun kontrol edilmesi için toplam ve spesifik migrasyon testleri gerçekleştirilmektedir. Gıda ambalajından gıdaya olabilecek kimyasalların migrasyonu üzerine çalışmaların ana

nedeni toksik bileşenlere maruziyetten dolayı sağlık üzerine oluşabilecek potansiyel yan etkilerdir. Ambalaj materyal bileşenlerinin gıdaya migrasyonunu belirlemek için analitik metotlara ihtiyaç olup, farklı gıdalara olabilecek migrasyon derecesini tahminlemek için gıda simulantları (benzerleri) kullanılmaktadır. Migrasyon testleri, deneysel işlemleri basitleştirmek ve öngörülen gıda koşullarında migrasyonu simule etmek için tasarlanmıştır [54].

Toplam migrasyon testi için TS EN 1186 standartları uygun test metotları, gıda benzerleri, test sıcaklık ve sürelerinin seçiminde kullanılmaktadır [55]. Spesifik migrasyon testi için TS EN 13130 standart serisinde plastiklerdeki bazı monomerlerin ve katkı maddelerinin tayin yöntemleri verilmiştir [56]. Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yayınlanan Tebliğ No: 2019/43'de gıda ile temas eden plastik madde ve malzemelerin bileşenlerinin migrasyon testinde kullanılan gıda benzerleri listelenmektedir [57]. Ayrıca Tebliğ No: 2019/44'de gıda ile temas eden plastik madde ve malzemelerin üretim, işleme ve dağıtım aşamalarında uyulması gereken kurallar, izin verilen monomerler, katkı maddeleri ve polimer üretim yardımcılarının spesifik migrasyon limitleri, kısıtlamalar ve migrasyon testleri için genel kurallar belirtilmiştir [41].

2.1.6.1 Migrasyon Analizinde Uygun Deney Metodunun Seçimi

Analize alınan plastik madde ve malzemenin geometrisine göre migrasyon deney metodunun seçimi farklılaşmaktadır. Yüzey-hacim oranı, migrasyon testinde kullanılacak materyal alanının ne kadar gıda ile temas edeceğini belirtmektedir. Örneğin su şişesi gibi kullanım hacmi belli olan ürünler migrasyon hücresi olarak doğrudan kullanılabilmektedir; böylece gıda ile temas eden malzeme yüzey alanı ile analizde kullanılan gıda benzeri hacmi bellidir. Materyalin gıda ile temas edeceği yüzey-hacim oranı bilinmediği durumlarda ise geliştirilmiş olan deney metotlarından yararlanılmaktadır. Deney metotlarında numune (materyal) gıda benzeriyle tek taraflı veya iki taraflı temas etmektedir [55], [56]. Deney metotları esas olarak beşe ayrılmakta olup, toplam daldırma, hücre, torba, ters torba ve doldurma olarak sınıflandırılmaktadır.

- **Toplam Daldırma (Total Immersion) Yöntemi**

Bu yöntemde film formundaki ambalaj materyali 1 dm^2 alanında kesilerek belirli hacimdeki gıda benzeri içerisine daldırılmaktadır. Numunenin her iki yüzü de gıda

simulantı ile temas etmektedir. Bu nedenle, tek yüzeyin test edildiği diğer yöntemlerden daha zorlayıcıdır. Bu yöntem 4-100°C sıcaklık aralığındaki analizler için uygundur.

- **Hücre (Cell) Yöntemi**

Düz formdaki çok tabakalı veya baskılı ambalaj gibi malzemelerde tek yüzeyin test edilmesi gerektiği durumlarda kullanılan bir migrasyon deney yöntemidir. Özel olarak tasarlanmış migrasyon hücrelerinden yararlanılmaktadır.

- **Torba (Pouch) Yöntemi**

Bu yöntemde materyalin tek bir yüzeyi gıda benzeri ile temas etmektedir. Sıcaklık veya basıncın etkisi ile torba yapılabilecek özellikteki plastik numune, gıda ile temas eden yüzeyleri içeride kalacak ve iç yüzey alanı 2 dm^2 olacak şekilde kesildikten sonra sıcak kapama makinesi kullanılarak yapıştırılmakta ve torba haline getirilmektedir. Gıda benzeri, oluşturulan torba içerisine doldurulduktan sonar torbanın açık kenarı sıcak kapama ile yapıştırılmaktadır.

- **Ters Torba (Reverse Pouch) Yöntemi**

Torba yönteminde sıcak kapama ile yapıştırılan malzemenin kenarlarından içerisine konulan gıda benzerinin özellikle 70°C ve üzerindeki sıcaklıklarda ve gıda benzerinin çeperlere uygulayacağı basıncın da etkisi ile sızma ihtimaline karşılık alternatif olarak geliştirilmiş bir yöntemdir. Gıda ile temas edecek materyal dış yüzey alanı 2 dm^2 olacak şekilde kesildikten sonra sıcak kapama makinesi yapıştırılarak simulant içerisine daldırılmaktadır.

- **Doldurma (Filling) Yöntemi**

Şişe, kase, bardak gibi belli bir kullanım hacmine sahip olan örneklerin içerisine ilgili gıda simulantı doldurularak analiz gerçekleştirilmektedir [55], [56], [58], [59].

2.1.6.2 Migrasyon Analizinde Gıda Benzer(ler)inin Seçimi

Gıda matrikslerinin karmaşıklığı nedeniyle ambalaj materyalinden gıdalara migrasyon olan maddelerin ekstraksiyonu zor ve zaman alıcı olabilmektedir. Migrasyon testlerinde karmaşık ekstraksiyon sürecinden kaçınmak için gıdalara alternatif gıda benzer(ler)i kullanılmaktadır. Bu amaçla henüz gıda ile temas etmemiş plastik madde ve malzemelerin uygunluğunun belirlenmesinde kullanılan

gıda benzerleri ve kapsadığı gıda grupları (Tablo 2.1), ilgili mevzuat [57] ve standartlarda [55], [56] belirlenmiştir.

Tablo 2.1 Migrasyon testlerinde kullanılan gıda benzerleri ve kapsadığı gıda grupları

Gıda Benzeri (Simulant)	**Kapsadığı Gıda Grubu**	**Kısaltma**
Distile veya eşdeğer nitelikteki su	Hidrofilik gıdalar	-
%10 etil alkol çözeltisi (v/v)	Hidrofilik gıdalar	Gıda Benzeri A
%3 asetik asit çözeltisi (w/v)	Hidrofilik gıdalar, pH değeri 4,5'ten küçük gıdalar	Gıda Benzeri B
%20 etil alkol çözeltisi (v/v)	Hidrofilik gıdalar, alkol içeriği %20'ye kadar olan gıdalar, gıdayı daha lipofilik hale getiren miktarda organik bileşen içeren gıdalar	Gıda Benzeri C
%50 etil alkol çözeltisi (v/v)	Alkol içeriği %20'nin üzerinde olan gıdalar, su içinde yağ emülsiyonları olan lipofilik gıdalar	Gıda Benzeri D1
Bitkisel yağ	Yüzeylerinde serbest yağ içeren lipofilik gıdalar	Gıda Benzeri D2
İzooktan (2,2,4-trimethylpentane)	Yüzeylerinde serbest yağ içeren lipofilik gıdalar	Gıda Benzeri D3
%95 etil alkol çözeltisi (v/v)	Yüzeylerinde serbest yağ içeren lipofilik gıdalar, denatüre edilmemiş etil alkol içeceği	Gıda Benzeri D4
Poli (2,6-difenil-p-fenilen oksit) (Modifiye polifenilen oksit-MPPO)	Kuru gıdalar (spesifik migrasyon), yüzeylerinde serbest yağ içeren lipofilik gıdalar (toplam migrasyon)	Gıda Benzeri E

v/v: hacim/hacim; w/v: ağırlık/hacim

Her türlü gıda ile temas etmesi öngörülen plastik madde ve malzemenin uygunluğunun belirlenmesi gerektiği durumda gıda benzeri olarak A, B ve D2'nin seçilmesi yeterli olmaktadır [41], [57]. Gıda benzeri olarak bitkisel yağ kullanıldığında, enstrümental analizde potansiyel migrantların uygun bir çözücüye ekstraksiyonu için fazladan bir adım gerekmektedir. Madde veya malzemenin öngörülen kullanım koşulları arasında en zorlayıcı analiz koşullarının bitkisel yağ için kullanımı teknik olarak mümkün değilse, bitkisel yağa alternatif olarak farklı gıda benzerleri (izooktan, %95 etil alkol veya MPPO kullanılabilmektedir [55], [59]. Buna ilave olarak MPPO, toplam migrasyon analizinde yüksek sıcaklıkta (100-175°C) yağlı gıda ile temas eden plastik madde ve malzemeler (örneğin fırın torbası gibi) için bitkisel yağa alternatif olarak da kullanılabilmektedir [60].

İzooktan ve etanol, uçucu ve yanıcı solventler olduğu için test sıcaklıklarının 60°C'yi aşmaması önem taşımaktadır [55], [56], [61].

2.1.6.3 Migrasyon Analizinde Sıcaklık ve Sürenin Belirlenmesi

Henüz gıda ile temas etmemiş plastik madde ve malzemelerin uygunluğunun belirlenmesinde gerçek uygulamalardaki olası migrasyonu yansıtmak için kısa süreli hızlandırılmış testler uygulanmaktadır. Buna göre madde veya malzemenin öngörülen kullanım koşullarından en zorlayıcı olanı temsil edecek şekilde belirlenen test sıcaklık ve süresince gıda benzer(ler)i ile teması sağlanır. Gerçek kullanımında madde veya malzeme ardışık olarak iki ya da daha fazla sıcaklık ve süre kombinasyonuna tabi tutuluyorsa, migrasyon testinde de numuneye uygun olan ve uygulanabilir en zorlayıcı koşullara art arda maruz bırakılır. Madde veya malzemenin öngörülen kullanım koşullarında geçekleşmeyen fiziksel/diğer değişimler (örneğin deformasyon, erime), migrasyon testinde numune parçasında ortaya çıkması halinde bu değişim(ler)in gözlemlenmediği en zorlayıcı koşul dikkate alınarak analiz tekrarlanır [40], [41], [58].

2.1.7 Nanokil Karakterizasyonu

Polimer nanokompozit malzemelerde, nanokil gibi nanoparçacıkların karakterizasyonunda spektroskopik, mikroskobik ve termal analizler gibi farklı teknikler kullanılmaktadır. Bu bölümde nanokompozitlerde killerin tespit ve karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılan karakterizasyon yöntemlerine yer verilmiştir.

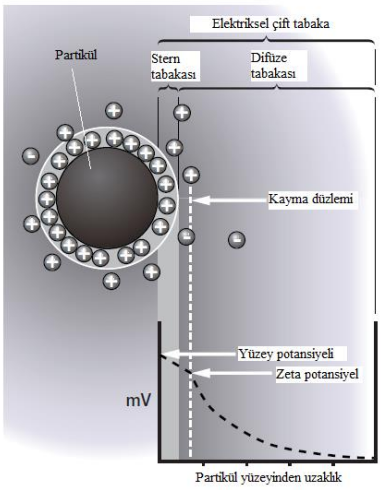
2.1.7.1 Boyut ve Yüzey Yükü Ölçüm Teknikleri

- **Dinamik Işık Saçılımı (DLS, Dynamic Light Scattering)**

DLS, kolloidal çözeltilerin karakterizasyonunda kullanılan bir tekniktir. Seyreltik çözeltilerdeki nanopartiküllerden saçılan ışığın şiddeti ve zamana bağlı değişiminin ölçülmesine dayanmakta olup, bu yolla parçacık boyutu belirlenmektedir [62]. Sıvı ortamda asılı duran partiküller hareketsiz olmayıp, Brownian hareketi (Brownian motion) olarak adlandırılan rastlantısal (gelişigüzel) hareketler nedeniyle sürekli hareket etmektedir. Dinamik ışık saçılımı yönteminde Brownian hareketinin temel özelliği, küçük partiküllerin daha hızlı, büyük partiküllerin ise daha yavaş hareket etmesidir. Partikül boyutu ile Brownian hareketi nedeniyle partikülün hızı Stokes-Einstein eşitliği ile tanımlanmaktadır [63].

- **Yüzey Zeta Potansiyeli**

Yüzey yükü süspansiyondaki partikül stabilitesini etkilediği için nanokil için önemlidir. Yüzey yükü nötre yakın olduğunda partiküller topaklanma eğilimi gösterirken, partiküllerin büyük pozitif veya negatif yüzey yükü partiküller arasında itme kuvveti sayesinde süspansiyondaki dağılımı iyileştirmektedir [18].



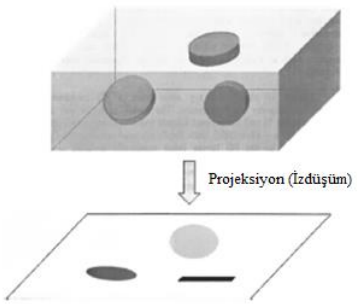
Şekil 2.10 Bir partikül etrafında oluşan elektriksel çift tabaka [63]

Zeta potansiyel değeri nanopartiküllerin yüzey yük yoğunluğunu göstermektedir. Partikül yüzeyinde net yük gelişimi çevredeki arayüzey bölgesinde iyonların dağılımı etkileyerek yüzeye yakın zıt yüklü iyonların konsantrasyonunu arttırmaktadır. Partikül çevresindeki sıvı tabaka elektriksel çift tabakadan oluşmaktadır (Şekil 2.10). İç tabakada (stern tabakası) iyonlar kuvvetli bir şekilde bağlı iken; dış tabakaya (difüze tabakası) daha gevşek bağlıdır. Difüze tabakasının içindeki bir sınırda iyonlar stabil bir yapı oluşturmaktadır. Yer çekimi etkisi gibi bir etki ile partikül hareket ettiğinde, sınırın içindeki iyonlar da partikül ile hareket ederken, sınırın ötesindeki iyonlar partikül ile hareket etmemektedir. Kayma düzlemi (slipping plane) olarak isimlendirien bu sınırdaki değer, zeta potansiyeldir. Zeta potansiyel değeri (+/- ζ mV), kolloidal bir sistemin potansiyel stabilitesinin göstergesi olup, parçacık kararlılığı hakkında bilgi sağlamaktadır. Eğer süspansiyondaki tüm partiküller büyük bir negatif veya pozitif zeta potansiyele sahip ise, her bir partikül birbirini iteceğinden flokülasyon eğilimi olmayacaktır. Ancak eğer partiküller düşük zeta potansiyele sahipse, bu durumda partiküllerin bir araya gelmesini önleyecek elektrostatik itme olmayacağından flokülasyon oluşacaktır [63].

2.1.7.2 Mikroskopik Teknikler

- **Geçirimli Elektron Mikroskobu (Transmission Electron Microscopy, TEM) ve Elektron Tomografisi (Electron Tomography)**

TEM mikroskobik tekniğinde, oldukça ince numuneden elektron demeti geçirilerek numune ve elektronlar arasındaki çeşitli etkileşimlerin işlenmesiyle görüntü elde edilmektedir. TEM, polimer nanokompozitler için kalitatif olarak iç yapının anlaşılmasını ve yapısal kusurların görülmesini sağladığından önemli bir analiz tekniğidir. Ancak en önemli dezavantajı, üç boyutlu objeyi iki boyutlu görüntüye dönüştürmesi sonucunda numunenin kalınlık yönündeki yapısal bilginin doğru bir şekilde alınamaması ve polimer matriksinde silikat tabakaların dağılım derecesi hakkında yanlış sonuç çıkarımlarına neden olabilmesidir (Şekil 2.11). Bunun önüne geçebilmek adına elekton tomografi olarak adlandırılan 3D TEM tekniği uygulanabilmektedir. Bu teknik, numunenin farklı açılarda eğilerek bir seri TEM görselleri elde edilip, eş zamanlı tekrarlayan görüntünün yeniden yapılandırılmasıdır [64].



Şekil 2.11 TEM tekniğinde projeksiyon ile nanokompozitlerdeki üç boyutlu (3D) nano yapıların iki boyuta (2D) dönüştürülmesi [64]

- **Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy, SEM)**

SEM tekniği, polimerik materyallerin yüzey morfolojisinin çalışılmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Yüksek voltaj ile vakum ortamında hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanmakta ve numune yüzeyinden yansıyan (saçılan) elektronlarla görüntü alınmasına olanak sağlamaktadır. Elde edilen görüntüler ile mikro ve nano ölçekte tanecik boyutu ve taneciklerin konumlanması hakkında veri elde edilmektedir. SEM çalışmalarında numunelerin yüzeyinde elektrostatik yük birikmesini engellenmesi için elektriksel olarak iletken olması gerekmektedir. Polimerik numuneler elektron ışını ile tarandığında yük birikme eğiliminde olup,

bu durum taramada hatalı sonuçlar elde edilmesine neden olabilmektedir. Bunu önlemek amacıyla incelenecek polimerik materyaller genellikle altın gibi elektriksel olarak iletken bir materyalle çok ince kaplanmaktadır [64].

- **Atomik Kuvvet Mikroskobu (Atomic Force Microscopy, AFM)**

AFM tekniği ile adhezyon (yapışma) gücü, manyetik kuvvetler ve elektrostatik kuvvetler gibi birçok kuvvet ölçümlenmekte ve mekanik özellikler belirlenebilmektedir. Bu teknikte 10-20 nm çapında iğne uçlu bir manivela kullanılarak işlem gerçekleştirilir. İğne ucu ile incelenen yüzey arasındaki etkileşimler sonucunda uç kısım hareket etmekte ve bu harekete göre lazer kaynağından gelen ışının yansıma açısının değişerek ışındaki sapma ölçümlenir. AFM, temas (contact) ve hafif vuruş (tapping) olarak adlandırılan iki farklı modda kullanılabilmektedir. Temas modunda iğnenin ucu yüzey ile sürekli temas etmekte olup; hafif vuruş modunda iğnenin ucu yüzeye kesikli olarak değmektedir. Elektron mikroskobunda örneğin iki boyutlu projeksiyon (izdüşüm) görüntüsü elde edilirken, AFM tekniği sayesinde yüzeyin üç boyutlu (3D) profili elde edilir. Böylece numune kaplama gibi herhangi bir özel işleme ihtiyaç duyulmadan ortam koşullarında 3D yüzey profili hakkında bilgi elde edilebilmektedir [64].

- **Optik Mikroskopi (Optical Microscopy, OM)**

Optik mikroskopi, polimerik materyallerin kristal gelişim davranışı ve kinetiklerinin çalışılmasında kullanılan esnek bir görüntüleme tekniğidir. OM tekniği ile polimer nanokompozitlerde, matrikste kil ile tetiklenmiş (uyarılmış) kristal gelişimi ve silikat tabakaların dağılım derecesi incelenebilmektedir [64].

2.1.7.3 Termal Özellikler

Diferansiyel taramalı kalorimetri (differential scanning calorimetry, DSC) analizi, ısıl değişimlerin neden olduğu moleküller arası yapısal değişimleri değerlendirmek ve ambalaj malzemelerinin termal dayanımını tahmin etmek açısından oldukça önemlidir [65]. Polimer-kil nanokompozitlerdeki silikat tabakaların dağılım derecesinin termal özelliklerinin belirlenmesinde DSC cihazı kullanılmaktadır. Numunenin polimer zincirleri ve kil yüzeyleri arasındaki arayüzey yüksek etkileşim seviyeleri, nanokompozitte kil partiküllerinin dağılımını önemli ölçüde arttırırken, polimer zincirlerinin hareketini azaltmaktadır. Bu durum camsı geçiş gibi geçiş sıcaklıları için ihtiyaç duyulan enerji eşiğini yükseltmektedir [64].

2.1.7.4 Spektroskopik Teknikler

- **Kızılötesi Spektroskopisi (Infrared Spectroscopy, IR)**

Spektroskopi, örnekteki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan (emisyon) elektromanyetik ışımanın ölçümü ve yorumlanmasıdır. Kızılötesi spektroskopi, çok çeşitli materyallerin karakterize edilmesinde yoğun bir şekilde kullanılan bir yöntemdir. Her atom, molekül veya iyonun elektromanyetik ışıma ile kendine özgü bir ilişkisi vardır. Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektrometre cihazı, dipol momente sahip bir örneğe gönderilen kızılötesi ışık ile etkileşim sonucunda yapıdaki bağların titreşim hareketi prensibine dayanmaktadır. Bu teknik örnekteki bağların farklı titreşim seviye ve modlarından (stretching (gerilme) veya bending (eğilme)-scissoring (kesilme), rocking (bükülme), wagging (sallanma), twisting (burulma)) kaynaklı fonksiyonel gruplarının tanımlanması ve yapısal bilgilerin elde edilmesini sağlamaktadır. Numuneye gönderilen kızılötesi ışık; örnek tarafından soğurulmakta ve her bir titreşim, dönme hareketi zamanın bir fonksiyonu olarak belirli bir enerji (dalga boyu) verisi elde edilmektedir. Böylece incelenen örneğin fonksiyonel grupları, bağları ve organik yapıları (alifatik veya aromatik gibi) karakterize edilmektedir. Elde edilen veriler Fourier matematiksel işlemler ile zamana karşılık absorbans veya transmitans eğrilerine çevrilerek dalga boyuna karşılık spektrumlar elde edilmektedir [62], [66]. IR spektroskopi polimer-nanokil kompozitlerde, kil yüzeyi ile polimer zincirlerinin etkileşiminin incelenmesi için kullanılmaktadır. IR teknik, X-ışını kırınımı ve TEM'den elde edilen kil partiküllerinin dağılım derecesini tamamlamak için kullanılan yararlı bir tekniktir [64].

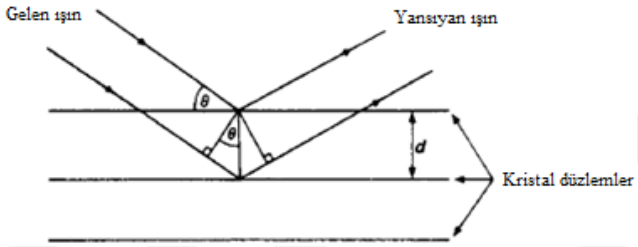
- **X-ışını Kırınım (X-ray Diffraction, XRD) Spektroskopisi**

X-ışını kırınımı (difraksiyonu) hızlı bir analitik teknik olup, kristalin yapıdaki materyaldeki kırınım deseni tanımlanması için kullanılmaktadır. X-ışınları katot ışın tüpü tarafından üretilmekte, monokromatik ışıma yapılabilmesi için filtre edilerek örneğe yönlendirilmektedir. XRD'nin çalışma prensibi Şekil 2.12'de gösterilmiştir. Numuneye gelen X-ışınlarının interaksiyonu sonucunda, X-ışını kırılma açısı ve uzunluğu, kristal yapıyı oluşturan atom katmanları arasındaki uzaklığa bağlı olarak değişmesi Bragg eşitliği (2.1) ile ifade edilmektedir. Yapıdaki her bir kristal faz X-ışını ile etkileştiği zaman kendi yapısına özgü bir kırınım deseni

oluşturmaktadır [62]. Bragg eşitliğinde “d” birbirine paralel kristal düzlemler arasındaki mesafeyi, “λ” numuneden saçılan X-ışınlarının dalga boyunu ve “θ” gelen ışınlar arasındaki açıyı (Bragg açısı) ifade etmektedir [66].

$$d = \frac{\lambda}{2\ sin\theta} \tag{2.1}$$

Yoğun X-ışın demeti, numunedeki düzenli atom gruplarının oluşturduğu kristal yapılara çarptığında saçılmaya uğramakta ve saçılan X-ışını dalgaları birbirini etkileyip girişim yaparak yok olmaktadır. Fakat belli açılarda dalgalar birbirleriyle birleşip dalga yoğunluğunu arttırarak X-ışın kırınımına neden olurlar. Kırınımın oluştuğu bu açılar kristalin yapının şekil ve boyutuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Dedektörde kırınıma uğrayan X-ışınları kaydedilerek kristalin yapının yapısal özellikleri belirlenebilmektedir [67].



Şekil 2.12 Kristal düzlemler tarafından X-ışınlarının kırılımı [66]

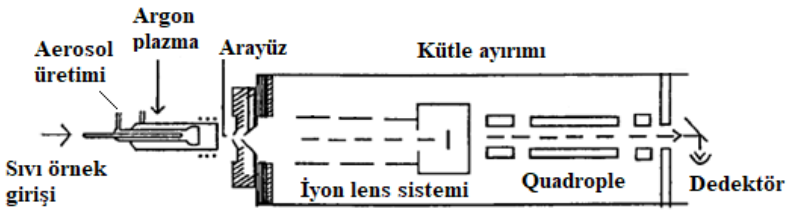
- **Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (Atomic Absorption Spectrometry, AAS)**

Atomik absorpsiyon spektroskopisinin temel çalışma prensibi, gaz halinde ve temel enerji düzeyindeki atomların UV ve görünür bölgelerdeki ışığı absorplamasıdır. Sıvı örnek bir alev içine gaz karışımı ile püskürtülerek, atomlaştırıcıda gaz halindeki atomlara dönüştürülmektedir. Element atomlaştırıcıda buharlaştırılmakta ve kaynaktan gelen ışın demetine maruz bırakılmaktadır. Örnekte aranan elementler, elemente özgü dalga boyundaki ışığı soğurması yardımı ile bulunmaktadır [66].

- **İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma - Kütle Spektrometresi (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS)**

ICP-MS tekniği, katı ve sıvı örneklerde pek çok elementin hızlı ve hassas biçimde niteliksel ya da niceliksel olarak ölçülmesine olanak sağlayan ileri teknolojidir. Bu

tekniğin çalışma prensibinde yüksek sıcaklıktaki plazmaya, genellikle argon gönderilerek moleküler bağlar kırılmakta ve atomlar iyonlaştırılmaktadır. Sıvı numuneler nebulizer olarak adlandırılan bir püskürteç ile aerosolleştirildikten sonra yüksek sıcaklıktaki (8.000-10.000 Kelvin) argon plazma ile iyonize edilerek, iyonize elementlerin kütle spektroskopisi tarafından ayrıştırılmakta ve element derişimleri ölçülmektedir (Şekil 2.13).



Şekil 2.13 ICP-MS sisteminin şematik gösterimi [66]

İyonların kütle/yük oranı (m/z), elementlerin ayrımında kullanılmakta ve her bir elementin derişimi bir iç standardına göre iyon sinyal oranına dayalı olarak belirlenmektedir. ICP-MS tekniği, çözeltideki iz element derişimlerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu analitik teknikte çalışma aralığı AAS'ye göre oldukça geniş olup, birçok element için µg-mg/L (ppb-ppm) arasında kalibrasyon grafikleri elde edilebilmekte ve farklı derişime sahip pek çok elementin aynı anda analizi gerçekleşmektedir [62], [66]. ICP-MS yüksek verimli iyonizasyon ve düşük background gürültüsü sayesinde AAS'den daha hassas olduğundan, migrasyon çalışmalarında en çok kullanılan analiz yöntemidir [68].

3
MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal ve Kimyasallar

Çalışmada, katyonik sürfaktan olarak cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) (Sigma Aldrich, Almanya) ve non-iyonik sürfaktan olarak polyethylene glycol sorbitan monooleate (Tween®80) (Sigma Aldrich, Almanya) kullanılarak montmorillonit nanokili (Sigma Aldrich, ABD) modifiye edilerek organokiller elde edilmiştir.

Sitotoksisite çalışmalarında HT-29 (insan kolorektal kanser hücresi; ATCC No. HTB-38) ve L-929 (fare fibroblast hücresi; ATCC No. CCL-1) hücre hatları kullanılmıştır. Hücrelerin gelişimi için Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Gibco, Life Technologies, İngiltere), penisilin-streptomycin (Cytiva, ABD) ve fetal sığır serumu (FBS) (Gibco, Life Technologies, İngiltere); hücrelerin Thoma lamında sayımı için triptan mavisi (Gibco, Life Technologies, ABD) ve hücre boyaması için XTT, sodium salt (2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilid) (Biomatik, Kanada) kullanılmıştır.

Biyoesaslı film materyalleri üretiminde patates nişastası (Sigma Aldrich, Almanya), sodyum aljinat (Sigma Aldrich, ABD), susuz kalsiyum klorür ($CaCI_2$) (Merck, ABD), gliserol (ISOLAB, Almanya) ve ultra saf su kullanılmıştır.

Materyallerin oksijen geçirgenliği analizinde potasyum iyodür (KI) (Fluka Honeywell, Almanya), sodyum tiyosülfat ($Na_2S_2O_3$) (Carlo Erba, İtalya), asetik asit (Merck KGaA, Almanya) ve kloroform (Merck KGaA, Almanya) kullanılmıştır.

Migrasyon analizlerinde gıda benzerlerinin hazırlanmasında asetik asit, etil alkol (Merck KGaA, Almanya), 2,2,4-trimethylpentane (izooktan) (Sigma Aldrich, Almanya) ve ultra saf su kullanılmıştır. Spesifik migrasyon analizinde incelenen alüminyum (Al), mangan (Mn), demir (Fe), kobalt (Co), nikel (Ni), bakır (Cu),

çinko (Zn), baryum (Ba) standart solüsyonları Chemlab (Belçika) firmasından temin edilmiştir.

3.1.1 Nanokil Organomodifikasyonu

Çalışmada, Xie vd. [69] tarafından kullanılan metot modifiye edilerek Mt nanokilinin organomodifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Nanokil materyali hidrofilik yapıda olduğundan, kullanılmadan önce etüvde (Universal UF110, Memmert GmbH, Almanya) 80°C'de 12 saat süreyle kurutulmuştur. Kurutulan kil, hassas terazi (Shimadzu ATX224, Shimadzu Corp., Japonya) kullanılarak %3 (w/w su) oranında tartılmış ve bir beher içerisine alınarak üzerine 50 mL ultra saf su (Elga Purelab Option Q, Anamed & Analitik Grup, Türkiye) ilave edilmiştir. Elde edilen kil solüsyonuna farklı oranlarda sürfaktan eklenmiş (Tablo 3.1) ve manyetik karıştırıcı (RT15 power, IKA-Werke GmbH, Almanya) yardımıyla oda sıcaklığında 24 saat süreyle karıştırılmıştır. Karıştırma süresi boyunca, MMT'nin hidrofilik yapısı sayesinde su alıp şişmesi ve sürfaktanların kil tabakaları arasına girerek tabaka aralıklarını genişletmesi hedeflenmiştir.

Organomodifikasyonda kullanılan CTAB ve Tween-80 yüzey aktif maddeleri, farklı karbon zinciri uzunluklarına ve moleküler yapılara sahiptir. Nanokil yüzeylerinin sürfaktanlarla tam olarak doyurulmasını sağlamak amacıyla, literatürde rapor edilen değerlerin üzerinde konsantrasyonlar kullanılmış [70], [71]; işlem sonrasında yapıya bağlanmamış fazla sürfaktan uzaklaştırılmıştır. Bu amaçla, kil solüsyonları santrifüj cihazı (Universal 320R, Andreas Hettich GmbH, Almanya) kullanılarak 6000 rpm'de 10 dk süreyle santirifüjlenmiştir. Dibe çöken kısım, berrak süpernatant elde edilinceye kadar birkaç defa ultra saf su ile yıkanmış ve her yıkama sonrası santrifüj edilerek ortamdaki fazla sürfaktan uzaklaştırılmıştır. Çöken kısım, petriye homojen şekilde yayılmış ve 80°C etüvde 24 saat süreyle kurutulduktan sonra öğütücü (Aromatic, Fakir Hausgeräte GmbH, Almanya) ve havan yardımı ile toz haline getirilmiştir. Elde edilen organokiller (CTAB-oMt ve Tween-oMt), karakterizasyon analizleri yapılıncaya kadar bir kabın içerisinde desikatörde muhafaza edilmiştir. Kontrol örneği (modifiye edilmemiş/sürfaktan içermeyen kil) olarak, sürfaktan ilavesi yapılmadan nanokile ultra saf su eklenmiş ve aynı işlem basamakları uygulanmıştır. Organomodifikasyon işleminde kullanılan sürfaktan oranları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1 Organomodifikasyonda kullanılan sürfaktan oranları

Sürfaktan	Kil	Sürfaktan oranı (% w/w kil)
-	Mt (Kontrol)	-
CTAB	1-CTAB-oMt	4,2
	2-CTAB-oMt	8,3
	3-CTAB-oMt	16,7
	4-CTAB-oMt	20,0
	5-CTAB-oMt	23,3
	6-CTAB-oMt	26,7
	7-CTAB-oMt	30,0
	8-CTAB-oMt	33,3
Tween-80	1-Tween-oMt	4,2
	2-Tween-oMt	8,3
	3-Tween-oMt	16,7
	4-Tween-oMt	33,3

Mt: Sürfaktan içermeyen montmorillonit, CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan (CTAB) ile modifiye edilmiş montmorillonit, Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan (Tween-80) ile modifiye edilmiş montmorillonit. Organokil isimlendirmesinde artan sayılar, yapıda daha yüksek sürfaktan konsantrasyonunu belirtmektedir.

3.1.2 Organokil Karakterizasyonu

Optimum organokil seviyeleri karakterizasyon çalışmaları ile belirlenmiştir. Bu kapsamda, elde edilen organokillerin partikül boyut dağılımı, zeta potansiyel ve elektriksel iletkenlik analizleri zetasizer cihazı (Zetasizer Nano ZSP, Malvern Instruments, İngiltere) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nanopartiküllerin boyut dağılımları, deiyonize su veya ultra saf su gibi uygun çözücülerde hazırlanan stok solüsyonlarından alınan numuneler üzerinden incelenmektedir. Yüksek konsantrasyonlu numuneler, ölçümlerde doğruluğun sağlanabilmesi için <10 ppm seviyelerine seyreltilmiştir [62]. Çalışmada, organokil solüsyonları ultra saf su ile seyreltilerek zetasizer cihazı için tasarlanmış polistiren kapiler hücre (DTS1070) kullanılmış ve ölçümler üç tekrarlı olarak 25°C'de gerçekleştirilmiştir. Solüsyonların pH ölçümleri dijital pH metre (WTW Inolab pH 7110, Xylem Analytics, Almanya) ile belirlenmiştir.

Yapı tayini analizinde ATR (zayıflatılmış toplam yansıma, attenuated total reflection) üniteli FT-IR spektrometre cihazı (Spectrum Two, Perkin Elmer, ABD) kullanılarak organokillerin spektrumları alınmıştır. Moleküler bağların

karakterizasyonu orta infrared bölgede (4000-400 cm^{-1}) ortalama 10 ölçüm alınarak gerçekleştirilmiştir [72].

X-ışını difraktometresi (D8 Discover, Bruker Corp., ABD) kullanılarak 2θ açısı 2-30° tarama alanında ve 1°/dk tarama hızı ile (λ = 1,5406 Å) ölçümler gerçekleştirilmiştir. Kil yapısındaki kristal tabakalar arasındaki mesafe (d), (2.1)'de verilen Bragg eşitliği (nλ = 2dsin θ) kullanılarak hesaplanmıştır [73].

3.1.3 Sitotoksik Etkinin Belirlenmesi

Killerin potansiyel tehlikelerini değerlendirebilmek için, canlı hücre üzerindeki etkilerini incelemede yeni yaklaşım ve standardize edilmiş test yöntemlerine ihtiyaç bulunmaktadır. *In vitro* modeller, toksisiteyi tespit etmede bir tarama yöntemi olarak faydalı olabilmekte ve sitotoksisite çalışmaları nicelendirilebilmektedir [74]. Bu modeller arasında en basit ve en yaygın yöntem, 96 kuyucuklu plakalara dayanan statik bir modeldir. Bu modelde bazı bileşikler kullanılarak sağlıklı veya kanserli hücrelere ait metabolik aktivite incelenebilmektedir.

Bu çalışmada, modifiye edilmemiş nanokil (Mt), katyonik veya non-iyonik sürfaktanlarla modifiye edilerek karakterizasyon çalışmaları sonucunda belirlenen optimum organokiller ile organomodifikasyon işleminde kullanılan sürfaktanların (CTAB ve Tween-80) sitotoksik etkisinin belirlenmesi amacıyla HT-29 kolon kanser hücre hattı ve L-929 sağlıklı fibroblast hücre hattı kullanılmıştır. İncelenecek örneklerin stok çözeltileri 1000 ppm hücre kültür ortamında hazırlanmış ve 30°C'deki karıştırmalı etüvde (WiseCube Fuzzy Control System, Daihan Scientific, Kore) 24 saat bekletilerek homojen çözeltiler elde edilmiştir. Hücreler üzerinde sitotoksik etkilerini belirlemek için çözeltilerin HT-29 kanser hücresinde 1000 ppm ve seri yarı seyreltmelerinde (500 ppm, 250 ppm, 125 ppm ve 62,5 ppm) örnek çözeltileri hazırlanmıştır. Sağlıklı hücre hattı ile çalışmalarda kil ve organokiller için 15,6-250 ppm konsantrasyon aralığında çalışılırken; sürfaktanlar için 3,91-62,5 ppm aralığı seçilmiştir. Sitotoksisiteyi değerlendirmek için XTT testi uygulanmıştır.

Hücrelerin gelişmesi için %10 FBS, %1 penisilin ve %89 DMEM içeren complete DMEM besi ortamı hazırlanmıştır. T75 flaskların içerisinde 37°C ve %5 CO_2 ortamındaki inkübatörde (HF90/HF240 Smart Cell, Heal Force, Çin) hücreler geliştirilmiştir. Hücrelerin gelişimi mikroskop (Olympus CKX41, Olympus Corp.,

Japonya) aracılığı ile kontrol edilmiştir. İnkübasyonun ardından hücreler, trypsinizasyon prosedürü kullanılarak flasktan çıkarılmış, falkon tüpüne alınmış ve Thoma hücre sayma lamı ile sayılarak hücre yoğunluğu belirlenmiştir. Ardından 96 kuyucuğa sahip bir mikroplakaya 10^4 hücre/mL olacak şekilde 100 µL hücre solüsyonundan konulmuş ve hücrelerin kuyucuk diplerinde tutunmasını sağlamak için 37°C ve %5 CO_2 ortamındaki inkübatörde 24 saat bekletilmiştir. İnkübasyonun ardından kuyucuklardaki hücrelerin canlılığı mikroskopla kontrol edilmiştir. Kuyucukların dibindeki hücrelere zarar gelmeyecek şekilde üst faz (supernatant) mikropipetle uzaklaştırılmış ve farklı konsantrasyondaki örnek solüsyonları kuyucuklara eklenerek 37°C ve %5 CO_2 ortamında kanserli hücreler 48 saat, sağlıklı hücreler 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kuyucuklardan supernatant uzaklaştırılmış ve kuyucuklara complete DMEM içerisinde hazırlanmış 100 µL XTT (0,4 mg/mL) çözeltisi eklenmiştir. Mikroplakalar 37°C ve %5 CO_2 ortamındaki 4 saat inkübe edildikten sonra, mikroplaka okuyucu (Epoch 2 Microplate Spectrophotometer, BioTek, ABD) kullanılarak 450 nm'deki her bir kuyucuğa ait optik yoğunluk belirlenmiştir. Besiyeri ortamı negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Her bir örnek konsantrasyonu için en az üç paralel çalışma yapılmıştır. Canlı hücre sayısını belirlemede (3.1) eşitliği kullanılmıştır [75].

$$\%\ Hücre\ canlılığı = \left(\frac{Absorbans_{\ Örnek}}{Absorbans_{\ Kontrol}}\right) x\ 100 \qquad (3.1)$$

3.1.4 Film Materyallerinin Eldesi

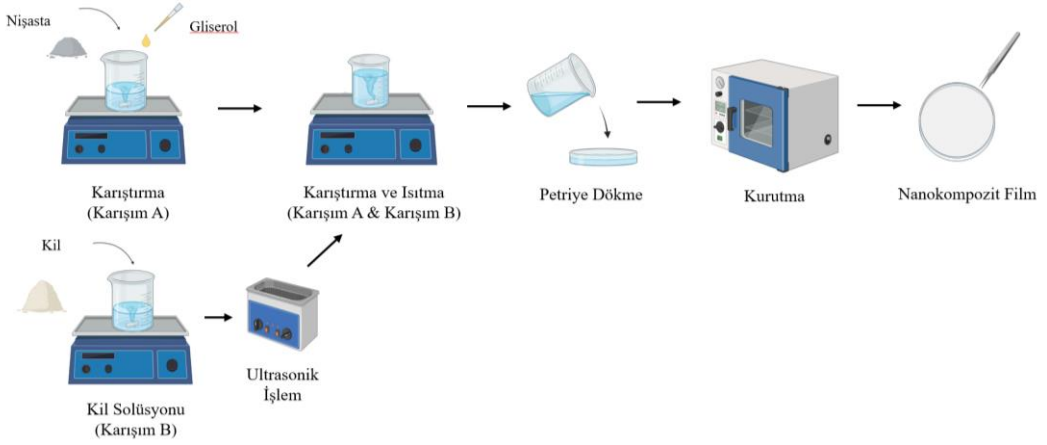
Nişasta ve sodyum aljinat matriksleri kullanılarak çözelti döküm yöntemi (solvent casting method) ile biyoesaslı nanokompozit filmler hazırlanmıştır. Bu kapsamda, çalışmada üretilen materyallere ilişkin deneme planı Tablo 3.2'de özetlenmiştir.

3.1.4.1 Termoplastik Nişasta Esaslı Filmler

Nişasta, 70°C etüvde 12 saat boyunca kurutularak yapısındaki serbest suyun (nem ve sıcaklığa bağlı olarak ağırlıkça yaklaşık %10) uzaklaşması sağlanmıştır [76]. Ön denemelerde, yapıya nanokil eklemeden önce nişasta esaslı film materyallerinin yapısında kullanılacak gliserol miktarı belirlenmiştir. Nişasta matriksine kuru ağırlık bazında farklı seviyelerde (%30, 40, 50, 60 w/w) plastikleştirici olarak gliserol ilave edilerek ultra saf suda solüsyonlar hazırlanmış ve oda sıcaklığında ısıtmalı manyetik karıştırıcı ile çözündürülmüştür. Ardından 65-70°C'de

karıştırılarak jelatinizasyon gerçekleştirilmiş, film solüsyonları petri kaplarına (90×17 mm) dökülerek 30±2°C'deki etüvde 15 saat kurutulmuştur. Plastikleştirici miktarı, nişasta esaslı film materyallerinin makroskopik özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [30]. Elde edilen termoplastik nişasta filmler arasında kırılgan olmaması, kolay kopmaması, esnek olması, yapışkan olmaması ve petri kaplarından kolay ayrılması gibi kriterler göz önünde bulundurulduğunda, %40 gliserol içeren filmin en uygun özellikleri sağladığı belirlenmiştir.

Filmlerin üretilmesinde Aouada vd. [76] ve Suryanto vd. [77] tarafından kullanılan teknikler modifiye edilerek üretim gerçekleştirilmiştir. Buna göre, bir behere 5 g kurutulmuş nişasta, 50 mL ultra saf su ve 2 g gliserol (%40 w/w nişasta) eklenerek manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında karıştırılmıştır (Karışım A). Başka bir behere ise %1, 3 ve 5 (w/w nişasta) seviyelerinde kil solüsyonları 50 mL ultra saf suda hazırlanmış ve manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında 12 saat karıştırılmıştır. Kilin biyokompozit matriks içerisinde topaklanmasını önlemek ve homojen dağılımını sağlamak amacıyla, hazırlanan kil solüsyonlarına ultrasonik banyoda (Sonorex RK 514 BH, Bandelin Electronic, Almanya) ultrasonik işlem (35 kHz, 860W, 60 dk) uygulanmıştır (Karışım B). İki karışım bir araya getirilerek manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında karıştırılmış, ardından 65-70°C'de 20 dk daha karıştırılarak jelatinizasyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen solüsyonlar 25 mL olarak petri kaplarına dökülmüş ve 30±2°C'deki etüvde 24 saat kurutulmuştur. Kuruyan filmler petri kaplarından dikkatlice alınarak analize kadar desikatörde muhafaza edilmiştir (Şekil 3.1). Kontrol materyali olarak, kil eklenmeden nişasta ve gliserol 100 mL distile suya ilave edilerek aynı prosedür uygulanmıştır.



Şekil 3.1 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmleri hazırlama prosedürü (Biorender.com kullanılarak görsel oluşturulmuştur.)

Tablo 3.2 Üretilen nanokompozit film materyallerine ait deneme planı

Matriks	Film materyali	Kil türü	Kil oranı (%)	Numune sayısı
Termoplastik nişasta	N	-	0 (Kontrol)	Kontrol + (1 matriks x 3 kil türü x 3 kil oranı) = 10 numune
	N-Mt-1	Mt	1	
	N-Mt-3		3	
	N-Mt-5		5	
	N-CTAB-oMt-1	CTAB-oMt	1	
	N-CTAB-oMt-3		3	
	N-CTAB-oMt-5		5	
	N-Tween-oMt-1	Tween-oMt	1	
	N-Tween-oMt-3		3	
	N-Tween-oMt-5		5	
Sodyum aljinat	SA	-	0 (Kontrol)	Kontrol + (1 matriks x 3 kil türü x 3 kil oranı) = 10 numune
	SA-Mt-1	Mt	1	
	SA-Mt-3		3	
	SA-Mt-5		5	
	SA-CTAB-oMt-1	CTAB-oMt	1	
	SA-CTAB-oMt-3		3	
	SA-CTAB-oMt-5		5	
	SA-Tween-oMt-1	Tween-oMt	1	
	SA-Tween-oMt-3		3	
	SA-Tween-oMt-5		5	

Mt: Modifiye edilmemiş kil, CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan eklenmiş organokil, Tween-oMt: Non-iyonik Tween-80 sürfaktanı eklenmiş organokil.

3.1.4.2 Sodyum Aljinat Esaslı Filmler

Hidrofilik özellikteki sodyum aljinat esaslı filmlerin, ön denemelerde asitli ve sulu gıda benzerleriyle temas ettiklerinde çözünmeye bağlı olarak deformasyona uğradıkları belirlenmiştir. Bu deformasyonun, özellikle asidik gıda benzeri ortamında daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Migrasyon çalışmalarında en zorlayıcı simulantının, asidik gıda simulantı (%3 asetik asit çözeltisi) olduğu belirtilmektedir [78]. Bu nedenle, ön denemelerde matriks yapısında çapraz bağlanma ajanı olarak $CaCI_2$ uygulamaları gerçekleştirildikten sonra, migrasyon çalışmalarında öncelikli olarak asitli gıda benzeri üzerine odaklanılmıştır. Literatür doğrultusunda, bu çalışmada SA esaslı film materyallerine hidrofobik özellik kazandırmak amacıyla iki farklı $CaCI_2$ uygulama yöntemi kullanılmıştır. Bunlardan

ilki, film solüsyonuna doğrudan $CaCI_2$ eklenmesine dayanan $CaCI_2$-mix yöntemi, ikincisi ise aljinat filmlerin sulu $CaCI_2$ solüsyonlarına daldırılması esasına dayanan $CaCI_2$-immerse yöntemidir [79].

Geleneksel optimizasyon çalışmalarında, sadece tek bir parametre değiştirilip diğer parametreler sabit tutulduğundan gerekli deney sayısı fazla olup, bu durum zaman, malzeme ve reaktif tüketiminin artmasına yol açmaktadır. Ayrıca değişkenler arasındaki interaksiyonlar yer almadığından, incelenen parametrelerin yanıt üzerindeki etkilerinin net olarak ortaya konulamasına neden olmaktadır. Bu sorunların üstesinden gelebilmek için optimizasyon çalışmalarında kullanılan çok değişkenli istatistik tekniklerinden biri olan yüzey yanıt yöntemi (Response Surface Methodology, RSM) bu çalışmada tercih edilmiştir. Bu yöntem sayesinde, en iyi sistem performansını elde edebilmek için birden fazla bağımsız değişkenin seviyesi eş zamanlı olarak optimize edilebilmiştir [80].

Tablo 3.3 Asidik gıda benzerinde SA esaslı filmlerin toplam migrasyon optimizasyonu seviyeleri

Kodlanmış Değerler	**Bağımsız Değişken**	**Seviye**		
		Düşük (-1)	**Orta (0)**	**Yüksek (+1)**
X_1	Gliserol oranı (% w/w aljinat)	40	50	60
X_2	Film solüsyonuna katılan $CaCI_2$-mix oranı (% w/w aljinat)	3,5	4,0	4,5
X_3	Filmin daldırıldığı $CaCI_2$-immerse oranı (% w/w su)	3,0	4,0	5,0

$CaCI_2$: Kalsiyum klorür, w/w: ağırlık/ağırlık.

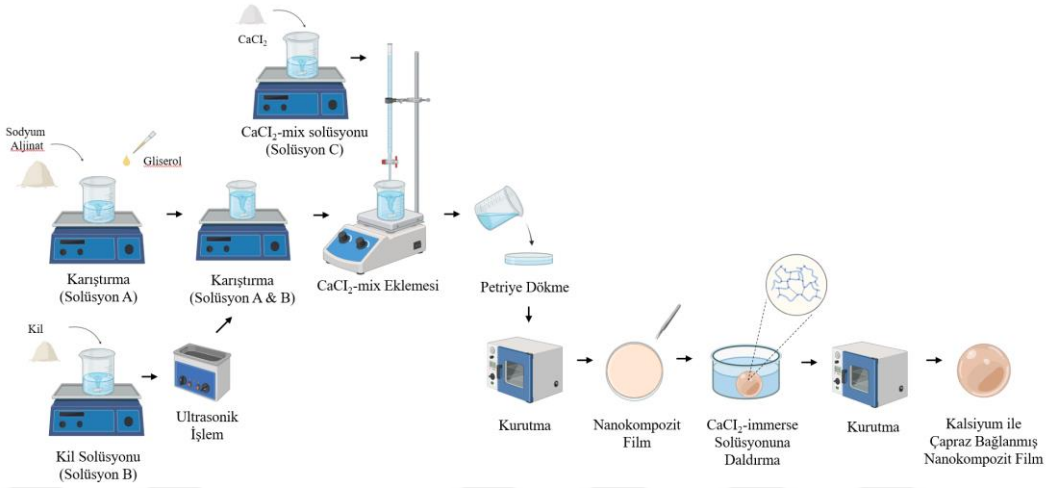
Konuya ilişkin literatür çalışmaları dikkate alınarak, ön deneme çalışmaları kapsamında SA esaslı filmlerin yapısında plastikleştirici olarak kullanılan gliserol oranı ile suya karşı çözünürlüğün azaltılması amacıyla uygulanan iki aşamalı $CaCI_2$ uygulamalarının ($CaCI_2$-mix ve $CaCI_2$-immerse) en düşük ve en yüksek seviye değerleri belirlenmiştir (Tablo 3.3). Bu seviyeler esas alınarak, yüzey yanıt yöntemi kullanılarak optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Box-Behnken deneme düzeni ile bağımsız değişkenler olarak gliserol, $CaCI_2$-mix ve $CaCI_2$-immerse oranları, bağımlı değişken olarak ise materyalin en fazla deformasyona uğradığı asitli gıda benzeri ile elde edilen toplam migrasyon analiz sonucu seçilmiştir. Box-

Behnken tasarımına dayalı optimizasyon yaklaşımı Design-Expert® yazılımı kullanılarak incelenmiştir. Yazılım aracılığıyla film formülasyonu belirlendikten sonar, biyopolimer matriksine organokil eklenerek nanokompozit malzemeler elde edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar varyans analizi (ANOVA) kullanılarak %95 güven düzeyinde istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Asitli gıda benzerine migrasyon seviyesini (bağımlı değişken) açıklamak için bağımsız değişkenlere bağlı olarak ikinci dereceden denklemler geliştirilmiş ve analiz edilmiştir. Bağımlı değişkenin değişimini ortaya koymak için yüzey yanıt grafikleri oluşturulmuş ve yorumlanmıştır. Yazılım tarafından hesaplanan tatmin (desirability) seviyesi en yüksek olan bağımsız değişkenler optimum koşullar olarak belirlenmiştir.

Optimizasyonun ardından Şekil 3.2'de gösterildiği şekilde filmlerin eldesinde sodyum aljinat ve gliserolden oluşan solüsyon, manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında 12 saat karıştırılmıştır (Solüsyon A). Başka bir beherde modifiye veya modifiye edilmemiş kil farklı konsantrasyonlarda (%1, 3, 5 w/w) hazırlanarak oda sıcaklığında 12 saat karıştırılmış, kilin topaklanmasını engellemek ve homojen dağılım sağlanmak amacıyla ultrasonik banyoda ultrasonik işlem (35 kHz, 860W, 60 dk) uygulanmıştır (Solüsyon B). Ardından solüsyon A ve solüsyon B bir araya getirilerek karıştırılmıştır. Optimizasyon çalışması kapsamında belirlenen oranda $CaCI_2$-mix solüsyonu (Solüsyon C) hazırlanmış ve oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılmıştır. Solüsyon C, cam bir büret yardımıyla, ısıtmalı manyetik karıştırıcı üzerindeki karışıma topaklanma olmayacak şekilde damla damla eklenmiştir. Çapraz bağlanma işlemi, 70°C sıcaklıkta 2 saat süreyle karıştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Homojen film solüsyonları petrilere dökülerek 40±1°C etüvde 18 saat kurulmuştur. Petrilerden alınan nanokompozit materyaller optimizasyonda belirlenen $CaCI_2$-immerse solüsyonuna her bir yüzey 1,5 saat olacak şekilde toplamda 3 saat daldırılmış, süre sonunda $CaCI_2$ solüsyonundan çıkarıldıktan sonra nazikçe bol su ile yıkanmış ve materyal yüzeyinde çapraz bağlanmadan kalan fazla kalsiyum iyonları uzaklaştırılmıştır [81], [82], [83]. Materyaller nazikçe kurulanıp, ikinci kurutma sırasında kıvrılma gibi olası şekil bozukluklarının önüne geçebilmek için üzerine hafif bir baskı uygulanarak 40±1°C etüvde yeniden kurutulmuştur [84], [85]. Elde edilen biyoesaslı nanokompozit film

materyalleri karakterizasyon ve migrasyon analizlerine alınıncaya kadar bir desikatörde muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin hazırlama prosedürü (Biorender.com kullanılarak görsel oluşturulmuştur.)

3.1.5 Film Materyallerinin Karakterizasyonu

3.1.5.1 Filmlerin Yapısal Özellikleri

ATR üniteli FT-IR spektrometre cihazı (Spectrum Two, Perkin Elmer, ABD) ile nanokompozitlerdeki moleküler bağların karakterizasyonu orta infrared bölgede (4000-400 cm^{-1}) ortalama 10 ölçüm alınarak gerçekleştirilmiştir [33], [86].

3.1.5.2 Filmlerin Termal Analizi

Biyoesaslı nanokompozit filmlerinin termal özellikleri, diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC 4000, Perkin Elmer, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Film örnekleri 2-3 mg olacak şekilde alüminyum DSC kaplarına yerleştirilmiş, hermetik olarak kapatılmış ve inert azot atmosferi altında 20°C' den 300 ºC'ye kadar 10 ºC/dk ısıtma hızı ile analiz edilmiştir [84]. Sıcaklığa bağlı olarak örneklere verilen ısı akışı incelenmiş ve DSC termogramları elde edilmiştir. DSC grafiklerine göre termal geçiş sıcaklıkları; camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklığı (T_m) ve kristalizasyon sıcaklığı (T_c) ile erime entalpisi (ΔH_m) değerleri belirlenmiştir [16].

3.1.5.3 Filmlerin Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi

Dijital kumpas (CD-15CPX Absolute Digimatic, Mitutoyo Corp., Japonya) kullanılarak üretilen nanokompozit filmlerinin kalınlıkları 10 farklı noktadan ölçülmüştür. Biyopolimer nanokompozitlerin çekme dayanımı (TS, tensile

strength) ve kopma anında uzama (EB, elongation at break) özellikleri ASTM D882 [87] standardına göre C. M. O. Müller vd. [88] çalışmasında belirtildiği şekilde belirlenmiştir. Mekanik özellikler; TPS esaslı filmler için tekstür analiz cihazı (TA.XT Plus Stable Micro Systems Texture Analyser, İngiltere) 5 kg yük hücresi ile, SA esaslı filmler için tekstür analiz cihazı (TA.HD Plus Stable Micro Systems Texture Analyser, İngiltere) 100 kg yük hücresi ile belirlenmiştir. EB analizi için film numuneleri 15×50 mm boyutlarında kesilerek paslanmaz çelik kavramalar (grip) arasına sıkıştırılıp, 10 mm/s hızda gerilme uygulanmıştır. TS analizinde termoplastik nişasta esaslı film numuneleri yükseltilmiş polikarbonat bir platform üzerindeki 10 mm çapındaki deliğin üzerine yerleştirilmiş ve üzerine kapatılan üst plaka ile test sırasında numunenin kayması önlenmiştir. Analiz, paslanmaz çelik küresel bir test probu ile 55 mm dönüş uzaklığı, 20 mm/s dönüş hızı ve 50 g temas kuvveti ile gerçekleştirilmiştir. Sodyum aljinat esaslı filmler için TS değerleri, EB analizi sonucunda elde edilen gerilme-uzama (stress-strain) grafiğinden hesaplanmıştır. Her bir numune için en az dört paralel ile analiz gerçekleştirilmiştir [87], [88].

3.1.5.4 Filmlerin Renk ve Optik Özelliklerinin Belirlenmesi

- **Renk Analizi**

Film materyallerinin renk ölçümleri, renk ölçüm cihazı (Spectrophotometer CM-5, Konica Minolta, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her film örneğinin on farklı noktasından ölçüm alınarak Hunter renk değerleri (L^*, a^* ve b^*) belirlenmiştir. Film örneklerinin toplam renk farkı (ΔE) ise (3.2) eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5} \quad (3.2)$$

Üç boyutlu renk ölçüm sisteminde, L^* (lightness, aydınlık) değeri 0-100 arasında olup siyahı (0) ve beyazı (100) ifade etmektedir. a^* değerinin pozitif (+) olması kırmızı rengi, negatif (-) olması yeşil rengi ve sıfır (0) değeri ise nötrlüğü göstermektedir. b^* değerinin pozitifliği (+) sarı rengi, negatifliği (-) mavi rengi, sıfır (0) değeri ise nötrlüğü ifade etmektedir [89]. ΔL^*, Δa^* ve Δb^* değerleri, kontrol filmi ile nanokompozit film materyalleri arasındaki farkları temsil etmektedir. Bu doğrultuda, nanokompozit filmlerin kontrol filmine kıyasla renk değişimleri belirlenmiştir [71], [90].

- **Optik Özellikleri (Işık Geçirgenliği ve Opaklık)**

Nanokompozit filmlerin ışık geçirgenliği ve opaklık analizleri UV spektrofotometresi (UV-1800 UV Spectrophotometer, Shimadzu Corp., Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Homojen kalınlığa sahip film örnekleri 1×4 cm boyutlarında kesilerek UV hücresine yerleştirilmiş ve UV ile görünür bölgede sırasıyla 360 nm ve 660 nm dalga boylarında % geçirgenlik (transmitans, T) ölçümleri için üç paralel okuma gerçekleştirilmiştir [91]. Boş hücre referans olarak kullanılmıştır. Opaklık analizinde 600 nm'de ölçümlenen absorbans değeri (A_{600}) üç paralel okuma ile belirlenmiş ve film kalınlığı (d) değeri ile (3.3) eşitliği kullanılarak opaklık hesaplanmıştır [92].

$$Opaklık = \frac{A_{600}}{d\ (mm)} \tag{3.3}$$

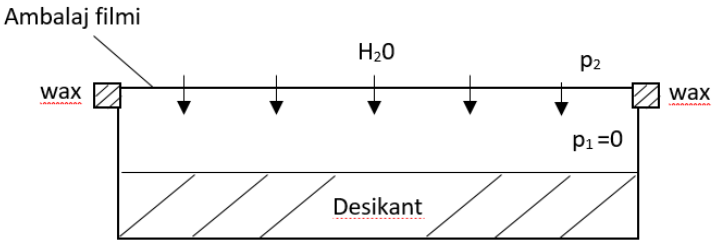
3.1.5.5 Filmlerin Bariyer Özellikleri

Üretilen film materyallerinin bariyer özellikleri için su buharı geçirgenliği (water vapor permeability, WVP), oksijen geçirgenliği (peroksit değeri, PV), su absorpsiyon kapasitesi, suda çözünürlük özellikleri ve yüzey hidrofobikliği (WCA) incelenmiştir.

- **Su Buharı Geçirgenliği Analizi**

Su buharı geçirgenliği analizi, ASTM E96/E96M standardı kullanılarak desikant metodu ile belirlenmiştir (Şekil 3.3). Test hücresi (cam balon) içerisine silika jel (Silica gel orange, Sigma Aldrich, Almanya) eklenerek %0 RH elde edilmiştir. Öncesinde silika jelin yapısındaki suyun giderilmesi amacıyla silika jel, etüvde 120°C'de 3 saat boyunca bekletilmiştir. Test materyalleri, 30 mm çapındaki test hücresinin ağız bölümüne parafin ve yapıştırıcı bant yardımı ile kapatılmıştır. Test hücreleri 23±1°C ve %50±1 bağıl nem test koşullarında iklimlendirme kabinine (HPP750Eco Model, Memmert GmbH, Almanya) yerleştirilmiş ve belirli aralıklarla çıkarılarak hassas terazide tartılmıştır. Bu işlem, test örnekleri denge durumuna (steady state) ulaşana kadar tekrarlanmıştır. Ayrıca, içerisine silica jel konulmamış kör örnek kullanılarak test süresi boyunca sıcaklık ve/veya basınç dalgalanmalarına bağlı olarak test örneği ve kabın ağırlığında meydana gelebilecek değişimler elemine edilmiştir. Her bir test materyali için üç paralel olacak şekilde

çalışma gerçekleştirilmiştir. Ardışık altı tartımda zamana bağlı olarak kütledeki değişim doğrusal bir şekilde olduğunda, numunenin dengeye ulaştığı kabul edilmiştir.



Şekil 3.3 Ambalaj filminin su buharı geçirgenlik hızının belirlenmesinde kullanılan desikant metodunun şematik gösterimi [93]

Her bir materyal için zamana karşılık kütle değişim grafiği çizilmiş ve doğrusal grafiğin (R^2>0,99) eğiminden su buharı geçiş hızı (G/t) belirlenerek, (3.4) eşitliği kullanılarak su buharı geçirgenlik (WVP) değerleri hesaplanmıştır [93].

$$WVP\left(\frac{g \cdot m}{s \cdot m^2 \cdot Pa}\right) = \frac{G}{t} \times \frac{L}{A \times \Delta \mathrm{p}} \tag{3.4}$$

Eşitlikteki WVP su buharı geçirgenliği (g·m/m^2·s·Pa), G/t grafiğin eğimi olup kararlı durumdaki zamana bağlı kütle değişimi (g/s), A materyal alanı (m^2), L materyal kalınlığı (m) ve ΔP test sıcaklığındaki buhar basıncının değişimini (Pa) ifade etmektedir.

- **Oksijen Geçirgenliği Analizi**

Film materyallerinin oksjen geçirgenliği özelliklerinin belirlenmesi için dolaylı bir yöntem olarak yağda peroksit sayısı tayini yapılmıştır [94]. Bunun için test hücresi olarak 50 mL cam balonların içerisine 15 mL ayçiçek yağı konulmuştur. Balonların ağız kısmı (çapı 30 mm), test materyalleri ile kaplanarak parafin ve yapıştırıcı bant yardımı ile sıkıca kapatılmıştır. Test hücreleri etüve yerleştirilmiş ve 40°C'de 10 gün boyunca depolanmıştır. Süre sonunda etüvden çıkarılmış ve test materyalinin oksijen geçirgenliğine bağlı olarak yağın peroksit değerindeki değişim, TS EN ISO 3960 standardına göre sodyum tiyosülfat titrasyonu ile belirlenmiştir. Peroksit sayısı tayini için 0,01 N sodyum tiyosülfat ($Na_2S_2O_3$) standart çözeltisi, doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisi, %1'lik nişasta çözeltisi ve 3:2 oranında asetik asit-kloroform çözeltisi hazırlanmıştır. Analiz süresi sonunda bir erlen içerisine yaklaşık 2 g yağ örneği konulmuş, üzerine 25 mL asetik asit-kloroform çözeltisi ve 1 mL

doymuş KI çözeltisi eklenmiş ve erlenin ağzı kapatılıp karanlık ortamda 5 dk bekletilmiştir. Ardından üzerine 75 mL ultra saf su ve 1 mL nişasta çözeltisi eklenmiş ve $Na_2S_2O_3$ standart çözeltisi ile karışımın koyu rengi beyaza dönene kadar titrasyon yapılmış ve harcanan standart çözelti miktarı kaydedilmiştir. Yağ örneklerinin peroksit sayılarının hesaplanmasında (3.5) eşitliği kullanılmıştır [95]. Şahit olarak içerisinde ayçiçek yağı bulunan test hücresinin ağzı açık olarak, örnekler ile aynı koşullarda depolandıktan sonra aktif oksijen (peroksit) değeri tayin edilmiştir. Her bir film materyalinde üç paralel çalışma yapılmıştır.

$$Peroksit\ sayısı\ (\text{meq}\ O_2/\text{kg yağ}) = \frac{V \times N \times 1000}{m} \tag{3.5}$$

Eşitlikteki V titrasyonda örnek için harcanan sodyum tiyosülfat hacmini (mL), N sodyum tiyosülfatın normalitesini (N) ve m erlene tartılan yağ örneği miktarını (g) ifade etmektedir.

Peroksit değeri, yağa peroksitler şeklinde kimyasal olarak bağlanan oksijenin miktarını ölçen bir parametredir [95]. Yağdaki peroksit değerinin yüksek oluşu, materyalin oksijen bariyerinin düşük, diğer bir ifade ile oksijen geçirgenliğinin yüksek olduğunu ifade etmektedir [96]. Peroksit sayısı analizinin esası, yağa eklenen potasyum iyodürün yağdaki peroksit oksijeni ile okside olması sonucunda serbest bırakılan iyodun, $Na_2S_2O_3$ ile titre edilmesi ile nişasta indikatörü kullanılarak renkteki değişimin gözlemlenmesi ve miktarının belirlenmesine dayanmaktadır [95].

- **Su Absorpsiyon Kapasitesi ve Suda Çözünürlük Analizi**

Su absorpsiyon kapasitesi (su alımı) ve suda çözünürlük (çözünen madde kaybı) analizleri için ASTM D570-22 metodu [97] esas olacak şekilde Abdullah & Dong [98] tarafından örnek boyutu ve kullanılan su miktarı açısından modifikasyon göz önüne alınmıştır. Üretilen filmler suda çözünürlük testi sırasında bütünlüklerini korumuş, yani çözünmemiş veya parçalanmamıştır.

Materyallerin koşullandırmasında 2×2 cm^2 boyutlarındaki nanokompozitler $24+^1/_2$ saat boyunca 50±2°C sıcaklıktaki etüvde kurutulmuş ve ardından desikatörde oda sıcaklığına soğutulduktan sonra hassas terazide tartılmıştır (koşullandırılmış ağırlık, W_c). 23±1°C sıcaklıktaki su dolu bir kaba koşullandırılmış fim örneklerinden TPS esaslı nanokompozitler 2 saat, SA esaslı nanokompozitler ise 24

saat boyunca daldırılmıştır. Süre farkı, nispeten yüksek su absorbe hızına sahip malzemelerde suya batırılma süresinin 120±4 dakikaya düşürülebilmesine dayanmaktadır. Gerçekleştirilen ön denemelerde nişasta esaslı malzemelerin su emme kapasitesinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Süre sonunda örnekler sudan çıkarılmış ve materyal yüzeyindeki su, filtre kağıdı ile nazikçe kurulandıktan sonra yeniden tartımları alınmıştır (ıslak ağırlık, W_w). Suya daldırılma sonucunda örneklerin ağırlığında meydana gelen artış (su absorpsiyon kapasitesi, W_a) (3.6) eşitliğine göre hesaplanmıştır. Çalışmalar üç paralel şeklinde gerçekleştirilmiştir [97].

$$W_a\ (\%) = \frac{W_w - W_c}{W_c} x\ 100 \tag{3.6}$$

Üretilen biyoesaslı film materyalleri suda çözünebilen bileşenler içerebildiğinden, su absorpsiyon kapasitesi analizinin ardından suda çözünürlük analizine alınmışlardır. Bu amaçla, materyaller ilk kurutma koşulları olan 50±2°C sıcaklıkta 24 saat süre ile yeniden koşullandırılmış, ardından desikatörde oda sıcaklığına soğutularak tartılmıştır (yeniden koşullandırılmış ağırlık, W_r). W_r değerinin, ilk koşullandırılmış ağırlıktan (W_c) daha düşük olduğu durumda iki değer arasındaki fark suya daldırma testi sırasında kaybolan suda çözünen madde (W_s) olarak kabul edilmiştir. Buna göre suda çözünürlük (W_s) sonuçları (3.7) eşitliği kullanılarak belirlenmiştir [97].

$$W_s\ (\%) = \frac{W_c - W_r}{W_c} x\ 100 \tag{3.7}$$

- **Su Temas Açısı (Yüzey Hidrofilikliği, WCA)**

WCA, bir katının ıslanabilirliğini göstermekte olup, ambalaj film yüzeyinin hidrofobik veya hidrofilik özelliğini ortaya koymaktadır. Ölçülen temas açısı 90°'den büyükse yüzey hidrofobiktir ve zayıf ıslanma özelliğine sahiptir; temas açısı 90°'den küçükse yüzey hidrofiliktir [90].

Film yüzeyi ile su damlasının temas ettiği noktadaki teğet çizgi arasındaki açıya temas açısı denilmektedir. Bu analiz, materyal yüzeyinin hidrofobiklik/hidrofilikliğinin değerlendirilmesini sağlamaktadır [90], [92]. Çalışmada gonyometre cihazı (Attension® Theta Lite, Biolin Scientific, İsveç) üzerindeki yatay platforma film örneği yerleştirilmiş ve mikro şırınga kullanılarak

film materyali üzerine yaklaşık 5 µL distile su damlası damlatılmıştır. Temas açısı sonuçları, su damlasının film üzerine bırakılmasının ardından, damlanın her iki yanından ölçülen temas açısı değerlerinin ortalaması alınarak belirlenmiştir [90], [99]. Elde edilen sonuçlar, film yüzeyinin farklı bölgelerinde gerçekleştirilen en az dört ölçümün ortalama değerleri olarak raporlanmıştır.

3.1.5.6 Filmlerin Yüzey Morfolojisi

Modifiye edilmemiş kil ve organokillerin termoplastik nişasta ve sodyum aljinat matrikslerinde dağılımının incelenmesi ve böylece film örneklerinin yüzey morfolojisinin gözlemlenmesi alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) (Thermo Scientific Apreo 2S, Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. SEM cihazının vakum altında çalışma voltajı 2 kV olup, düşük büyütme (250x) ve yüksek büyütme (10.000 x) altında film örnekleri incelenmiştir.

3.1.6 Migrasyon Analizleri

Gıda ambalaj malzemelerinin güvenliği ile ilgili başlıca konulardan biri, ambalaj bileşenlerinin istenmeyen migrasyonudur. Bu kütle taşınımı sürecini değerlendirmek için tipik ve geçerli yöntem, gerçek gıdaların analizindeki karmaşıklığı önlemek amacıyla maddelerin gıda benzerlerine toplam ve spesifik migrasyonunun belirlenmesidir [100]. Çalışmada daldırma metodu ile gerçekleştirilen migrasyon analizlerinde test koşulları, AB ve Türkiye'deki gıda ile temas eden plastik madde ve malzemeler ile ilgili mevzuat regülasyon ve kılavuzlar [40], [41], [58] göz önünde bulundurularak belirlenmiştir.

3.1.6.1 Toplam Migrasyon Analizi

Toplam migrasyon (TM) analizleri TS EN 1186-1 [55] ve TS EN 1186-3 [59] standartlarına göre gerçekleştirilmiştir. Analizlerde sulu (hidrofilik) gıda benzeri olarak %10 etil alkol çözeltisi, asitli gıda benzeri olarak %3 asetik asit çözeltisi, yağlı (hidrofobik) gıda benzerleri olarak ise %95 etil alkol çözeltisi ve izooktan kullanılmıştır. %3 asetik asit çözeltisi (w/v) hazırlanması amacıyla 30 g glasiyal asetik asit, ultra saf su ile hacim bir litreye tamamlanmıştır. %10 etil alkol çözeltisi (v/v) ve %95 etil alkol çözeltisi (v/v) Gay-Lussac tablosuna göre hazırlanmıştır.

Analizler esas olarak TM0 test koşulunda 40°C'de 30 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. Çalışılan bu test koşulu, soğuk ortamda ya da oda sıcaklığında kısa süreli (30 dakikadan az) teması kapsamaktadır. Tespit limitinin (LOD: 1

mg/dm^2) altında sonuçlar elde edildiği durumda daha zorlayıcı bir temas koşulu altında henüz gıda benzeri ile temas etmemiş materyal kullanılarak analiz tekrarlanmıştır. Buna göre nanokompozit filmlerin migrasyon özellikleri TM3 koşulunda (70°C-2 saat) incelenmiştir. TM3 test koşulu sıcak dolum koşullarında ambalajlanan ve sonrasında oda sıcaklığında ya da buzdolabı koşullarında uzun süreli depolama yapılmayan koşullarını temsil etmektedir [40], [41]. %95 etil alkol ve izooktan bitksel yağ yerine geçen gıda benzerleri olup, en yüksek 60°C'ye kadar kullanılabilmektedirler. TS EN 1186-1'e göre TM3 test koşulunun %95 etil alkol için karşılığı 60°C'de 2 saat iken, izooktan gıda benzeri için 40°C'de 30 dakikadır [55]. Bu temas koşullarında çalışılıp izooktan gıda benzerinde LOD seviyesinin altında sonuçlar elde edildiği için daha zorlu bir temas koşulu olan TM4 için çalışma detaylandırılmıştır. TM4 koşulu 100°C'ye kadar sıcaklıklarda yüksek sıcaklık uygulamalarını kapsamaktadır [41]. TS EN 1186-1'e göre TM4 durumunda izooktan için uygulanabilecek test koşulu 60°C'de 1 saat olarak seçilmiştir [55].

Toplam migrasyon analizinde kullanılacak cam petri kapları tanımlanması için işaretlendikten sonra 105-110°C etüvde 30 dk kurutulmuştur. Kaplar etüvden çıkarıldıktan sonra bir desikatöre yerleştirilerek soğumaları için beklenmiş ve her bir kabın kütlesi hassas terazi ile tartılmıştır. Petri kapları yeniden etüve yerleştirilerek ısıtma, soğutma ve tartım işlemleri tekrarlanmıştır. Kapların sabit tartıma gelmesi için ardışık iki tartım arasındaki fark 0,5 mg'dan fazla olmayıncaya kadar işlem devam ettirilmiş ve temiz cam petri kaplarının daraları (m_b) belirlenmiştir.

Çalışma üç paralel örnek ve iki kör (blank) ile gerçekleştirilmiştir. 100 mL gıda benzeri migrasyon kaplarına (silindirlerine) doldurulmuş ve kapaklar kapatılarak test sıcaklığındaki etüvde test sıcaklığına ulaşıncaya kadar bekletilmiştir. Ardından 1 dm^2 yüzey alanındaki (S) film materyali test sıcaklığına ulaşmış migrasyon kaplarındaki gıda benzerine daldırılmış ve kapaklar kapatılmıştır. Bu işlem gıda benzerinde gereksiz ısı kaybını önlemek amacıyla mümkün olan en kısa sürede gerçekleştirilmiştir. Migrasyon kapları test sıcaklığındaki etüve geri yerleştirilmiş ve etüvün sıcaklığına yeniden ulaşıncaya kadar izlenmiştir. Test sıcaklığına ulaştıktan sonra, etüvün içerisinde kaplar test süresi boyunca tutulmuştur. Test süresi sonunda migrasyon kapları etüvden çıkarılmış ve film materyalleri ile temas etmiş gıda benzerleri önceden daraları alınmış cam petri kaplarına aktarılmıştır.

Gıda benzerinin evaporasyon işlemi, çeker ocak içerisinde bulunan sıcak tabla (hot-plate) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, gıda benzerinin bulunduğu her bir migrasyon kabı, iki kez 10 mL taze gıda benzeri ile çalkalanarak evaporasyon işlemine devam edilmiştir. Gıda benzeri neredeyse tamamen buharlaştığında, cam kaplar 105-110°C'deki etüvde 30 dk tutularak kaplarda bulunan uçucu bileşenlerin tamamen buharlaşması sağlanmıştır. Ardından, kaplar etüvden çıkarılarak desikatöre alınmış, oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonar her bir kabın kütlesi tartılmıştır. Cam kaplar sabit tartıma gelinceye kadar etüvde ısıtma, desikatörde soğutma ve tartım işlemleri tekrarlanmış ve son kütleleri (m_a) belirlenmiştir. Toplam migrasyon analiz sonucu (TM), gıda benzeri ile temas eden materyalin yüzey alanı (dm^2) başına uçucu olmayan madde (kalıntı) miktarı (mg) olarak (3.8) eşitliği kullanılarak gravimetrik olarak hesaplanmıştır.

$$TM\ (mg/dm^2) = \frac{m_a - m_b}{S} \tag{3.8}$$

3.1.6.2 Spesifik Migrasyon Analizi

Polimer yapısına eklenen kil minerallerinin migrasyonu üzerine literatürde ICP-MS cihazında esas olarak alüminyum [98], [100], [101], [102], [103] ve demir elementleri [100], [101], [104] üzerine çalışmalar yer almakla beraber, killerin yüzeyinde negatif yüklü iyonlar tarafından tutulabilen başka pozitif iyonların (Ca^{+2}, Mg^{+2}, Mn^{+2}, Zn^{+2}, Cu^{+2}, Na^{+}, K^{+}, H^{+} gibi) da yer alabildiği belirtilmiştir [17]. Ayrıca Tebliğ No: 2019-44'te gıda ile temas eden plastik madde ve malzemelerden gıdalara geçebilen bazı elementler için spesifik migrasyon limitleri yer almaktadır [41]. Bu nedenle çalışmadaki nanokompozit gıda ambalaj filmlerinin ilgili tebliğe göre spesifik migrasyon analizi açısından uygunluğunu belirleyebilmek adına alüminyum (Al), mangan (Mn), demir (Fe), kobalt (Co), nikel (Ni), bakır (Cu), çinko (Zn) ve baryum (Ba) elementleri incelenmiştir. Ön deneme çalışmalarında, sulu gıda benzeri (%10 etil alkol) kullanılarak gerçekleştirilen migrasyon analizinde ölçüm limitinin altında sonuçlar elde edilmiştir. Avrupa Konseyi tarafından belirtildiği üzere, plastik esaslı madde ve malzemelerden metal migrasyonu açısından en zorlayıcı ve agresif gıda benzeri olarak kabul edilen %3 asetik asit kullanılarak spesifik migrasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir [78].

Spesifik migrasyon analizi iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Ilk aşamada, toplam migrasyon analizi bölümünde belirtildiği şekilde film materyalleri seçilen test

koşullarında gıda benzeri ile üç paralel ve iki kör örnek olacak şekilde çalışılmıştır. TS EN 13130-1 standardına göre, spesifik migrasyon analizine alınan materyalin yüzey alanı 0,6 dm^2 olarak belirlenmiştir. Ikinci aşamada, gıda benzerindeki element migrantı belirlenmiştir. Analiz süresi sonunda test örnekleri gıda benzerinden çıkarılmış, migrasyon ekstraktları cihaza verilmek üzere viallere alınmış ve ICP-MS (Agilent 7700x, Agilent Technologies, Inc., California, ABD) cihazı ile gıda benzerindeki elementlerin migrasyon sonuçları incelenmiştir. %3 asetik asit için kullanılan metoda dair çalışma aralıkları; Al için 0-160 ppb, Mn için 0-8 ppb, Fe için 0-160 ppb, Co için 0-8 ppb, Ni için 0-8 ppb, Cu için 0-160 ppb, Zn için 0-160 ppb ve Ba için 0-160 ppb olup, korelasyon katsayısı (R^2>0,99) göz önünde bulundurularak çalışma aralığında doğrusallıklar kontrol edilmiştir [105], [106]. Avrupa Birliği ve Türkiye'de yürürlükte olan mevzuatlar göz önünde bulundurularak gıda benzerine geçen element migrasyonları değerlendirilmiştir.

3.1.7 İstatistiksel Analiz

Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi SPSS Statistics 29 programı (IBM SPSS Statistics) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Varyans analizi (one-way ANOVA) ile örnekler arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığı belirlenmiştir. Anlamlı fark bulunduğunda çoklu karşılaştırma testi olarak Duncan testi uygulanmıştır. İstatistiksel analizlerde %95 güven aralığı ($p<0,05$) dikkate alınmıştır.

Sodyum aljinat esaslı filmlerin Box-Behnken tasarımına dayalı optimizasyon çalışması Design-Expert® yazılımı (Version 23.1, Stat-Ease Inc., ABD) ile gerçekleştirilmiştir.

4
BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Organokil Karakterizasyonu

Sürfaktan moleküllerinin Mt kiline başarılı bir şekilde interkalasyon ve/veya eksfoliasyonunun belirlenebilmesi açısından modifikasyon öncesi ve sonrası yapısal özelliklerin incelenmesi önemlidir [107].

4.1.1 Organokillerin Partikül Boyut Analizi

Çalışmada elde edilen organokil örneklerine ait ortalama partikül boyutu sonuçları Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de verilmiştir. Modifiye edilmemiş Mt'nin ortalama partikül boyutu 644,5 nm olarak belirlenmiştir. Kil yapısına katyonik sürfaktan ilavesiyle bu değer başlangıçta 278,0 nm'ye düşmüş, sürfaktan içeriğinin artmasıyla birlikte ise 836,4 nm'ye yükselmiştir. Bu durum, CTAB moleküllerinin pozitif yüklü alkil zinciri uçlarının Mt'nin iç tabakalarına interkale olduğunu göstermektedir [21]. Non-iyonik Tween-80 sürfaktanının eklenmesi ile ortalama partikül boyutu ilk aşamda 196,6 nm'ye düşmüş, sürfaktan konsantrasyonunun artması ile 690,7 nm'ye yükselmiştir.

Literatürde Yang vd. [108], non-iyonik sürfaktan (Tween®20) içeren organokil emülsiyonlarının stabilitesini, emülsiyonun ortalama partikül çapındaki değişimleri inceleyerek değerlendirmiştir. Çalışmada, sürfaktan oranının arttırılmasıyla Tween®20 ile montmorillonit arasındaki sinerjik etkileşimin güçlendiği belirlenmiştir. Buna bağlı olarak Tween®20'nin, su–yağ arayüzeyinde emülsiyon damlacıkları arasında karşılıklı agregasyon, çarpışma ve birleşmeyi engelleyen bir bariyer oluşturduğu; bu mekanizma sonucunda emülsiyonun ortalama partikül çapının azaldığı rapor edilmiştir. Bununla birlikte, organokil yapısında sürfaktan oranının daha da artırılması, emülsiyonun ortalama partikül boyutunun farklı derecelerde artmasına neden olmuştur. Konsantrasyonun artışıyla birlikte sürfaktan moleküllerinin su–yağ arayüzeyinde daha fazla partikül adsorpsiyonunu kolaylaştırdığı, çift veya çok katmanlı yapılar oluştuğu ve bu yapıların emülsiyonun

ortalama partikül çapının büyümesine neden olduğu ifade edilmiştir. Benzer şekilde, bu tez çalışmasında da kil yapısına non-iyonik sürfaktan ilavesiyle partikül boyutunda azalma (<500 nm) gözlenmiş; ancak sürfaktan miktarının 4-Tween-oMt seviyesine çıkarılması ile emülsiyonun ortalama partikül çapı 690,7 nm'ye yükseldiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, non-iyonik sürfaktan içeren organokiller arasında 3-Tween-oMt seviyesinin, istatistiksel olarak daha küçük ortalama partikül boyutu (425,5 nm) sergilediği ortaya konmuştur.

Tablo 4.1 Katyonik sürfaktan ile modifiye edilen organokillerin ortalama partikül boyutu ve zeta potansiyel değerleri

Organokil	Ortalama Partikül Boyutu (nm)	Zeta potansiyel, ζ (mV)
Mt (Kontrol)	644,5±41,9^{c}	-27,0±0,6^{h}
1-CTAB-oMt	278,0±19,9^{h}	-20,9±0,7^{g}
2-CTAB-oMt	398,1±38,4^{ef}	-19,4±0,2^{f}
3-CTAB-oMt	417,9±35,7^{e}	-15,2±0,5^{e}
4-CTAB-oMt	343,9±1,5^{g}	11,9±0,2^{d}
5-CTAB-oMt	573,7±11,1^{d}	30,5±0,5^{c}
6-CTAB-oMt	361,3±33,8^{fg}	35,5±0,8^{b}
7-CTAB-oMt	766,6±28,1^{b}	37,8±1,6^{a}
8-CTAB-oMt	836,4±38,7^{a}	38,5±1,0^{a}

Mt: Sürfaktan içermeyen montmorillonit kili, CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan içeren organomodifiye montmorillonit. Organokil isimlendirmesinde artan sayılar, yapıdaki sürfaktan konsantrasyonunda kademeli olarak artışı göstermektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. $^{a-h}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.2 Non-iyonik sürfaktan ile modifiye edilen organokillerin ortalama partikül boyutu ve zeta potansiyel değerleri

Organokil	Ortalama Partikül Boyutu (nm)	Zeta potansiyel, ζ (mV)
Mt (Kontrol)	644,5±41,9^{a}	-27,0±0,6^{d}
1-Tween-oMt	196,6±16,1^{d}	-21,0±1,0^{a}
2-Tween-oMt	482,6±27,7^{b}	-22,9±0,3^{bc}
3-Tween-oMt	425,5±28,3^{c}	-23,5±0,5^{c}
4-Tween-oMt	690,7±55,8^{a}	-22,0±0,2^{ab}

Mt: Sürfaktan içermeyen montmorillonit kili, Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan içeren organomodifiye montmorillonit. Organokil isimlendirmesinde artan sayılar, yapıdaki sürfaktan konsantrasyonunda kademeli olarak artışı göstermektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. $^{a-d}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Mt kilinin delaminasyonu, ortalama partikül boyutunun azalması ve özgül yüzey alanının artması ile karakterize edilmektedir. Delaminasyon derecesi, kilin şişme

kapasitesinden etkilenmektedir [21]. Literatürde Mahmoodi vd. [21], katyonik sürfaktanların Mt üzerine adsorpsiyon davranışını incelemiş ve katyonik sürfaktan konsantrasyonu arttıkça Mt'nin partikül boyutunun arttığını rapor etmiştir. Bu durum, katyonik sürfaktanların pozitif yüklü alkil zinciri uçlarının Mt'nin iç tabaka bölgelerine interkale olmasıyla açıklanmıştır.

Kolloidal bir sistem çok sayıda değişken içerdiğinden, agregasyon süreçlerinin kontrol edilmesi güç olabilmektedir. Süspansiyon içerisindeki partiküllerin rastgele hareketi olarak tanımlanan Brownian hareketi, çözücü molekülleri ve diğer partiküllerle meydana gelen çarpışmalar sonucunda partiküllerin kararsız bir hareket sergilemesine neden olmaktadır. Bu düzensiz kinetik hareket, partiküllerin çarpışmalarını takiben agregasyona yol açarak oluşan agregat boyutlarının kontrol edilmesini zorlaştırmaktadır. Elektrostatik etkileşimler, kolloidal bir sistemde partiküller arasında çekici kuvvetlerin oluşmasına ve agregasyonun teşvik edilmesine neden olabilen bir diğer kritik faktördür. Bu etkileşimlerin kontrolü, özellikle elektrostatik kuvvetlerin partikül boyutu, partikül morfolojisi, tuz konsantrasyonu, karıştırma hızı ve pH gibi birçok faktörden etkilenebilen karmaşık sistemlerde zorlaşmaktadır. Ayrıca, kolloidal partiküller çözeltide van der Waals kuvvetleri aracılığıyla da etkileşime girmektedir [109]. Sürfaktan ilavesi durumunda, sürfaktan moleküllerinin kil tabakaları arasına adsorpsiyonu zeta potansiyel değerini değiştirebilmekte, tabakalar arasındaki elektrostatik itmenin artmasına ve dolayısıyla partikül boyutunun azalmasına neden olabilmektedir. Bu durum, hem van der Waals etkileşimlerini hem de elektrostatik itme kuvvetlerini etkilemektedir. Sürfaktan konsantrasyonunun artmaya devam etmesiyle birlikte, sürfaktan moleküllerinin adsorpsiyonu nihayetinde doygunluk noktasına ulaşmaktadır. Fazla sürfaktan, hidrofobik etkileşimlere neden olarak misel oluşumuna yol açabilmekte ve bu durum, zeta potansiyel değerinin pozitif/negatif kalmasına rağmen partikül boyutunun artmasına neden olabilmektedir [21], [109], [110].

Nanoemülsiyon sistemleri termodinamik olarak kararsız olup, genellikle 500 nm'nin altında partikül boyutları ile karakterize edilmektedir. Nanoemülsiyonlardaki partikül boyutu, ilave edilen sürfaktan miktarından önemli ölçüde etkilenmektedir [108]. Mt kilinde sürfaktan türü ve miktarının değerlendirilmesinde, karakterizasyon analizlerinin birlikte ele alınması önemlidir.

Ortalama partikül boyut analizi sonuçlarına göre, 6-CTAB-oMt (361,3 nm) ve 3-Tween-oMt (425,5 nm) seviyelerinin altında elde edilen organokil çözeltilerinde gözlenen delaminasyon ve şişme, uygulanan sürfaktanların sulu fazında düşük ortalama partikül boyutlarına (<500 nm) katkıda bulunmaktadır. Bu sürfaktan seviyelerine kadar, organokiller düşük ortalama partikül boyutları ile sulu kolloidal ortamda iyi süspansiyon stabilitesi ve yavaş aglomerasyon sergilemiştir [15], [108].

4.1.2 Organokillerin Zeta Potansiyel Değerleri

Çalışmadaki farklı konsantrasyonlarda CTAB ve Tween-80 sürfaktanları içeren organokillerin zeta potansiyel değerleri sırasıyla Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Nanopartiküllerin yüzey yükü, çözeltinin pH'sına bağlı olduğundan parçacığın içinde bulunduğu ortamın pH değeri ile zeta potansiyel değişmektedir [62]. Çalışmadaki çözeltilerin pH değerleri (7,71±0,13) benzer olup, nötr pH'ya yakındır.

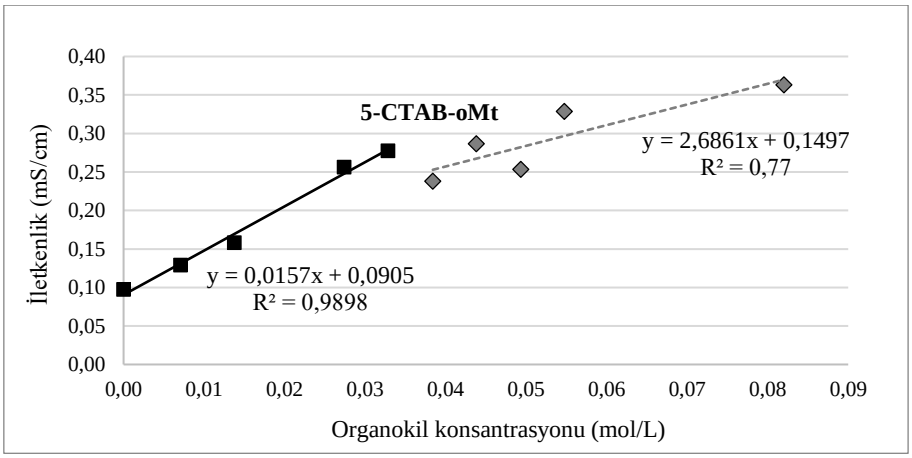
Mt levhalarının negatif yüzey yükleri nedeniyle, kontrolün (Mt) zeta potansiyel değeri negatif (-27,0 mV) elde edilmiştir. Yapıya katyonik CTAB sürfaktan ilavesi ile zeta potansiyel değeri başlangıçta azalarak sıfıra yaklaşmıştır. Bu durum, montmorillonit yüzeyindeki elektriksel yüklerin screening etkileri (perdeleme) tarafından açıklanmakta olup, CTA^+ iyonları ile montmorillonit yüzeyindeki negatif bölgeler arasındaki elektrostatik etkileşimler zeta potansiyel değerinde düşüşe neden olmuştur [73], [111]. Yapıdaki CTAB miktarının arttırılması ile zeta potansiyel pozitif değerlere yükselmiş ve +11,9 mV ile +38,5 mV aralığında aralığında ölçülmüştür.

Genel olarak stabil ve stabil olmayan süspansiyonu birbirinden ayırmada +30 mV veya -30 mV zeta potansiyel değeri ayırt edici sınır olarak kullanılmaktadır. +30 mV dan daha yüksek pozitif veya -30 mV dan daha düşük negatif zeta potansiyel değerlerine sahip partiküller stabil olarak kabul edilmektedir. Sıfıra daha yakın zeta potansiyel değerleri ise daha düşük stabiliteye işaret etmektedir [63], [109]. Buna göre, çalışmada katyonik sürfaktan içeriği 5-CTAB-oMt ve üzerindeki konsantrasyonlarda zeta potansiyel değerinin >30 mV olması, stabil süspansiyonların elde edildiğini ve organokillerdeki nanoparçacıkların kararlı bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

Non-iyonik Tween-80 sürfaktanının nanokile ilavesi sonucunda Mt'nin zeta potansiyel değeri -27,0 mV'dan -21,0 mV'a düşmüştür. Bu azalma, iyonik yapıda olmayan Tween-80'in daha az stabil bir yapıya neden olmuş olduğunu göstermektedir. Azalmış yüzey potansiyeli, kolloidal partiküller arasında daha zayıf bir itme ve daha yüksek bir agregasyon kinetiğini ifade edebilmektedir [15]. İncelenen konsantrasyonlar arasında 3-Tween-oMt seviyesi (−23,5 mV), −30 mV stabilite eşik değerine en yakın değer olarak en kararlı yapıda olduğu söylenebilir. Kontrol Mt solüsyonuna göre zeta potansiyel değerinde gözlenen azalma eğilimi, yağ/su arayüzeyinde iyonik türlerin yeniden konumlanmasından kaynaklanmaktadır [112]. Rolda-Cruz vd. [112] tarafından yapılan çalışmada, yağ/su arayüzeyindeki yük dağılımının özelliklerinin tam olarak net olmadığı belirtilmiştir. Yük oluşumu, su moleküllerindeki hidroksit (OH^-) ve hidrojen (H^+) iyonlarından kaynaklanan yüzeydeki dengesizlikten kaynaklanabilmektedir. Ayrıca, çözünmüş karbondioksit (CO_3^{-2} ve HCO_3^-) kaynaklı iyonlar da ek bir etkiye neden olabilmektedir. Non-iyonik sürfaktan moleküllerinin adsorpsiyonu, iyonik türlerin arayüzeyde yeniden konumlanmasına yol açarak yükü baskılamakta ve dolayısıyla zeta potansiyel değerinin azalmasına neden olabilmektedir.

4.1.3 Organokil Solüsyonlarının Elektriksel İletkenliği

Organokil yapısında kullanılan katyonik CTAB sürfaktanının kritik misel konsantrasyonunun (CMC) belirlenmesi amacıyla sulu çözeltileri hazırlanmış ve elektriksel iletkenlik değerleri ölçülmüştür (Şekil 4.1). İletkenlik, çözeltideki iyon konsantrasyonu ile doğrudan ilişkili olup, misel oluşumunun başladığı noktada iletkenlik–konsantrasyon grafiğinde bir kırılma meydana gelmekte; bu kırılma noktası sürfaktanın CMC değerini vermektedir [113]. Sürfaktanlar çözücü içerisinde düşük konsantrasyonlarda bulunduklarında, sürfaktan molekülleri monomerler halinde çözeltide dağılmış olarak bulunur. Konsantrasyon CMC değerine ulaştığında ise moleküller misel oluşturarak agregasyon göstermeye başlar [20]. Kilin yapısında kullanılacak iyonik yüzey aktif maddenin konsantrasyon aralığı, adsorpsiyonun maksimuma ulaştığı CMC değerinin altında veya CMC'ye yakın seviyeler esas alınarak belirlenmektedir [22].



Şekil 4.1 Katyonik sürfaktan içeren organokil (CTAB-oMt) solüsyonlarının konsantrasyon ve iletkenlik grafiği

Seyreltilmiş iyonik sürfaktan solüsyonlarında iletkenlik, konsantrasyona bağlı olarak lineer bir şekilde artar. CMC noktasına ulaşıldığında, çözeltideki monomer ve misel oranları değişir; misellerin iletkenliği monomerlerden daha düşük olduğundan grafikte eğim değişir ve kırılma noktası belirginleşir. Yüksek sürfaktan konsantrasyonlarında solüsyondaki partiküllerin (yük ve boyutta değişimler ve misellerin oluşumu) karşılıklı etkileşimleri iyonik mobiliteyi azaltır. Bu nedenle sürfaktan konsantrasyonundaki artış ile iletkenlik lineer bir artış göstermez [114]. Buna göre, 5-CTAB-oMt seviyesinde kil solüsyonunun iletkenliği düşmüş ve iletkenlik-konsantrasyon grafiği lineerlikten sapmış; bu nokta kritik misel konsantrasyonu (CMC) olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.3 Non-iyonik Tween-80 sürfaktan içeren organokil solüsyonlarının konsantrasyon ve iletkenlik değerleri

Organokil	Sürfaktan Konsantrasyonu (mol/L)	İletkenlik (mS/cm)
Mt (Kör)	0,000	$0,0975\pm0,0002^{b}$
1-Tween-oMt	0,002	$0,0954\pm0,0006^{c}$
2-Tween-oMt	0,004	$0,1040\pm0,0000^{a}$
3-Tween-oMt	0,008	$0,1033\pm0,0006^{a}$
4-Tween-oMt	0,015	$0,1033\pm0,0006^{a}$

Mt: Sürfaktan içermeyen kil, Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan içeren organokil. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. $^{a-c}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

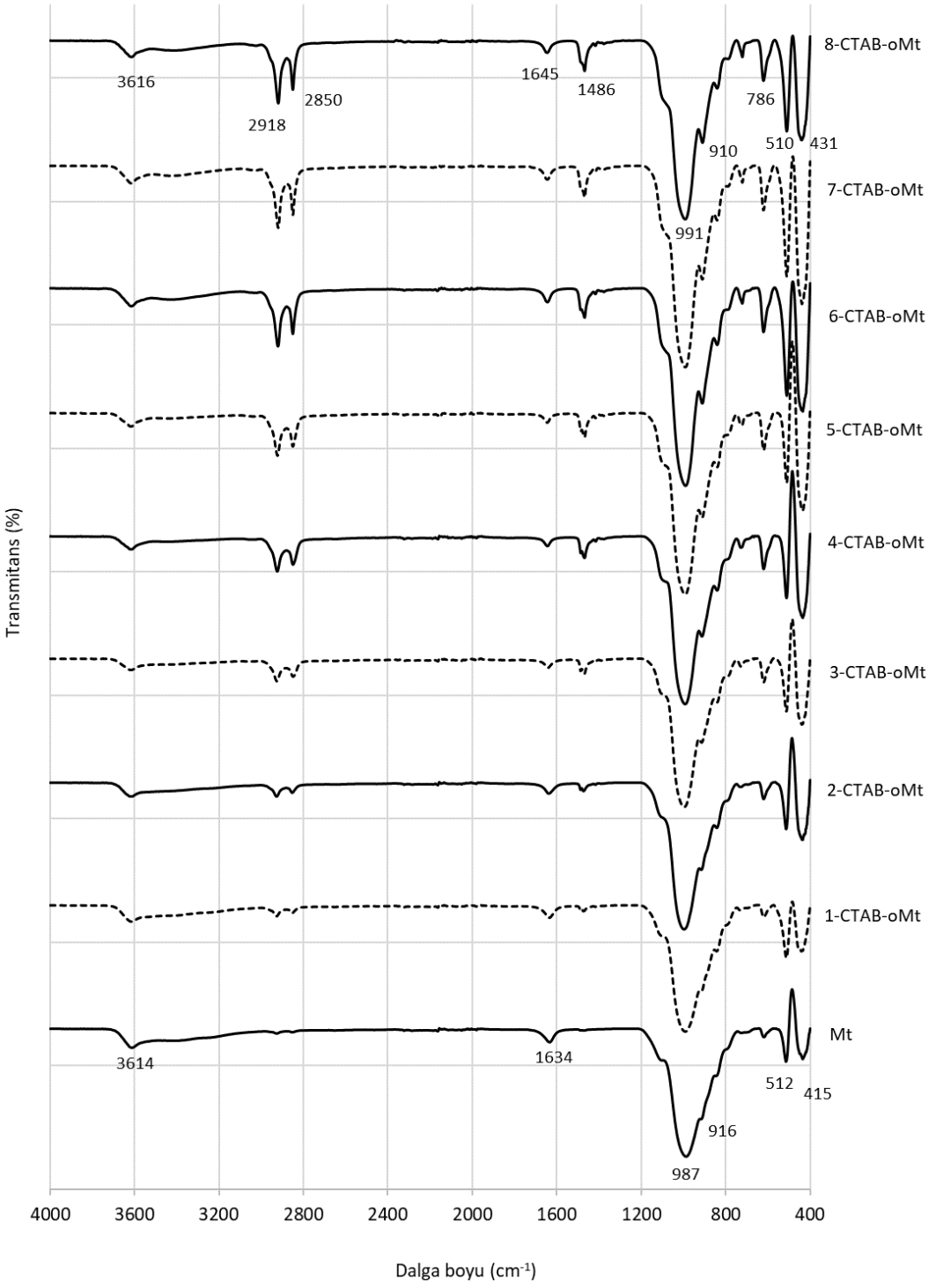
Belirtildiği üzere iletkenlik, solüsyondaki iyon konsantrasyonu ile doğrudan ilişkili olduğundan nötral hidrofilik kafaya (head) sahip olan non-iyonik Tween-80

sürfaktanı için sürfaktan konsantrasyonunun artışı ile Tablo 4.3'te görüldüğü gibi elektriksel iletkenlik değerlerinde düzgün bir artış elde edilememiştir.

4.1.4 Organokilerin Yapısal Özellikleri

Nanokilde sürfaktanların fonksiyonel grupların varlığının incelenmesinde FT-IR yararlı bir tekniktir [24]. Katyonik ve non-iyonik sürfaktanlarla modifiye edilmiş organokil örneklerine ait FT-IR spektrumları sırasıyla Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te verilmiştir. Tablo 4.4 ve Tablo 4.5'te önemli IR titreşim frekanslar ilgili modlara göre özetlenmiştir. Sürfaktan içermeyen Mt kiline ($H_2Al_2O_6Si$) ait spektrumda oktahedral yapıya ait Al–OH–Al grubunun stretching titreşimi 3614 cm^{-1} ve bending titreşim piki 916 cm^{-1}'de görülmüştür. Kil tabakaları arasındaki su moleküllerinin (H–O–H) bending titreşimi 1634 cm^{-1}'de bulunmaktadır. Ayrıca, Si–O–Si stretching titreşimi 987 cm^{-1}, Si–O–Si bending titreşimi 415 cm^{-1} ve Si–O–Al bending titreşimi 512 cm^{-1}'de tespit edilmiştir [115].

Organomodifikasyon işlemi ile yapıya eklenen uzun zincirli katyonik sürfaktan ile Tablo 4.4'te asimetrik CH_2 stretching, simetrik CH_2 stretching ve CH_2 bending titreşim piklerinde gözlenen değişimlerle kil ara tabakalarına sürfaktanın alkil gruplarının yerleştiğini görülmektedir [70], [115]. Buna göre asimetrik CH_2 stretching titreşimine ait pikler 2927-2918 cm^{-1} aralığında, simetrik CH_2 stretching titreşimine ait pikler 2855-2849 cm^{-1} aralığında elde edilmiştir. CH_2 bending titreşim pikleri ise CH_2 scissoring 1488-1486 cm^{-1} ve CH_2 rocking 792-787 cm^{-1} frekans aralığında elde edilmiştir. Sürfaktan konsantrasyonunun artışı ile belirtilen pik alanlarının yoğunluğu artmıştır. Asimetrik ve simetrik CH_2 stretching titreşim piklerinin sürfaktan içermeyen Mt'ye ait IR spektrumunda bulunmaması, CTAB sürfaktanının kil ara tabakalarına adsorpsiyonunu göstermektedir. Yapıdaki sürfaktan miktarının arttırılması ile pik alan yoğunluğunun artması montmorillonit yapısındaki interkalasyonu belirtmektedir. Ortama katyonik sürfaktan ilavesi ile öncelikle MMT yapısındaki yer değiştirilebilir Na^+ katyonu ile lineer bir katyonik değişim gerçekleşmiştir. CTAB sürfaktan miktarı arttırılınca MMT dış yüzeyine adsorbe olmuş ve lateral zincir-zincir sürfaktan etkileşimleri sonucunda tabakalar arası boşlukta adsorbsiyon gerçekleşmiştir [73].



Şekil 4.2 Farklı miktarlarda katyonik sürfaktan (CTAB) ile modifiye edilmiş organokillerin FT-IR spektrumları

Mt: Sürfaktan içermeyen montmorillonit kili (kontrol), CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan içeren organomodifiye montmorillonit. Organokil isimlendirmesinde artan sayılar, yapıda daha yüksek sürfaktan konsantrasyonuna karşılık gelmektedir.

Tablo 4.4 Farklı miktarlarda katyonik sürfaktan içeren organokillerin FT-IR analizi ile belirlenen fonksiyonel grup ve frekans değerleri

Mod	Frekans (cm^{-1})								
	Mt	**1-CTAB-oMt**	**2-CTAB-oMt**	**3-CTAB-oMt**	**4-CTAB-oMt**	**5-CTAB-oMt**	**6-CTAB-oMt**	**7-CTAB-oMt**	**8-CTAB-oMt**
Al–OH–Al stretching	3614	3612	3615	3615	3616	3616	3614	3614	3616
Asimetrik CH_2 stretching	-	2927	2927	2925	2924	2923	2921	2919	2918
Simetrik CH_2 stretching	-	2855	2854	2849	2850	2850	2850	2850	2850
H–O–H bending	1634	1636	1638	1641	1645	1645	1644	1645	1645
CH_2 scissoring	-	1488	1488	1487	1487	1487	1487	1487	1486
Si–O–Si stretching	987	989	996	996	992	992	991	991	991
Al–OH–Al bending	912	914	915	914	913	912	911	910	910
CH_2 rocking	-	789	792	789	790	788	787	787	786
Si–O–Al bending	512	511	512	511	511	510	510	510	510
Si–O–Si bending	415	419	423	423	423	423	420	423	431

Mt: Sürfaktan içermeyen montmorillonit kili, CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan içeren organomodifiye montmorillonit. Organokil isimlendirmesinde artan sayılar, yapıda daha yüksek sürfaktan konsantrasyonuna karşılık gelmektedir.

Yapıya ilave edilen sürfaktanın hidrofobik özelliklerin değerlendirilmesinde, CH_2 titreşimsel enerjisinin kullanılabileceği Kung & Hayes [116] tarafından belirtilmiştir. Bu çalışmaya göre daha düşük enerjiye (dalga boyuna) sahip titreşimler, daha hidrofobik bir ortamı yansıtmaktadır. Mevcut çalışmadan elde edilen sonuçlar incelendiğinde, hidrofobik özelliklerin derecesi sürfaktan miktarının arttırılması ile arttığı görülmektedir. Tablo 4.3 incelendiğinde MMT yapısında adsorbe olan katyonik sürfaktan konsantrasyonunun artışı ile asimetrik CH_2 stretching, simetrik CH_2 stretching ve CH_2 bending (CH_2 scissoring ve CH_2 rocking) titreşim piklerinin dalga boyları düşmektedir. Kısmen yüksek sürfaktan miktarlarında, hidrasyon katyonlarının çoğu sürfaktan katyonları ile çevrelenmekte ve bu durum adsorbe edilecek su miktarını azaltmakta ve yüzey özellikleri hidrofilik durumdan hidrofobik hale değişmektedir. Ancak bu durumda su moleküllerinin ara tabaka boşluğuna girmesini zorlaştırarak galeri yüksekliğinin artmasına engel olabilmektedir [73].

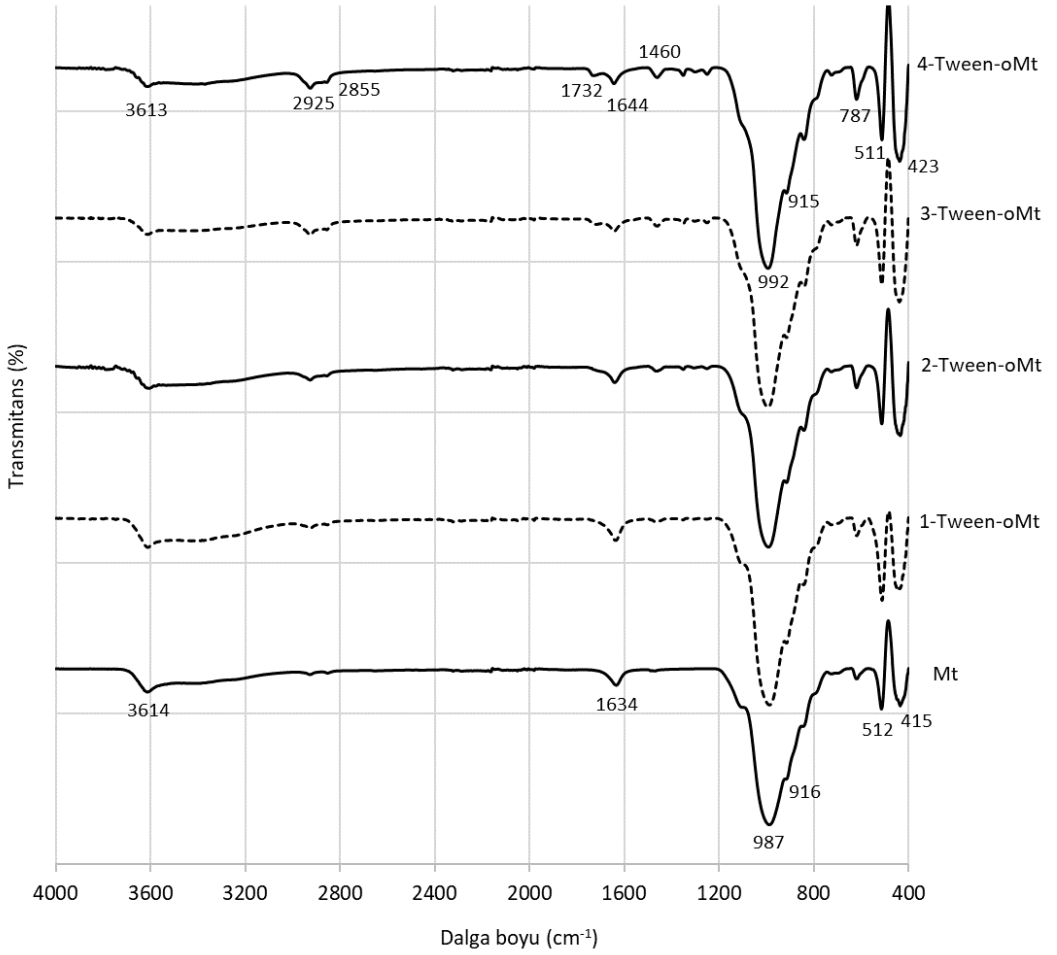
Tablo 4.5 Farklı miktarlarda non-iyonik sürfaktan organokillerin FT-IR analizi ile belirlenen fonksiyonel grup ve frekans değerleri

Mod	**Dalgaboyu (cm^{-1})**				
	Mt	**1-Tween-oMt**	**2-Tween-oMt**	**3-Tween-oMt**	**4-Tween-oMt**
Al–OH–Al stretching	3614	3612	3612	3614	3613
Asimetrik CH_2 stretching	-	2930	2926	2926	2925
Simetrik CH_2 stretching	-	2852	2855	2855	2855
C=O stretching	-	-	-	1725	1732
H–O–H bending	1634	1637	1640	1643	1644
CH_2 scissoring	-	-	1463	1460	1460
Si–O–Si stretching	987	987	991	992	992
Al–OH–Al bending	916	915	915	914	915
CH_2 rocking	-	-	791	788	787
Si–O–Al bending	512	511	512	511	511
Si–O–Si bending	415	411	419	424	423

Mt: Sürfaktan içermeyen montmorillonit kili, Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan içeren organomodifiye montmorillonit. Organokil isimlendirmesinde artan sayılar, yapıda daha yüksek sürfaktan konsantrasyonuna karşılık gelmektedir.

CTAB sürfaktanı montmorillonit arayüzey boşluklarına interkale olduğunda, tetrahedral yapıdaki Si–O–Si stretching ve bending titreşimleri değişmektedir.

Sürfaktan içermeyen MMT için 987 cm^{-1}'de görülen Si–O–Si stretching titreşimi, CTAB ilavesi ile 996 cm^{-1}'e kadar artmakta, sonrasında sürfaktan artışı ile 991 cm^{-1}'e düşmektedir. Si–O–Si bending titreşimi ise sürfaktan içermeyen Mt'de 415 cm^{-1}'de görülürken, sürfaktan ilavesi ile 431 cm^{-1}'e kadar artmaktadır. Buna göre Si–O–Si stretching bandındaki değişim, sürfaktan molekülleri ile kildeki siloxane (Si–O) yüzeyi arasındaki etkileşimi göstermektedir. Si–O titreşim bandındaki değişim, sürfaktan ve kilin silikat yüzeyinde etkileşimin/bağın arttığını göstermektedir [72].



Şekil 4.3 Farklı miktarlarda non-iyonik sürfaktan (Tween-80) ile modifiye edilmiş organokillerin FT-IR spektrumları

Mt: Sürfaktan içermeyen montmorillonit kili (kontrol), Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan içeren organomodifiye montmorillonit. Organokil isimlendirmesinde artan sayılar, yapıda daha yüksek sürfaktan konsantrasyonuna karşılık gelmektedir.

Kil yapısına non-iyonik Tween-80 sürfaktan ilavesi ile spektrumlarda gözlemlenen asimetrik CH_2 stretching, simetrik CH_2 stretching ve CH_2 bending titreşim pikleri, Mt ara tabakalarına sürfaktanın alkil gruplarının yerleştiğini göstermektedir [70], [115]. Buna göre asimetrik CH_2 stretching titreşimi 2930-2925 cm^{-1} aralığında,

simetrik CH_2 stretching titreşimi 2855-2852 cm^{-1} aralığında elde edilmiştir (Tablo 4.5). CH_2 bending titreşim piki 1-Tween-oMt organokilinde görülmemiştir. Tween-80 konsantrasyonunun arttırılması ile CH_2 scissoring 1463-1460 cm^{-1} ve CH_2 rocking 791-787 cm^{-1}'de görülmektedir.

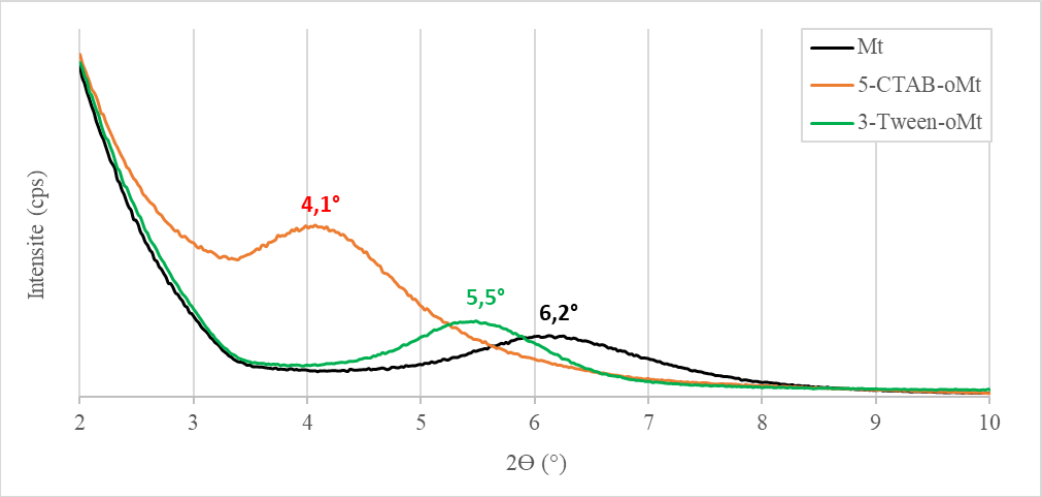
Tween-80 molekülü, yapısında hidrofobik zincire ek olarak oksijen içeren fonksiyonel gruplara içermektedir. Yapıdaki ester grubuna ait C=O stretching titreşim pikinin 1735-1725 cm^{-1} aralığında görülmesi beklenmiştir [117]. Mevcut çalışmada, 1-Tween-oMt ve 2-Tween-oMt spektrumlarında C=O titreşim bandı görülmezken, sürfaktan konsantrasyonunun arttırılması ile 3-Tween-oMt ve 4-Tween-oMt spektrumlarında sırasıyla 1725 cm^{-1} ve 1732 cm^{-1}'de görülmüştür. 1-Tween-oMt ve 2-Tween-oMt'de C=O bağına ait pikin görülmemesi, bu sürfaktan seviyelerinde Tween-80'nin kil yüzeyine tam olarak adsorbe olmadığını göstermektedir. Sulu solüsyonda non-iyonik yapıdaki Tween-80'nin iyonize olmaması, sürfaktanın kil yüzeyine adsorbsiyonunu sınırlamış olabilir [118].

4.1.5 Organokillerin XRD Analizi

Gerçekleştirilen partikül boyut dağılımı, zeta potansiyel, elektriksel iletkenlik ve yapı tayini karakterizasyon analizlerine göre en iyi özellikleri gösteren katyonik sürfaktan içeren 5-CTAB-oMt ve non-iyonik sürfaktan içeren 3-Tween-oMt organokilleri ile kontrol olarak Mt nanokil örneğine XRD analizleri uygulanmış ve silikat tabakalardaki galeri boşlukları Bragg eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır. İncelenen kil örneklerinin XRD desenleri Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Kör Mt'in difraksiyon piki (2θ) 6,2° iken, organomodifikasyon işlemi ile 5-CTAB-oMt için difraksiyon piki 4,1°, 3-Tween-oMt için 5,5° değerine kaymıştır. Bragg eşitliğine göre kör Mt kili ile 5-CTAB-oMt ve 3-Tween-oMt organokilleri için tabaka boşlukları (d-spacing, basal spacing) değerleri sırasıyla 1,43 nm, 2,15 nm ve 1,61 nm olarak hesaplanmıştır.

Literatür incelendiğinde, bu çalışmada elde edilen XRD sonuçlarının daha önce bildirilen değerlerle uyumlu olduğu görülmüştür. Buna göre, kör Mt'nin basal boşluğu için elde edilen değer (1,43 nm), oda sıcaklığı koşullarında tipik smektit killeri için beklenen değerler (1,2-1,6 nm) arasında yer almaktadır [70]. Piklerin 2θ değerinde düşüş ve d-spacing değerinde artış, kil tabakaları arasında boşluğun arttığını ve tabakalı silikat yapının içerisine sürfaktanların difüzyonunu

göstermektedir [119]. Elde edilen sonuçlar ilgili sürfaktan seviyelerinde organomodifikasyon işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini ve Mt nanokilinin tabaka boşluklarının genişlediğini göstermektedir. Bai vd. [120] yaptıkları çalışmada saf MMT kili (Na-MMT) için 2θ değerini 7,1° elde ederken, CTAB sürfaktanı ile organomodifikasyon işlemi sonucunda elde ettikleri organokilde difraksiyon piki 4,1° değerine kaymıştır. Bragg eşitliğine göre hesaplamada tabaka genişlikleri Na-MMT için 1,24 nm, organokil için 2,15 nm olarak bulunmuştur.

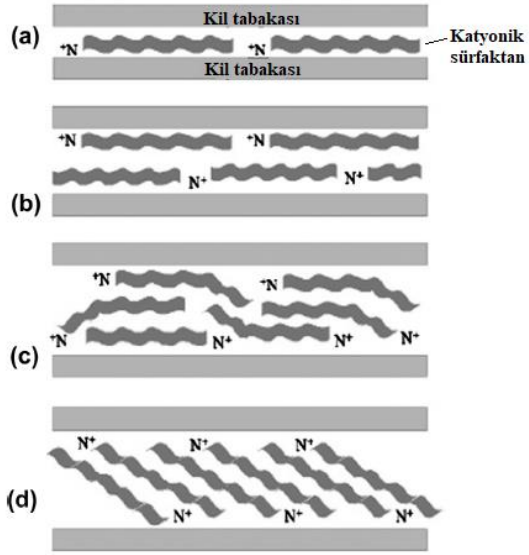


Şekil 4.4 Kontrol nanokilinin (Mt), katyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokilin (5-CTAB-oMt) ve non-iyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokilin (3-Tween-oMt) XRD desenleri

Yüzeyi negatif yüklü olan tabakalı yapıdaki (tetrahedral-oktahedral-tetrahedral) montmorillonit kili, ara katman boşluğuna inorganik değişebilir katyonların girmesi sonucu yüzey yükünde değişiklikler gösterebilmektedir. Montmorillonit kili, çeşitli organik sürfaktanlar ile iyon-dipol etkileşimi, hidrojen bağları, asit-baz reaksiyonları, yük transferi, elektrostatik etkileşim ve van der Waals kuvvetleri gibi farklı mekanizmalar aracılığıyla etkileşime girebilmektedir. Bu etkileşimler sonucunda sürfaktan, Mt kiline adsorbe olmakta ve organik katyonlar kil tabakalarında interkalasyon etkisi göstermektedir [22].

Şekil 4.5'te şematik olarak gösterildiği üzere, yapıdaki katyonik sürfaktan miktarına bağlı olarak alkil amonyum iyonları kil tabakaları arasında farklı konfigürasyonlar oluşturmaktadır [119]. Karaca vd. [73] çalışmalarında montmorillonit kiline farklı oranlarda CTAB sürfaktanı ekleyerek elde ettikleri organokillerin zeta potansiyel değerlerini incelemiştir. Saf Mt'nin negatif zeta

potansiyel değerinin CTAB ilavesi ile pozitif değerlere yükselmesi ve bu değerin artışı, kil tabakalarının basal boşluğundaki CTA^+ iyonlarının yatay konumdan (tek veya çift tabaka) dikey konuma (pseudo üçlü veya paraffin-tipi tabaka) doğru değişimi ile açıklamaktadır. Bahsedilen konfigürasyon modellerine göre, bu çalışmada katyonik CTAB sürfaktan içeren organokilin 5-CTAB-oMt örneğine ait zeta potansiyel analizinde +30,5 mV değeri belirlenmiştir. Bu değer için XRD analiz sonuçlarına göre hesaplanan d-spacing değeri (2,15 nm = 21,5 Å), pseudo üçlü tabakaya ait basal boşluk değerine (< 22 Å) denk gelmektedir. Bu bulgular, 5-CTAB-oMt organokilinde kil tabakaları arasına katyonik sürfaktanın interkale olarak pseudo üçlü tabaka yapısını oluşturduğunu göstermektedir.

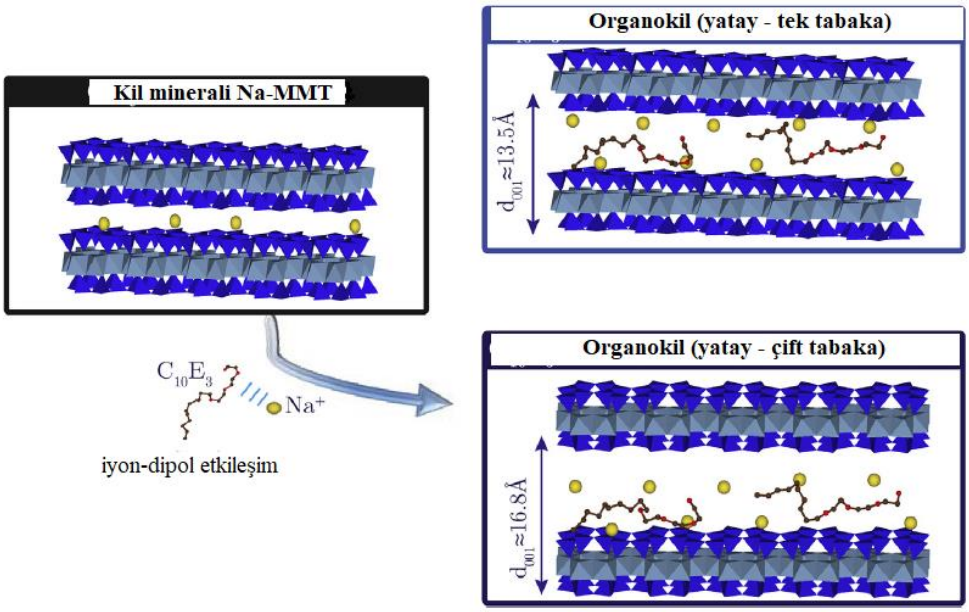


Şekil 4.5 Kil tabakaları arasındaki katyonlarının potansiyel konfigürasyonları

(a) tek tabaka - basal boşluk 13,7 Å, (b) iki tabaka - basal boşluk 17,7 Å, (c) pseudo üçlü tabaka - basal boşluk 21,7 Å, (d) paraffin-tipi tabaka - basal boşluk > 22 Å [119]

Hidrofilik kil mineraline Tween-80 gibi amfifilik yapıların adsorpsiyonu, CTAB gibi katyonik sürfaktanların sergilediği elektrostatik etkileşimler veya iyon değişiminden farklıdır. Kil minerali ile polietilen glikol (PEG), polioksietilen alkil eter (C_nE_m) gibi non-iyonik bileşen arasındaki adsropsiyon için ana kuvvet, iyon-dipol etkileşimi ve hidrojen bağlarıdır [22]. Finocchio vd. [121] yaptıkları çalışmada infrared spektroskopisi kullanarak organokillerde CH stretching ve bending modlarının yanı sıra OH stretching ait dalga boylarının belirlenmesi, kil yüzeyine non-iyonik PEG sürfaktanının adsorpsiyonunda hidrojen bağları ile su moleküllerinin hidratasyonu sırasında katyonların olası yer değiştirmelerinde

önemli olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada da gerçekleştirilen yapı tayini analizinde Tween-80 yapısındaki ester grubuna ait C=O stretching titreşim piki 3-Tween-oMt organokili için elde edilmiştir.



Şekil 4.6 Non-iyonik sürfaktan (glycol mono-n-decyl ether, $C_{10}E_3$) ile montmorillonit organomodifikasyonu sonucu oluşan tek ve çift tabaka konfigürasyonlarının şematik gösterimi [22]

Ara katmandaki hidrojen bağlarının azlığında ve pozitif yüklerin yokluğunda, iyon-dipol etkileşimleri (Şekil 4.6) non-iyonik yapının adsorpsiyonunu kontrol etmekte ve böylece kil minerali üzerine adsorpsiyondan sonra kilin yapısındaki yer değiştirebilir inorganik katyonların korunmasını sağlayarak organokilin hem hidrofilik hem hidrofobik davranış sergilemesini sağlamaktadır. Genel olarak non-iyonik sürfaktanların kil yüzeyine adsorpsiyon mekanizmasında, yatay-tek tabaka veya yatay-çift tabaka yapılar elde edilmekte ve ara katman boşluğu 1,2-1,8 nm (12-18 Å) arasında sınırlı değerlere ulaşabilmektedir [22]. Mevcut çalışmada non-iyonik sürfaktanın kullanıldığı 3-Tween-oMt organokili için elde edilen d-spacing değeri (1,61 nm) literatür ile uyumlu olup, yatay-çift tabaka yapısının elde edildiğini göstermektedir.

4.1.6 Organokillerin Sitotoksik Özellikleri

Avrupa Birliği mevzuatında, yeni teknolojilerle beraber elde edilen nanopartiküllerin farklı toksikolojik özelliklere yol açabileceği ve bu nedenle bu tür maddelerin Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority,

EFSA) tarafından vaka bazında dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerektiği belirtilmektedir. Risk değerlendirmesi, gıda ile temas eden madde veya malzemenin kullanılması öngörülen en zorlu koşullarda potansiyel migrasyon ve toksisitesini içermelidir. Bu kapsamda mutajenik, kanserojen veya üreme üzerinde toksik etkiye sahip olabilecek maddelerin onaylanabilmesi için toksikolojik testlerin gerçekleştirilmesi gerektiği ifade edilmektedir [40]. AB mevzuatıyla paralel olarak, Türkiye tarafından hazırlanan gıda ile temas eden madde ve malzemelere ilişkin mevzuatlarda da değerlendirme sürecine ait genel kurallar belirlenmiştir. Özellikle gıda ile temas eden plastik madde ve malzemelerin üretiminde kullanılmasına izin verilen maddeler liste halinde belirtilmiş olup, bu liste bilimsel çalışmaların sonuçlarına dayanılarak belirli aralıklarla revize edilmektedir [41]. Bu nedenle, gıda ambalajında kullanılmak üzere tasarlanmış kil minerallerinin ambalaj yapısına katılacağı durumda, toksikolojik olarak sitotoksik ve/veya genotoksik değerlendirilmesi son derece önemlidir.

Montmorillonit gibi kil içeren nanokompozitlerin ambalajlandığı gıdalara olası migrasyonundan dolayı, insanların kolayca temas edebileceği göz önüne alındığında, kil maruziyetinin toksikolojik ve sağlık üzerindeki etkilerinin araştırılması önem taşımaktadır [122]. Montmorillonit, farmasötik ürünlerde yardımcı madde veya aktif bileşen olarak kullanılabilmektedir. Ayrıca, Mt kili ilaçların oral yolla taşınmasında nanotaşıyıcı olarak da kullanılmakta olup, bu durum ilacın biyoyararlanımını artırmakta ve yan etkilerini azaltabilmektedir [123]. Matriks içinde dağılmış nanokil tabakaları ilaç moleküllerini çevreleyerek difüzyonu yavaşlatmakta ve ilacın çözünme davranışını değiştirmektedir [124]. Bunlara ek olarak, görüntüleme ajanı ve/veya kemoterapi ilacı ile yüklenmiş Mt, tümörü besleyen damarın tıkanması ve tümörün lokal kemoterapisinde de kullanılabilmektedir [123]. Bu nedenle çalışmada hem kanser hücresi (HT-29) hem de sağlıklı hücre (L-929) hatları ile sitotoksisite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Modifiye edilmemiş ticari Mt kili ile modifiye edilmiş iki organokilin (5-CTAB-oMt ve 3-Tween-oMt) ve organomodifikasyon işleminde kullanılan sürfaktanların (CTAB ve Tween-80) sitotoksik etkileri incelenmiştir.

EC_{50} (effective concentration) değeri, kontrol örneği ile karşılaştırıldığında %50 değişim oluşturan etkili konsantrasyonu ifade eden toksikolojik bir parametredir [74]. Bu çalışmada, konsantrasyon-hücre canlılığı grafiğinde hücresel aktivitenin

maksimum seviyenin %50'sine düştüğü noktayı göstermektedir. Sitotoksisite analizlerinde EC_{50} doğrudan hücre ölümünü ölçmez; bunun yerine hücresel aktivitedeki azalmayı yansıtır. Bu azalma, hücre ölümünden önce ortaya çıkabileceği gibi hücre ölümüyle de ilişkili olabilmektedir [125].

4.1.6.1 Organokillerin Kanser Hücresine (HT-29) Sitotoksik Etkisi

Çalışmada HT-29 kolon kanser hücresine ait elde edilen sitotoksisite sonuçları Tablo 4.6 ve Şekil 4.7'de verilmiştir.

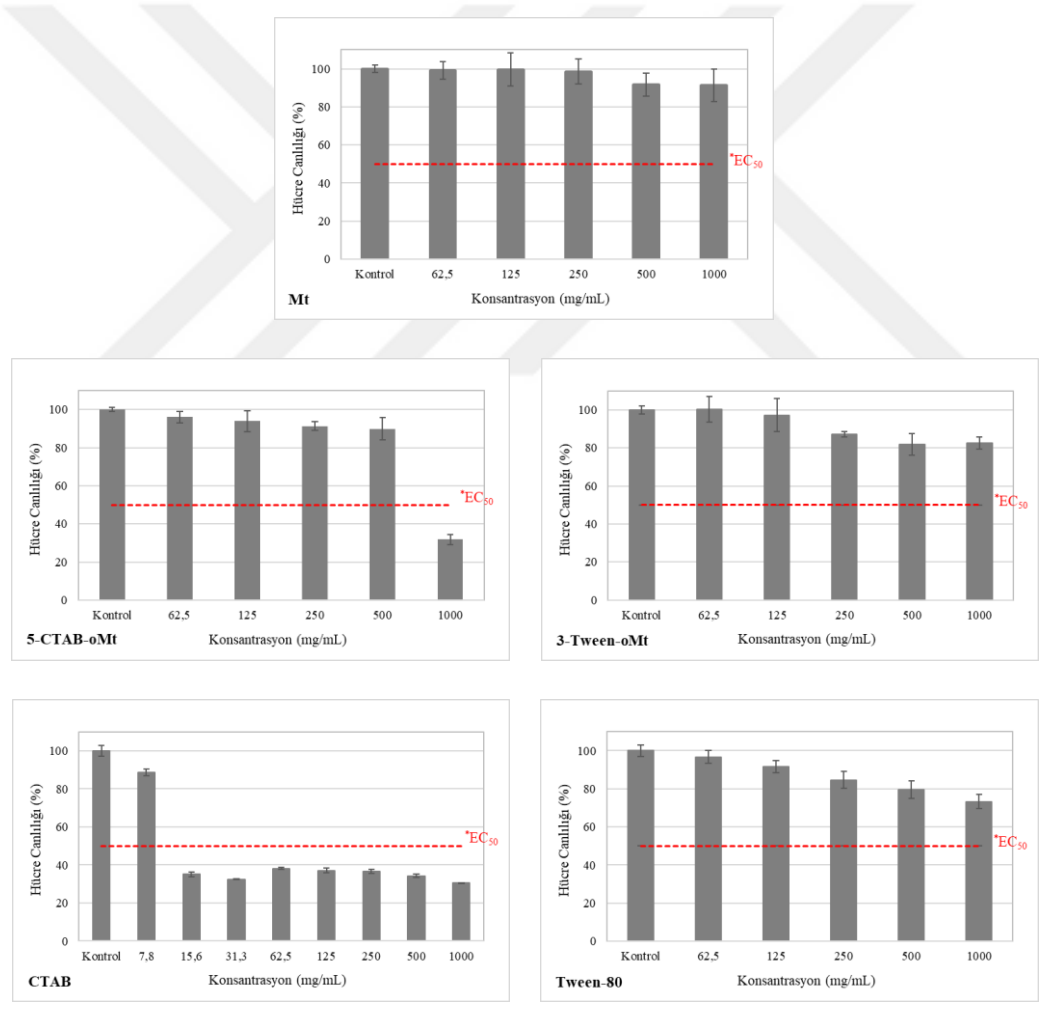
Tablo 4.6 Farklı konsantrasyonda örneklerin HT-29 hücrelerinin hücre canlılığına etkisi (%)

Konsantrasyon	Mt	5-CTAB-oMt	3-Tween-oMt	CTAB	Tween-80
Kontrol	100,0±2,0^{a}	100,0±1,0^{a}	100,0±2,0^{a}	100,0±2,9^{a}	100,0±2,9^{a}
62,5 ppm	99,1±4,5^{a}	96,0±3,1^{ab}	100,3±6,7^{a}	38,2±0,5^{b}	96,8±3,3^{ab}
125 ppm	99,6±8,8^{a}	93,9±5,4^{bc}	97,2±8,7^{a}	37,1±1,2^{b}	91,5±3,2^{b}
250 ppm	98,6±6,7^{a}	91,4±2,3^{bc}	87,2±1,4^{b}	36,5±1,1^{bc}	84,6±4,4^{c}
500 ppm	91,6±6,0^{a}	89,9±6,0^{c}	81,9±5,7^{b}	32,3±1,0^{c}	79,5±4,6^{c}
1000 ppm	91,2±8,6^{a}	31,8±2,7^{d}	82,6±3,2^{b}	30,4±0,1^{d}	73,3±3,8^{d}

Mt: Modifidiye edilmemiş kil, 5-CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokil, 3-Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokil, CTAB: Katyonik sürfaktan, Tween-80: Non-iyonik sürfaktan. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-d}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Mt kilinin incelenen tüm konsantrasyonlarının istatistiksel olarak kontrol örneğine benzer şekilde sitotoksisite göstermediği ($p<0,05$) belirlenmiştir. **Katyonik sürfaktan içeren organokilin (5-CTAB-oMt)** sadece en düşük konsantrasyonu (62,5 ppm) kontrol örneği ile istatistiksel olarak benzerdir ($p>0,05$). Konsantrasyon artışı ile hücre canlılığı sonuçları azalmış ve en yüksek konsantrasyon seviyesinde (1000 ppm) en düşük hücre canlılığı değeri (%31,8) elde edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda 5-CTAB-oMt organokili ile 48 saat muamele edilen hücrelerin mikroskobik görüntüleri 20x büyütmede Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Mikroskobik görüntülerden organokilin, HT-29 kanser hücreleri üzerinde konsantrasyon artışı (>62,5 ppm) ile etki gösterdiği görülmüştür. **5-CTAB-oMt** organokili için HT-29 kolon kanseri hücre hattına en yüksek konsantrasyonda (1000 ppm) antiproliferatif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu etki, yapıda kullanılan katyonik sürfaktan ile ilişkilidir. **CTAB sürfaktanı**nın incelenen tüm konsantrasyonları kontrol örneğinden farklı sonuçlar göstererek sitotoksik etki gözlenmiş ve hücre canlılığı

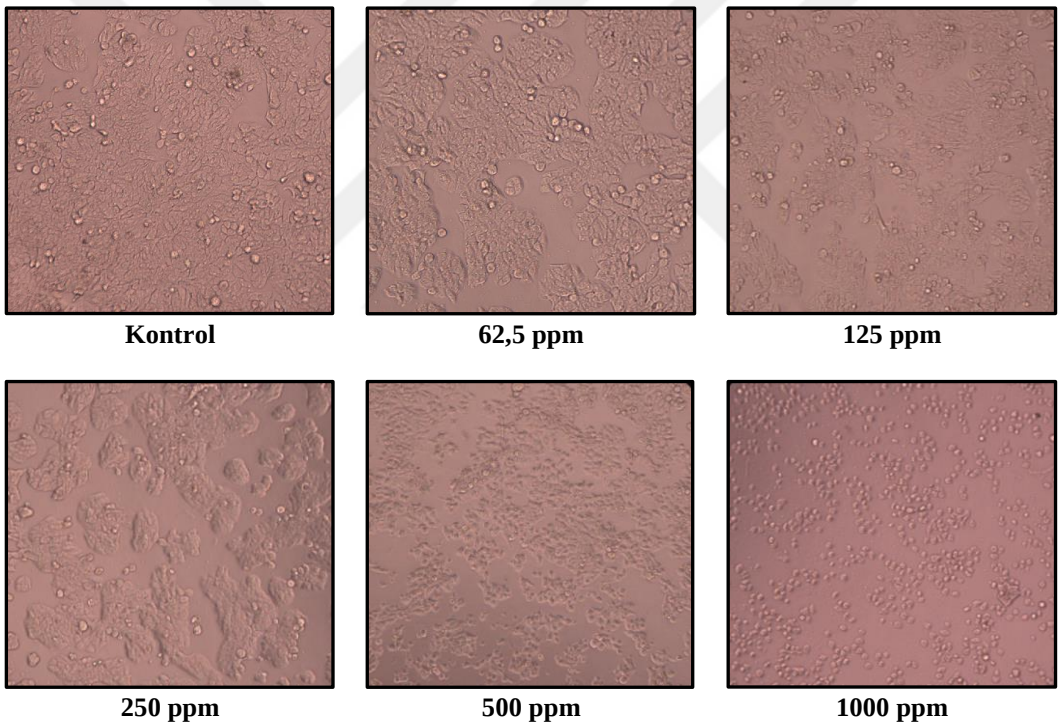
sonuçları EC_{50} seviyesinin altında elde edilmiştir. Bu nedenle 62,5 ppm altındaki daha düşük konsantrasyon seviyelerinde (7,8-15,6-31,3 ppm) hücre canlılığı incelenmiştir (Şekil 4.7d). Bu seviyeler arasında sadece 7,8 ppm konsantrasyonu için EC_{50} üzerinde (%88,7) hücre canlılığı elde edilmiştir. **Non-iyonik sürfaktanın katıldığı organokil (3-Tween-oMt)** için kontrol örneği ile düşük konsantrasyonlar (62,5 ppm ve 125 ppm) arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Daha yüksek konsantrasyon seviyelerinde (250-1000 ppm) ise kontrolden farklı olarak sonuçların benzer olduğu (%87,2-%81,9) belirlenmiştir. **Tween-80 sürfaktanı**nda 125 ppm ve üzerindeki konsantrasyonlardaki hücre canlılığı kontrol örneğinden farklı çıkmıştır ($p<0,05$). İstatistiksel olarak en düşük hücre canlılığı değeri (%73,3) en yüksek konsantrasyonda (1000 ppm) elde edilmiştir.



Şekil 4.7 Farklı konsantrasyondaki örneklerin HT-29 kanser hücresi canlılığına (%) etkisi

Mt: Modifiye edilmemiş kil, 5-CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokil, 3-Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokil, CTAB: Katyonik sürfaktan, Tween-80: Non-iyonik sürfaktan, $^{*}EC_{50}$: %50 etkili konsantrasyon.

Montmorillonitin antitümör ajan olarak potansiyel taşıdığına dair literatürde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Lordan vd. [124] HepG2 insan hepatoma (karaciğer kanser) hücre hattında modifiye kil (Cloisite 93A**)** ve modifiye edilmemiş kilin (Cloisite Na^+) çalışılan en yüksek konsantrasyonunda (1000 ppm) hücre canlılığını sırasıyla yaklaşık %37 ve %23 seviyelerine düşürdüğünü raporlamıştır. Maisanaba, Gutiérrez-Praena vd. [122] Caco-2 insan kalın bağırsak karsinomundan türetilmiş hücre hattından modifiye edilmemiş Mt (Cloisite Na^+) ve organik olarak modifiye edilmiş montmorillonite (Cloisite 30B) 24 ve 48 saatlik sitotoksisite çalışmaları için incelenen konsantrasyonlarda (1-125 ppm) Cloisite Na^+ kili için antiproliferatif bir etkisinin olmadığı raporlanmıştır. Öte yandan Cloisite 30B için 24 saatlik uygulamada 62,5 ppm; 48 saatlik uygulamada ise 31,25 ppm ve üzerindeki derişimlerinde hücre canlılığında azalma olduğu belirtilmiştir.



Şekil 4.8 Farklı konsantrasyonda 5-CTAB-oMt numunesi ile muamele sonucunda HT-29 kanser hücrelerinin mikroskobik görüntüleri (20x)

5-CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokil

Mevcut çalışmada incelenen konsantrasyon aralığında Mt nanokili için sitotoksik bir etki görülmezken, organokillerin konsantrasyon artışına bağlı olarak kontrole kıyasla azalmış hücre canlılığı değerleri elde edilmiştir. Özellikle 5-CTAB-oMt organokilinde literatür ile uyumlu olarak konsantrasyon arttıkça hücre canlılığı değerleri istatistiksel olarak azalmış ve 1000 ppm konsantrasyonunda

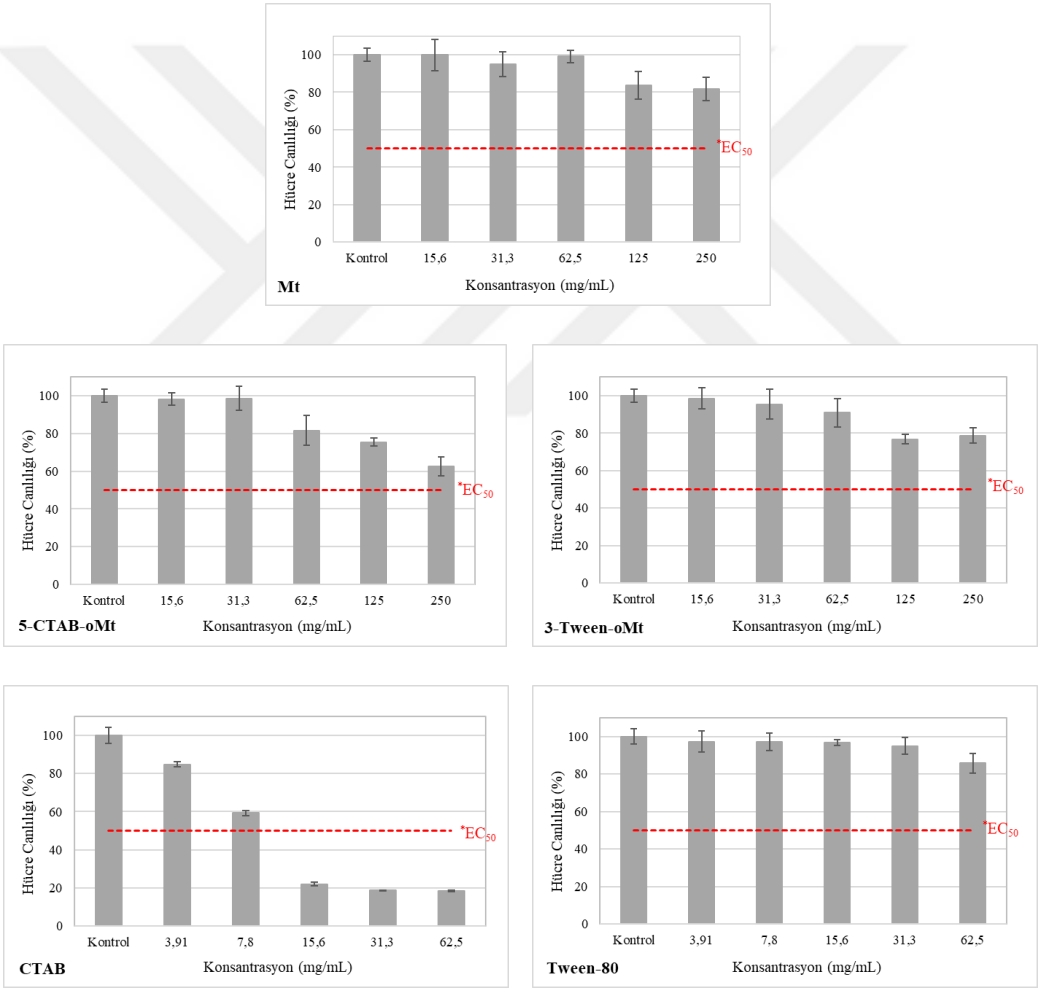
antiproliferatif etki elde edilmiştir. Bu durum incelenen organokillerin antitümör ajan olarak işlev görebileceği belirtileceği ihtimalini ortaya çıkarmaktadır [123].

4.1.6.2 Organokillerin Sağlıklı Hücreye (L-929) Sitotoksik Etkisi

Montmorillonitin materyal yapısına katılması ile mekanik ve bariyer özelliklerinde sağlanan iyileşmeler nedeniyle gıda ambalajı olarak kullanımı göz önüne alındığında en olası maruziyet yollarından biri ağız yoludur. Bununla birlikte, kil partikülleri gastrointestinal epiteli geçerek kan dolaşımına girdikten sonra vücutta dağılım göstererek farklı hücreleri etkileyebilme potansiyeline sahiptir [74]. Literatürde gıda ambalajında kullanılmak üzere alüminyum silikat killerin potansiyel toksisitesi üzerine karaciğer [124], [126], bağırsak [122], [127], [128], akciğer [129] veya göbek damarı [74] kökenli farklı hücre hatlarında gerçekleştirilmiş çalışmalar yer almakta olup, *in vitro* maruziyetinde sitotoksik etkileri olduğu belirtilmiştir. Buna göre çalışmada modifiye edilmemiş kil ile optimum sonuç veren organokiller ve organomodifikasyonda kullanılan sürfaktanların sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi amacıyla L-929 sağlıklı fibroblast hücreleri üzerine etkileri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

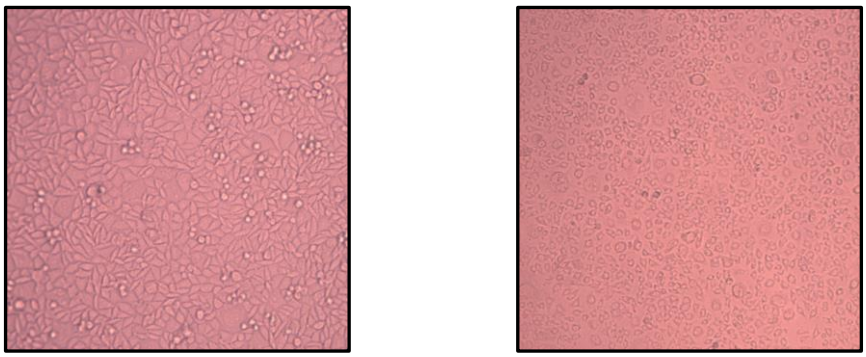
Mt kili açısından, kontrol örneği ile 31,3 ppm'e kadar olan konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Konsantrasyon artışıyla beraber hücre canlılığı değerlerinde azalma gözlenmekle birlikte, EC_{50} seviyesinin üzerinde kalmış ve 62,5-250 ppm aralığındaki konsantrasyon seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). **5-CTAB-oMt organokili** için yapıda katyonik sürfaktan kullanımı, özellikle 62,5 ppm ve üzerindeki seviyelerde hücre canlılığı değerlerinin kontrole kıyasla daha düşük değerler almasına neden olmuştur. Kil yüzey modifikasyonu, kilin polimerle uyumluluğunu arttırarak daha yüksek eksfoliasyon derecelerine (polimer içerisinde homojen dağılım) ulaşılmasını ve buna bağlı olarak gelişmiş malzeme özelliklerinin elde edilmesini sağlamak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, montmorillonitin modifikasyonunu kilin yapısal ve yüzey özelliklerini değiştirebildiğinden, toksisitesini etkileyebilme potansiyeline de sahiptir [122]. Nitekim mevcut çalışmada **CTAB sürfaktanı**nda özellikle 15,6 ppm ve üzerindeki seviyelerde EC_{50} değerinin altında sonuçlar elde edilmesi dikkat çekicidir. Şekil 4.10'da 62,5 ppm konsantrasyonda CTAB sürfaktanı ile sağlıklı

hücrelerin 24 saat teması ile hücrelerin görüntüsünde gerçekleşen değişim net bir şekilde görülmüştür. Buna göre 5-CTAB-oMt organokili için konsantrasyon artışı ile azalan hücre canlılığı değerlerine, kil yüzeyini modifiye eden katyonik CTAB sürfaktanından kaynaklandığı söylenebilir. 5-CTAB-oMt organokilinde en düşük hücre canlılığı değerleri istatistiksel olarak 250 ppm seviyesinde olmakla beraber, EC_{50} seviyesinin altına inmemiştir. Kuaterner amonyum bileşikleri, alkil zincir uzunluğu ve moleküler yapılarına bağlı olarak farklı derecelerde deri ve solunum yollarında tahrişe neden olabilmektedir. Dolayısıyla, kil tabakaları arasına interkale olmuş modifiye edicilerin konsantrasyonu, kilin toksik etkinliğini belirleyen temel faktörlerden biri olarak değerlendirilmektedir [130].



Şekil 4.9 Farklı konsantrasyondaki örneklerin L-929 sağlıklı hücre canlılığına (%) etkisi

Mt: Modifiye edilmemiş kil, 5-CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokil, 3-Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokil, CTAB: Katyonik sürfaktan, Tween-80: Non-iyonik sürfaktan, $^{*}EC_{50}$: %50 etkili konsantrasyon.



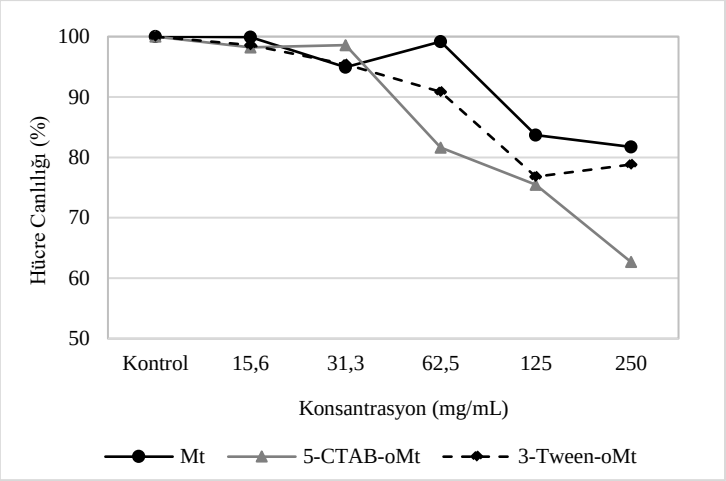
Kontrol **CTAB**

Şekil 4.10 L-929 sağlıklı hücrelere ait kontrol ve 62,5 ppm katyonik CTAB sürfaktanı ile muamele sonrası elde edilen mikroskop görüntüleri (20x)

Çalışmada, **3-Tween-oMt organokilinde** kontrol örneği ile 15,6-62,5 ppm konsantrasyon aralığı arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Daha yüksek konsantrasyonlarda (125-250 ppm) ise kontrolden farklı olarak sonuçlar benzer (%76,8-78,8) çıkmıştır. **Tween-80 sürfaktanı**nda ise sadece 62,5 ppm konsantrasyonundaki hücre canlılığı istatistiksel olarak kontrol örneğinden farklı tespit edilmiş olup ($p>0,05$), %85,8 hücre canlılığı elde edilmiştir. CTAB sürfaktanı, kuaterner amonyum bileşiği olup evsel temizlik ürünleri, dezenfektanlar ve kişisel bakım ürünlerinde yaygın olarak kullanılan katyonik yüzey aktif maddeler sınıfına aittir. Pozitif yüklü baş gruplarına sahip olmaları nedeniyle, negatif yüklü yüzeylere (örneğin hücre zarları) güçlü bir şekilde adsorbe olma eğilimi gösterdiğinden [130], çalışmada CTAB sürfaktanın içeren organokilde (5-CTAB-oMt) hücre canlılığı sonuçları non-iyonik sürfaktanın kullanıldığı organokile (3-Tween-oMt) göre daha düşük çıkmıştır (Şekil 4.11).

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde Connolly vd. [130] modifiye olmayan kil ve modifiye edilmiş organokillerin farklı hücre tiplerine (deri, karaciğer, makrofaj benzeri hücreler) karşı toksisitelerini *in vitro* olarak karşılaştırılmalı şekilde incelemişlerdir. Organomodifikasyon sonucunda ölçülen sitotoksisite düzeylerinin artmasıyla, farklı hücre modelleri için organokillerin tehlike potansiyelini yükselttiği raporlanmıştır. Sutormin vd. [131] çalışmalarında üç farklı tip yüzey aktif maddenin (katyonik (CTAB), non-iyonik (Tween-80) ve anyonik (SLS)) ışık yayan bakteriler ve bu bakterilerden elde edilen enzimler üzerindeki etkilerini inceleyerek, toksisitelerini değerlendirmiştir. Sürfaktanlar arasında en yüksek inhibitör etkisi anyonik sürfaktan varlığında ortaya çıktığı belirlenmiştir. Katyonik CTAB sürfaktanı kritik misel konsantrasyon (CMC) seviyesinin altında toksik bir

etki göstermezken, CMC'nin üzerindeki konsanstrasyonlarda lüminesans ve enzim sistemlerinin aktivitesinde azalmaya neden olmuştur. Non-iyonik Tween-80'in, hem hücresel hem de enzimatik test sistemleri üzerinde incelenen seviyelerde toksik bir etki göstermemesi, bu sürfaktanın özellikle farklı toksik maddelerle kirlenmiş toprakların iyileştirilmesinde kullanılan Tween-80 destekli sürfaktan teknolojilerinin güvenli kullanımını destekleyen bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. Tween-80'nin organizmalar üzerindeki kronik ve subletal doğrudan toksik etkilerine ilişkin bulgulara nadiren rastlandığı, bu nedenle çevresel açıdan güvenli bir sürfaktan olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde, bu tez çalışmasında da non-iyonik sürfaktan ve bu sürfaktanı içeren organokile ait incelenen konsantrasyonlarda sağlıklı hücreler üzerinde sitotoksik etki gözlenmemiştir.



Şekil 4.11 Modifiye edilmemiş kil ve organokillerin L-929 sağlıklı hücre canlılığına (%) etkisi

Mt: Modifiye edilmemiş kil, 5-CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokil, 3-Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan ile modifiye edilmiş organokil.

4.2 Termoplastik Nişasta Esaslı Nanokompozit Filmlerin Özellikleri

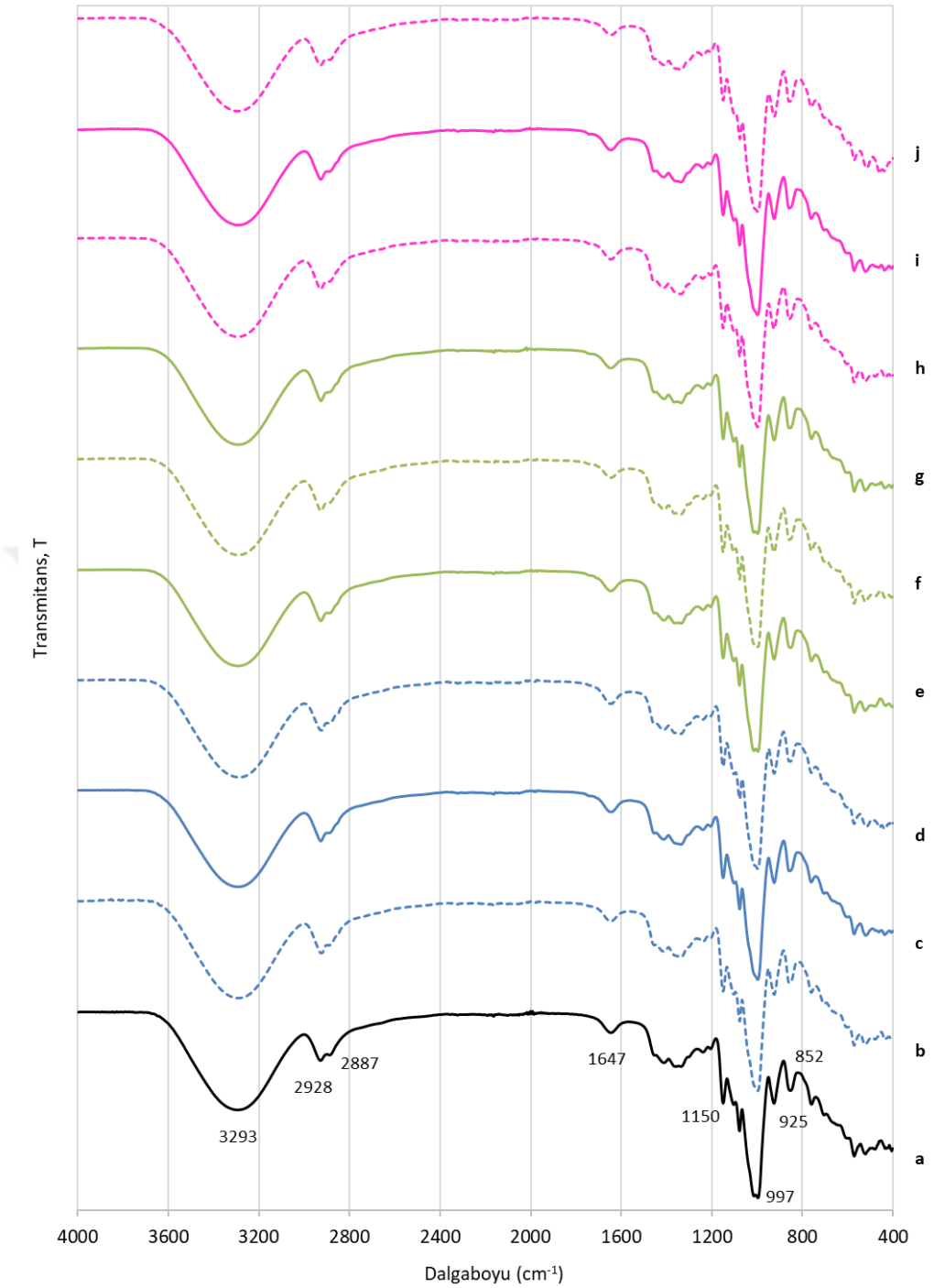
4.2.1 Filmlerin Özellikleri

Termoplastik nişasta esaslı polimerin yapısına nanokil ve optimum organokillerin (5-CTAB-oMt ve 3-Tween-oMt) farklı seviyelerde (%1, %3, %5) ilavesiyle elde edilen nanokompozit filmlerin karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiştir.

4.2.1.1 Filmlerin Yapısal Özellikleri

TPS esaslı nanokompozit matrikslerine ait FT-IR spektrumları Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Filmlerde yaklaşık 3290 cm^{-1} civarında gözlenen geniş absorpsiyon bandı, nişasta matriksindeki hidroksil gruplarına ait O–H gerilme (stretching) titreşimlerine karşılık gelmektedir [86]. IR spektrumlarında 2928-2924 cm^{-1} aralığında görülen pik, alkil (C–H) asimetrik titreşim bandına ait olup, plastikleştirici gliserolün matrikse başarılı bir şekilde ilave edildiğini kanıtlamaktadır. 1644-1647 cm^{-1} aralığında görülen pik, O–H bending titreşimine karşılık gelmektedir [26]. 1150 cm^{-1}'de gözlenen bant ise, C–O ve C–C gruplarının varlığını göstermektedir. 996 cm^{-1}'de görülen pik, nişasta yapısındaki C–O ve C–H titreşimlerine karşılık gelmektedir. 925 cm^{-1} civarında görülen bant, nişastadaki glikozidik bağlarla ilgilidir. Kontrol filminde 852 cm^{-1}'de tespit edilen bant, nişastadaki C–O–C bağının simetrik gerilmesi ve nişastadaki CH ve CH_2 deformasyonları ile ilişkilidir [86]. Yapıya kil eklenmesi ile gerçekleşen etkileşimler sonucunda bu pikin kayarak 856-859 cm^{-1} arasında olduğu görülmüştür.

Elde edilen sonuçlar, termoplastik nişasta esaslı materyale modifiye veya modifiye edilmemiş kil eklenmesi belirgin spektral değişikliklere yol açmadığını ve dolgu maddesi olarak kilin katılımıyla yeni kimyasal bağlar oluşmadığını göstermektedir. Yeni bir fonksiyonel grup oluşmaması, kil ile film matriksi arasında yalnızca fiziksel etkileşimlerin gerçekleştiğini göstermektedir [132]. Montmorillonit ile polimer matriks arasındaki etkileşimler, esas olarak hidrojen bağları ve Van der Waals kuvvetleri ile gerçekleştirilmiştir [26].



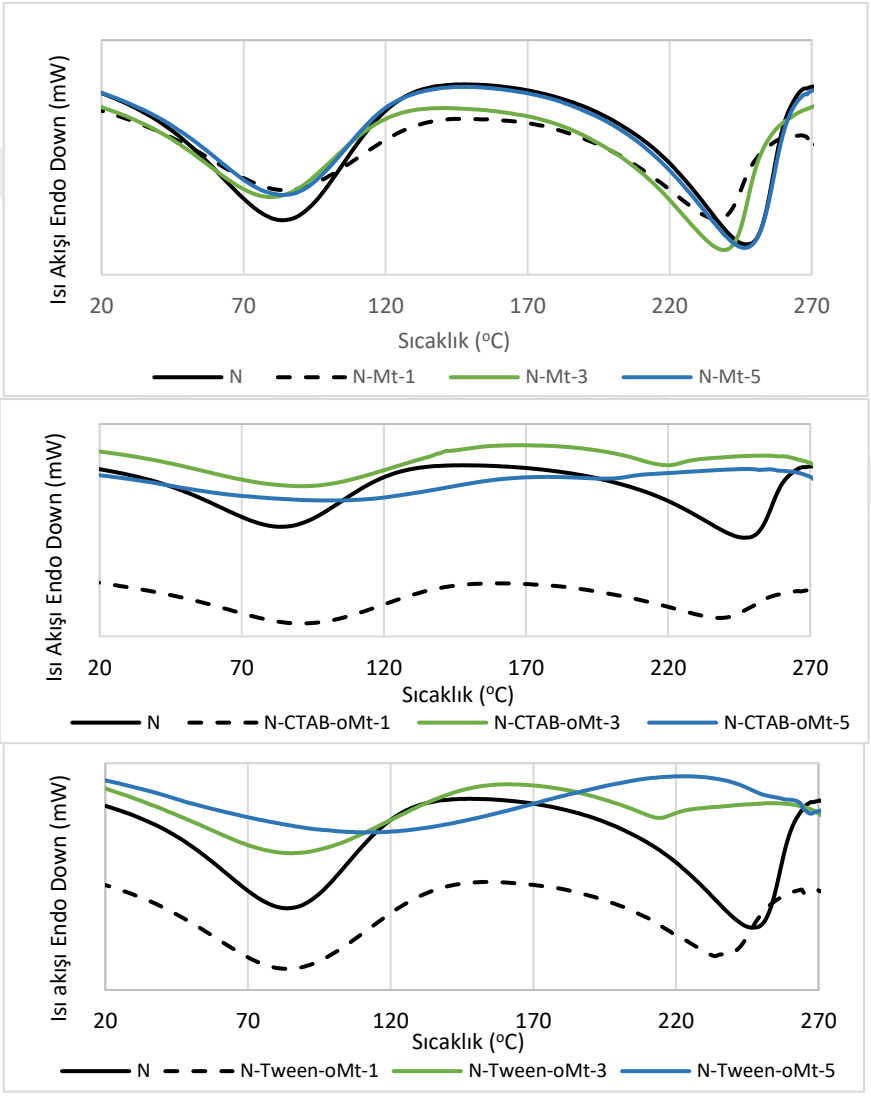
Şekil 4.12 Termoplastik nişasta esaslı filmlerin FT-IR spektrumları

(a) N, (b) N-Mt-1, (c) N-Mt-3, (d) N-Mt-5, (e) N-CTAB-oMt-1, (f) N-CTAB-oMt-3, (g) N-CTAB-oMt-5, (h) N-Tween-oMt-1, (i) N-Tween-oMt-3, (j) N-Tween-oMt-5

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

4.2.1.2 Filmlerin Termal Özellikleri

DSC verileri sayesinde polimer matriks ile tabakalı silikatın uyumunu belirlenebilmektedir. Polimerin amorf bölgelerindeki değişimler ve zincirlerin mobilitesi hareketliliği camsı geçiş sıcaklığı (T_g) ile, kristalin bölgedeki geçişler ise erime sıcaklığı (T_m) ile ilgilidir. Amorf ve kristalin fazlar arasındaki geçişler ile ilgili olan parameter ise kristalizasyon sıcaklığıdır (T_c) [16]. Çalışmada kil ile güçlendirilmiş TPS esaslı nanokompozit filmlere ait DSC eğrileri ve termal parametreler, sırasıyla Tablo 4.7 ve Şekil 4.13'te gösterilmiştir.



Şekil 4.13 Farklı oranlarda (a) Mt, (b) CTAB-oMt, (c) Tween-oMt içeren termoplastik nişasta esaslı materyallerin DSC termogramları

N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

Filmlerin DSC grafiklerinde iki endotermik pik belirlenmiştir. İlk pik T_g olup, kontrol filminin camsı geçiş sıcaklığı 98,11°C olarak ölçülmüştür. Yapıya kil ilavesi ile T_g değeri artış eğilimi göstermiştir. Camsı geçiş sıcaklığı polimerin zincir esnekliği ile ilişkilidir. Nanokompozitlerin camsı geçiş sıcaklığı sonuçlarının kontrol materyalinden yüksek olması, polimerin zincir mobilitesinin azalmasından kaynaklanmaktadır [16]. Özellikle yapısında organokil içeren nanokompozitlerin camsı geçiş sıcaklıkları, kontrol filmine göre daha yüksek bulunurken; nanokil içeren malzemelerde T_g değerleri kontrol filmine kıyasla düşük veya benzer seviyelerde elde edilmiştir. Bu durum, organomodifikasyon uygulanmamış kilin (Mt) polimerde topaklanmaya yol açması ve bunun sonucunda T_g değerlerinin kontrole göre benzer veya daha düşük olarak elde edilmesiyle açıklanabilir [133]. Çalışmada en yüksek T_g değeri, %5 seviyesinde non-iyonik sürfaktan içeren organokili içeren nankompozit (N-Tween-oMt-5) için elde edilmiştir. Bu sonuç, zincir mobilitesinin en çok bu nanokompozitte azaldığını ve termal stabilitenin arttığını göstermektedir. Termogramlarda görülen ikinci pik filmlerin erime sıcaklığına aittir. Kontrol filminin erime sıcaklığı 250,04°C iken, yapıda modifiye edilmemiş kil oranının artmasıyla filmlerin T_m değerlerinde benzer veya hafifçe azalmış sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle organokil ilavesi ile birlikte T_m değerinde gözlemlenen düşüş, organokilin kristalleşmeyi engellediğini ve kristal boyutunda azalma sağladığını göstermektedir. Nanokil silikat tabakaları, nişastadaki zincirlerin yeniden düzenlenmesini engelleyerek kristalleşmeyi baskılamıştır [134]. Ayrıca organokil katkısı polimerin düzenli zincir yapısını bozması nedeniyle zincirler arasında boşluğa sebep olduğundan nanokompozitlerin erime entalpisi sonuçlarında da düşüş elde edilmiştir.

Literatürdeki bulgular, bu çalışma ile uyum göstermektedir. Örneğin Stasi vd. [133] termoplastik nişasta esaslı filmlerin yapısına dolgu maddesi olarak karbon külü ilavesi ile elde ettikleri kompozit filmlerin termal karakterizasyonunda, kontrol filminin T_g değerini 97,70°C olarak belirlemişlerdir. Dolgu eklenmesi, nişastanın amorf fazındaki zincir hareketliliğini azaltarak T_g değerinin yükselmesini sağlamıştır. Ancak fazla dolgunun eklenmesinin topaklanmaya yol açarak benzer camsı geçiş sıcaklıklarının görülmesine de neden olabileceği ifade edilmiştir. Filmlerin DSC eğrilerinde 168-192°C sıcaklık aralığında görülen endotermik diğer pik, nişasta kristallerinin erimesi ile ilişkilendirilmiştir. Yapıya karbon dolgusunun

ilavesi ile nişastanın kristalizasyon sürecinde de değişime yol açarak erime sıcaklığında kayma göstermiş ve bu değişimin dolgu içeriği arttırıldıkça kristalit boyutundaki değişimden kaynaklandığı belirtilmiştir. Nafchi vd. [132], nişasta ve sığır jelatini esaslı biyokompozit filmlerde çinko oksit nanoçubuklarının (ZnO-nr) termal özellik olarak camsı geçiş sıcaklığı üzerindeki etkisini incelemiş ve yapıya ZnO-nr ilavesinin filmlerin T_g değerini arttırdığını göstermiştir. Başka bir çalışmada, yapıya katılan kilin interkalasyon durumunda DSC eğrisinde T_g pikinin daha az belirgin olduğu ve neredeyse kaybolmuş gibi görünebileceği belirtilmiştir. Bu durum, moleküllerin iki boyutlu galeriye hapsolması ve faz geçişlerinin tam olarak gözlenememesi ile açıklanmaktadır [16]. Bu tez çalışmasında özellikle %3 ve %5 seviyesinde organokil içeren materyallerde T_m'e ait pik alanlarında elde edilen azalma, organomodifikasyon işleminin etkin bir şekilde gerçekleştirilerek organokilin polimer matrikste modifiye edilmemiş kil eklenmiş filmlere göre daha homojen dağılım sağladığını kanıtlamıştır.

Tablo 4.7 Farklı oranlarda kil içeren termoplastik nişasta esaslı materyallerin DSC analizinden elde edilen veriler

Film Materyali	**Camsı Geçiş Sıcaklığı, T_g (°C)**	**Erime Sıcaklığı, T_m (°C)**	**Erime Entalpisi, ΔH_m (J/g)**
N	98,11	250,04	36,05
N-Mt-1	98,70	239,18	19,05
N-Mt-3	95,17	241,05	50,44
N-Mt-5	98,41	248,98	53,43
N-CTAB-oMt-1	107,66	240,20	16,29
N-CTAB-oMt-3	110,01	219,94	5,70
N-CTAB-oMt-5	122,25	201,44	0,97
N-Tween-oMt-1	99,73	239,82	15,21
N-Tween-oMt-3	113,73	214,31	3,22
N-Tween-oMt-5	139,43	250,42	0,58

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

4.2.1.3 Filmlerin Renk ve Optik Özellikleri

- **Filmlerin Renk Özellikleri**

Gıda ambalaj malzemesinin rengi, tüketiciler tarafından ürünün görünümü ve kabulü açısından önemli bir parametredir [135]. Bu nedenle termoplastik nişasta esaslı film materyallerine nanokil veya organokil ilavesinin L^*, a^* ve b^* renk uzayındaki değerleri ve hesaplanan toplam renk farkı (ΔE) sonuçları Tablo 4.8'de verilmiştir. Yapıya kil eklenmesi ile film örneklerinin renk değerleri arasında istatistiksel olarak farklılıklar elde edilmiştir ($p<0,05$). L^* değerlerine bakıldığında kontrol örneğine (97,93) göre yapıya kil eklenmesi sonuçların azalmasına neden olmuştur. Bu durum yapıya kil ilavesinin ambalaj rengini koyulaştırdığını göstermektedir [15]. Ancak organokil içeren filmler modifiye edilmemiş kil içeren filmlere kıyasla daha yüksek L^* değerleri göstermiş ve kontrol örneğine daha yakın sonuçlar sergilemiştir. Materyalin koyulaşması özellikle organokil içerenlerde daha az olmuştur. Nanokompozitlerin a^* değerleri incelendiğinde, kontrol örneğine göre yapıya kil eklenmesi ile kırmızılığın (+) azaldığı belirlenmiştir. Bu azalma yapısında nanokil içeren filmlerde daha fazla olmuştur. Materyallerin b^* değerlerine bakıldığında ise kontrol filmine göre sarılığın (+) arttığı görülmektedir. Organokil içeren nanokompozitler (N-CTAB-oMt ve N-Tween-oMt), kontrol filmine daha yakın a^* ve b^* değerleri almıştır. ΔE sonuçları açısından en büyük değişim nanokil içeren örneklerde görülmüş olup, özellikle %1 ve %3 seviyesinde organokil içeren nanokompozit filmler, kontrol örneğine daha yakın sonuçlar göstermiştir.

Literatürde, film mateyali yapısında kil konsantrasyonunun artmasına paralel olarak genellikle L^* ve a^* değerlerinde azalma, b^* ve ΔE değerlerinde ise artış olduğu belirtilmektedir [15]. Singh vd. [135] MMT dolgu maddesi eklenmiş mısır nişastası esaslı biyonanokompozit filmlerinde renk özellikleri incelemiştir. Yapıdaki kil miktarının arttırılmasıyla daha düşük L^* değeri ve daha yüksek ΔE sonuçları elde edilmiştir. Nanokil parçacıklarının polimer matriksi içindeki dağılımı ile filmlerin saydamlığı üzerinde önemli etkisi olduğu belirtilmiştir. Özellikle kil parçacıklarının matrikste topaklanması sonucunda malzeme boyunca ışığın geçmesine engel oluşturarak film saydamlığının azalmasına neden olduğu raporlanmıştır. Slavutsky vd. [136] bir çeşit reçine olan brea gam esaslı filmlere nanokil ilave ederek renk parametrelerini incelemiştir. Biyoesaslı materyal yapısındaki MMT konsantrasyonunun artışı ile L^* değerinde azalış görülürken, b^*

(sarılık) değerinde artış olduğu belirtilmiştir. Sothornvit vd. [137] farklı nanokilleri (Cloisite Na^+, Cloisite 20A, Cloisite 30B) peyniraltı suyu proteini izolatının yapısına ekleyerek elde ettikleri nanokompozit malzemelerin renk özelliklerini incelediklerinde kontrol filmine göre daha düşük L^* ve a^* değerleri ile daha yüksek b^* and ΔE değerleri elde etmişlerdir.

Tablo 4.8 Termoplastik nişasta esaslı materyallerin renk değerleri

Film Materyali	L^*	a^*	b^*	ΔE
N	$97,93\pm0,32^{a}$	$0,22\pm0,02^{g}$	$0,42\pm0,04^{g}$	-
N-Mt-1	$97,26\pm0,04^{cd}$	$0,06\pm0,01^{g}$	$1,12\pm0,03^{c}$	$0,96\pm0,04^{d}$
N-Mt-3	$97,07\pm0,07^{e}$	$0,08\pm0,01^{f}$	$1,23\pm0,02^{b}$	$1,19\pm0,06^{b}$
N-Mt-5	$96,78\pm0,03^{f}$	$0,09\pm0,01^{f}$	$1,34\pm0,07^{a}$	$1,48\pm0,04^{a}$
N-CTAB-oMt-1	$97,50\pm0,07^{b}$	$0,14\pm0,01^{de}$	$0,79\pm0,12^{e}$	$0,59\pm0,06^{g}$
N-CTAB-oMt-3	$97,29\pm0,03^{c}$	$0,15\pm0,01^{cd}$	$0,86\pm0,07^{d}$	$0,78\pm0,06^{f}$
N-CTAB-oMt-5	$97,22\pm0,11^{cd}$	$0,18\pm0,01^{b}$	$1,09\pm0,04^{c}$	$0,98\pm0,08^{d}$
N-Tween-oMt-1	$97,40\pm0,05^{b}$	$0,13\pm0,02^{e}$	$0,64\pm0,08^{f}$	$0,59\pm0,06^{g}$
N-Tween-oMt-3	$97,22\pm0,10^{cd}$	$0,13\pm0,01^{e}$	$0,86\pm0,02^{d}$	$0,84\pm0,09^{e}$
N-Tween-oMt-5	$97,16\pm0,04^{de}$	$0,16\pm0,03^{c}$	$1,12\pm0,05^{c}$	$1,04\pm0,03^{c}$

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-g}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Genel olarak, yaklaşık 1 nm kalınlığındaki nanokil tabakalarının polimer matriksi içerisinde homojen olarak dağılması durumunda, boyutlarının ışığın dalga boyundan daha küçük olması nedeniyle materyalden ışık geçişini engellemediği ve nanokompozit filmin optik özelliklerinin anlamlı ölçüde değişmediği kabul edilmektedir [138]. Mevcut çalışmada, kontrol filmine göre organokil içeren filmlerin ΔE değerlerinin nanokil içeren filmlere nazaran daha yakın sonuçlar verdiği görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda, TPS matriksi içerisinde organokillerin, modifiye edilmemiş kil içerenlere göre daha homojen bir dağılım sergilediği yorumu yapılabilir. Modifiye edilmemiş kil tabakalarının film matriksinde tam olarak dağılmaması, daha düşük L^* ve daha yüksek ΔE değerlerinin elde edilmesine neden olmuştur. Biyopolimer ile kil arasındaki

interkalasyon/eksfoliasyon derecesi, bu bileşenlerin karşılıklı uyumu ve yüzey polaritelerine bağlıdır [71], [137].

- **Filmlerin Optik Özellikleri**

Ambalaj materyallerin optik özellikleri, uygulamadaki işlevselliklerinin belirlenmesinde kritik bir parametre olarak değerlendirilmektedir. Matriks içerisinde homojen olmayan mikro yapılar, bu tür özellikleri önemli ölçüde etkilemektedir [135]. TPS esaslı filmlerin optik özellikleri kapsamında UV bölge ve görünür bölgedeki ışık geçirgenliği ile opaklık değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.9 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmlerin UV bölge (360 nm) ve görünür bölgedeki (660 nm) ışık geçirgenliği (T) ve opaklık sonuçları

Film Materyali	% T (360 nm)	% T (660 nm)	Opaklık (A.U./mm)
N	75,3±0,2^{a}	84,2±0,6^{a}	0,889±0,003^{i}
N-Mt-1	60,6±0,2^{b}	67,1±0,8^{d}	1,075±0,009^{f}
N-Mt-3	58,4±0,5^{c}	63,4±1,1^{f}	1,223±0,003^{c}
N-Mt-5	50,3±0,5^{f}	55,6±0,2^{h}	1,460±0,014^{a}
N-CTAB-oMt-1	54,8±0,1^{e}	73,4±0,2^{b}	1,039±0,006^{g}
N-CTAB-oMt-3	50,9±0,2^{f}	70,5±0,3^{c}	1,087±0,003^{f}
N-CTAB-oMt-5	49,2±0,1^{g}	66,1±0,5^{e}	1,194±0,008^{d}
N-Tween-oMt-1	55,7±0,1^{d}	73,2±0,5^{b}	1,007±0,003^{h}
N-Tween-oMt-3	50,5±0,5^{f}	69,9±0,5^{c}	1,114±0,008^{e}
N-Tween-oMt-5	46,7±0,5^{g}	62,0±0,6^{g}	1,258±0,006^{b}

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-i}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Yapıya eklenen kil miktarının artışı ile UV özelliklerinin incelendiği 360 nm dalga boyunda elde edilen geçirgenlik (%T) değerlerinde azalma görülmüştür. Nanokompozit filmlerde, kontrol materyaline göre %T değerlerindeki azalma; yapıya nanokil katılması durumunda %20-33, katyonik sürfaktan içeren organokil eklenmesi ile %27-35 ve non-iyonik sürfaktan içeren organokil ilavesi ile %26-38 aralığında gerçekleşmiştir. Benzer seviyelerde modifiye edimiş ve modifiye edilmemiş kil içeren filmler karşılaştırıldığında, organokil eklenmiş filmlerin UV

geçirgenlik değerlerinin modifiye edilmemiş nanokil eklenenlere kıyasla genel olarak daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu doğrultuda, çalışmada organokil ilavesiyle üretilen aktif TPS esaslı gıda filmlerinin, ambalajlanan gıdayı UV radyasyonunun neden olabileceği lipid oksidasyonu, besin kaybı ve renk bozulması gibi olumsuz etkilere karşı korumada daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır [139]. 660 nm'deki %T sonuçlarına bakıldığında yapıya kil nanodolgusunun eklenmesi ile görünür bölgedeki geçirgenlik değerleri kademeli olarak düşmüştür. Kontrol materyaline göre görünür bölgede ışık geçirgenliği değerlerinde elde edilen azalma; yapıya modifiye edilmemiş nanokil katılması durumunda %20-34, katyonik sürfaktan içeren organokil eklenmesi ile %13-22 ve non-iyonik sürfaktan içeren organokil ilavesiyle ise %13-26 aralığında olmuştur. Matrikse organokil ilavesi, görünür bölgeye kıyasla UV bölgede geçirgenliği daha fazla azaltmıştır. Bu durum, nanokompozit filmlerin görsel saydamlığını kaybetmeden yüksek UV bariyer özelliklerine sahip olmasının mümkün olduğunu göstermiştir [91].

Opaklık, bir filmin saydamlık derecesinin belirlenmesinde kullanılan bir ölçüttür. Daha yüksek opaklık değeri, daha düşük saydamlık anlamına gelmektedir. Film saydamlığı, diğer bir ifadeyle film opaklığı, ambalajlanan ürünün görünümünü doğrudan etkilediği için önemli bir özelliktir [92]. Çalışmada kontrol filminin en düşük opaklık değerine sahip olduğu belirlenmiş; nanokil veya organokilin TPS matriksine entegre edilmesiyle filmlerin opaklık değerlerinde anlamlı artışlar gözlenmiştir. Nanokil içeren filmlerin (N-Mt) opaklık sonuçları %21-64 oranında artarken, N-CTAB-oMt filmleri için bu artış %17-34, N-Tween-oMt filmleri için ise %13-41 seviyelerinde gerçekleşmiştir. Nanokil ile polimer matriks arasında iyi bir uyum sağlandığında, kil plakalarının nişasta matriksi içerisinde homojen dağılması ışık geçişini kolaylaşmakta ve filmin opaklığı üzerinde daha düşük bir etkisi olmaktadır. Ancak yüksek nanokil konsantrasyonu ışık saçılmasına yol açarak geçirgenliği azaltmakta ve filmin görünür şeffaflığını düşürmektedir [135]. Buna göre çalışmada özellikle %1 ve %3 seviyesinde organokil ilave edilen nanokompozitlerde nanoparçacıkların yapıda homojen dağılması sonucunda, görünür bölgedeki ışık geçirgenliği ve opaklık sonuçları daha düşük seviyede etkilendiği belirlenmiştir.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında Boro vd. [91] polilaktik asit ve karanfil esansiyel yağı içeren matrikse nanodolgu olarak halloysit nanotüpü ilave ederek,

nanokompozit filmlerin UV bariyer özelliklerinde %20-23 iyileşme elde etmiştir. Yapıya HNT nanodolgusu eklenmesi ile görünür bölgede geçirgenlik değerleri yaklaşık %3 düşmüştür. Polimer matriksi içerisinde HNT nanopartikülleri, ışığı kırarak veya engelleyerek farklı dalga boylarında ışık geçirgenliğini azaltabilmektedir. HNT ilavesinin, görünür bölgeye kıyasla UV bölgesinde (<400 nm) geçirgenliği daha fazla düşürdüğü belirlenmiştir. Bu nedenle, nanokompozit filmlerin görsel saydamlığını kaybetmeden yüksek UV bariyer özelliklerinin elde edilmesinin mümkün olduğu ortaya koymaktadır. Başka bir çalışmada, kitosan matriksine farklı seviyelerde halloysit ilave edilerek farklı dalga boylarında (190-300-360-600 nm) geçirgenlik değerleri incelenmiştir. HNT içeriğinin artırılmasının, filmin ışık geçirgenliği sonuçlarını çalışılan tüm dalga boylarında kademeli olarak azalttığı belirtilmiştir [139]. Singh vd. [135] nişasta esaslı filmlerin yapısına MMT nanokili ilave edilerek, ışık geçirgenliği 400-800 nm dalga boyu aralığında incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, kontrol filminin en düşük opaklık değerine sahip olduğu ve MMT konsantrasyonunun %1,5'ten %2,0'ye artırılması ile filmin opaklığının anlamlı düzeyde yükseldiği belirtilmiştir.

4.2.1.4 Filmlerin Mekanik Özellikleri

Bir gıda ambalaj filminin gösterdiği çekme dayanımı ve kopma anındaki uzama değerleri yapısal bütünlüğünü koruma potansiyelinin değerlendirilmesinde önemli mekanik özelliklerdendir. Çekme dayanımı (gerilme potansiyeli), malzemenin gerilme (stress) anında dayanabileceği en yüksek değeri göstermekte iken; kopma anında uzama miktarı, malzemenin gerilme anındaki esnekliğini ve uzama kapasitesini göstermektedir [71]. TPS esaslı filmlerin kalınlığı ortalama 0,187±0,017 mm olarak belirlenmiş olup, istastistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Elde edilen maksimum çekme dayanımı ve kopma anında uzama sonuçları Tablo 4.10 ve Şekil 4.14'te verilmiştir.

Çekme dayanımı sonuçları incelendiğinde, kil ile güçlendirilmiş filmlerin kontrol materyaline göre istatistiksel olarak daha yüksek sonuçlar sergilemiş ve mekanik direnci arttırmıştır Termoplastik nişasta matriksi yapısında organokil konsantrasyonu arttıkça çekme dayanımı sonuçları artmıştır. Yapıda nanokil içeren N-Mt filmlerinde kil konsantrasyonu %1'den %3'e arttırıldığında çekme dayanımında görülen artış, %3'den %5'e arttırıldığında azalma şeklinde görülmüştür. Kompozit filmlerin mekanik özelliklerinin, matriks ile nanodolgu

maddeleri arasındaki arayüzey etkileşimine yüksek derecede bağlı olmaktadır. Nanodolgunun yapıda düzensiz dağılımı ve topaklaşması, nanokil ile polimer matriksi arasındaki etkileşimi azaltabilmektedir [132], [140]. Matrikse %5 konsantrasyonunda modifiye edilmemiş nanokil ilave edildiğinde, filmlerin homojenliği sınırlanmış ve bunun sonucunda çekme dayanımı sonuçlarında azalma görülmüştür [141]. Bu sonuçlar TPS yapısında yüksek konsantrasyonlarda (> %3) modifiye edilmemiş nanokil yerine organokil kullanımının, daha homojen nanokompozitlerin elde edilmesine olanak sağladığını göstermektedir. İstatistiksel olarak en yüksek sonuçlar non-iyonik sürfaktan içeren organokil eklenen film materyallerinde (N-Tween-oMt) elde edilmiş olup, bu nanokompozitlerin maksimum çekme dayanımı değerleri kontrol materyaline göre yaklaşık 2 kat artış göstermiştir.

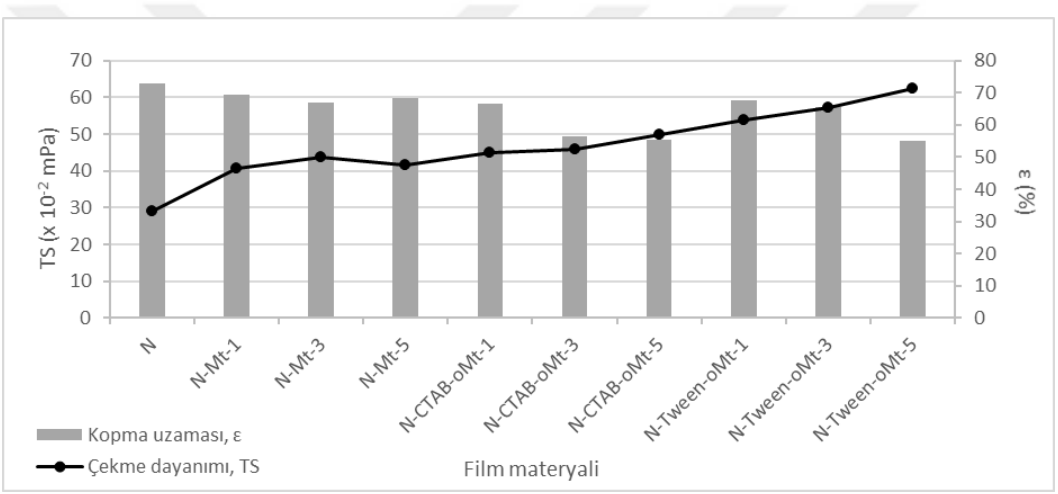
Tablo 4.10 Yapısında farklı konsantrasyonlarda kil içeren termoplastik nişasta esaslı nanokompozitlerin çekme dayanımı ve kopma uzaması değerleri

Film Materyali	Çekme Dayanımı ($mPa \times 10^{-2}$)	Kopma Anındaki Uzama (%)
N	$29,11\pm4,65^{f}$	$72,83\pm1,87^{a}$
N-Mt-1	$40,57\pm1,69^{e}$	$69,37\pm1,19^{bc}$
N-Mt-3	$43,88\pm2,46^{e}$	$66,90\pm2,12^{c}$
N-Mt-5	$41,54\pm3,35^{e}$	$68,36\pm2,28^{bc}$
N-CTAB-oMt-1	$44,84\pm3,52^{de}$	$66,74\pm6,49^{c}$
N-CTAB-oMt-3	$45,78\pm3,85^{de}$	$56,42\pm2,92^{d}$
N-CTAB-oMt-5	$49,74\pm3,62^{cd}$	$55,52\pm2,57^{d}$
N-Tween-oMt-1	$53,81\pm5,39^{bc}$	$67,67\pm3,27^{c}$
N-Tween-oMt-3	$57,16\pm3,66^{ab}$	$65,58\pm2,68^{c}$
N-Tween-oMt-5	$62,37\pm4,26^{a}$	$55,05\pm2,26^{d}$

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-f}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Nanokompozit malzemelerin kopma anındaki uzama değerleri incelendiğinde, kontrol materyaline göre genel olarak azalma eğilimi göstermiştir. Bu azalış nanokil içeren kompozit malzemelerde (N-Mt) yaklaşık %5-8 oranında iken; organokil ilave edilen filmlerde (N-CTAB-oMt ve N-Tween-oMt) daha fazla (%7-24) olmuştur. Bununla beraber, N-Mt-5 filminde kopma uzaması değerinde hafif artış

görülmüştür. Tabakalı silikat, nişasta matriksinin mekanik olarak güçlendirilmesini sağlarken polimerin esnekliğini azaltmaktadır. Mekanik özelliklerdeki bu iyileşmenin temel nedeni, kil tabakalarının geniş yüzey alanı sayesinde matriks ile tabakalı silikat arasında daha güçlü bir arayüzey etkileşimi kurulması ve bu etkileşimle ağ yapısının oluşmasıdır [71], [142]. Yapıda homojen dağılmış nanodolgu, plastikleştirici ve suyun nişasta matriksi ile etkileşme olasılığını azaltarak anti-plastikleştirici bir etki göstermiş ve bu durum, kopma anında uzama değerlerinde azalmaya yol açmıştır [88]. Nanokile uygulanan organomodifikasyon işlemi ile nanodolgular daha küçük boyutlarda ve birim alanda daha yoğun dağıldığından, filmlerin sertliği yükselmiş ve kopma anındaki uzama azalmıştır [86].



Şekil 4.14 Termoplastik nişasta esaslı filmlerin mekanik özellikleri (çekme dayanımı ve kopma anındaki uzama)

N: Kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt: Modifiye edilmemiş içeren film, N-CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren film, N-Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren film. Örnek kodlarındaki 1, 3 ve 5 film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

Literatürde, bu çalışma ile benzer şekilde kontrol matriksi ile nanokompozitler karşılaştırıldığında da mekanik özelliklerde belirgin iyileşmeler olduğu bildirilmektedir. Örneğin Skowrońska & Wilpiszewska [141] yaptıkları çalışmada plastikleştirici içeren patates nişastası esaslı filmlerin yapısına ilave ettikleri sodyum montmorillonit (MMTNa) veya kalsiyum montmorillonit (MMTCa) nanodolgularının mekanik özellikler (çekme dayanımı, elastikiyet katsayısı (Young's modulus) ve kopma uzaması) üzerindeki etkisini incelemiştir. Nanokompozit filmlerin gelişmiş mekanik özellikler gösterdiği ve nanodolgu içeriğinin artmasının malzemenin çekme dayanımı ve elastikiyet katsayısını

arttırırken, kopma uzamasını düşürdüğü belirtilmiştir. İncelenen nanodolgu oranları arasında, %1 seviyesinde MMTCa veya MMTNa içeren malzemeler en yüksek mekanik gelişimi göstermiş olup, bu durum aynı zamanda bu konsantrasyonda dolgunun matrikste daha homojen dağıldığına işaret etmektedir. Başka bir çalışmada, iki farklı film hazırlama yöntemi kullanılarak termoplastik nişastaya nanokil ilave edilmiş ve materyallerin mekanik özellikleri (çekme dayanımı, kopma anındaki uzama ve Young modülü) araştırılmıştır. Film hazırlama yöntemlerinden birinde (D), nanokilin plastikleştirici gliserolde 24 saat boyunca homojen şekilde disperse edilmesi sağlanırken, diğer yöntemde (ND) nanokil disperse edilmemiş ve matriks, plastikleştirici ve nanodolgu bileşenleri tek bir adımda karıştırılmıştır. Yapıya nanokil ilavesi, filmlerin çekme dayanımı ve Young modülünü arttırdığı için nanokompozitlerin daha sert (rigid) oldukları ve uzama kapasitelerinde azalma olduğu raporlanmıştır. Yapıdaki güçlendirme etkisi, D yöntemi ile elde edilen örneklerde daha belirgin olmuştur. Buna neden olarak D yönteminde, nanokilin gliserole bağlanması nedeniyle plastikleştirici ve suyun nişasta ile etkileşme olasılığının azalması gösterilmiştir. Bu durumda nanokil anti-plastikleştirici bir rol oynamış olabileceği belirtilmiştir. Sonuç olarak, nişasta bazlı filmlere nanokil ilavesi, daha iyi mekanik özelliklerine sahip filmlerin üretilmesini sağlamıştır [88].

4.2.1.5 Filmlerin Bariyer Özellikleri

Ambalaj materyalinin içine konulacak gıdaya uygun olabilmesi için materyalin bariyer özelliklerinin bilinmesi önem taşımaktadır.

- **Su Buharı Geçirgenliği**

Kil takviyeli filmlerin su buharı geçirgenliği değerleri Tablo 4.11 ve Şekil 4.15'te gösterilmiş olup, nanodolgu konsantrasyonuna bağlı olarak su buharı geçirgenliği sonuçlarında önemli azalmalar ($p<0,05$) elde edilmiştir. En düşük su buharı geçirgenliği değerleri, yapıya %5 organokil eklenmiş nanokompozitlerde elde edilmiş ve kontrol örneğine kıyasla %26-28 oranında azalma elde edilmiştir. Su buharı geçirgenliğindeki azalma, esas olarak yapıya eklenen kil nanodolgu parçacıklarının perdeleme etkisi nedeniyle difüze olan su moleküllerinin izlediği yolun uzamasından kaynaklanmaktadır. Bu durumda, tabakalı parçacıkların eksfoliasyon derecesi, en-boy oranı ve malzeme içindeki yönelimi büyük önem taşımaktadır [143].

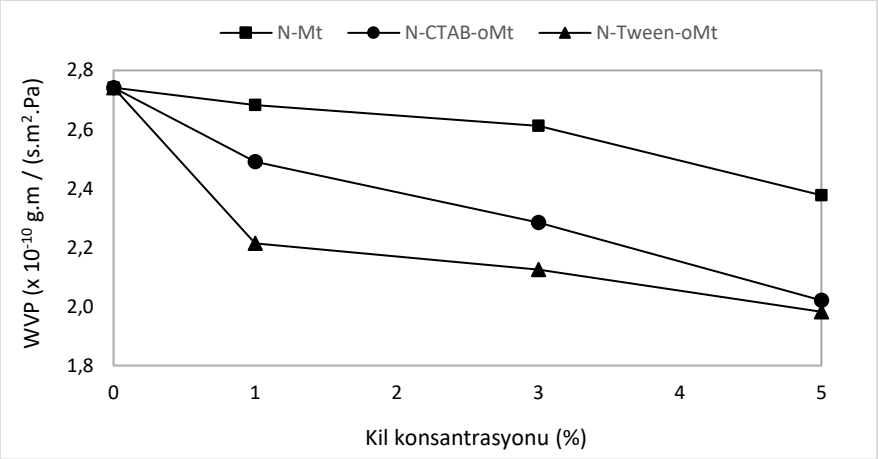
Tablo 4.11 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmlere ait su buharı geçirgenliği (WVP) sonuçları

Film Materyali	WVP × 10^{-10} ($g \cdot m \cdot s^{-1} \cdot m^{-2} \cdot Pa^{-1}$)
N	2,74±0,05[a]
N-Mt-1	2,68±0,04[b]
N-Mt-3	2,61±0,04[c]
N-Mt-5	2,38±0,00[e]
N-CTAB-oMt-1	2,49±0,01[d]
N-CTAB-oMt-3	2,28±0,02[f]
N-CTAB-oMt-5	2,02±0,00[i]
N-Tween-oMt-1	2,21±0,01[g]
N-Tween-oMt-3	2,12±0,01[h]
N-Tween-oMt-5	1,98±0,01[i]

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. [a-i]: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Literatürde, nanokilin oluşturduğu kıvrımlı yolun etkisi ile materyalin su buharı geçirgenliği değerlerinde azalma sağlandığı bildirilmiştir. Buna göre plastikleştirilmiş nişastaya modifiye edilmemiş Mt (%1-3-6) eklenerek üretilen nanokompozitlerde, yapıya eklenen Mt içeriğinin artması ile su buharı geçirgenliğinde önemli azalmalar elde edilmiş olup, %6 Mt seviyesinde su buharı geçirgenliği kontrol örneğine kıyasla 2,1 kat azalmıştır [143]. Wang vd. [144] termoplastik nişasta filmlerine %1, 3, 5, 7 ve 9 oranlarında modifiye edilmemiş veya sitrik asit ile modifiye edilmiş MMT ilave ederek su buharı geçirgenliği sonuçlarını araştırmışlardır. Nişasta yapısında bulunan hidrofilik hidroksil grupları nedeniyle su buharı termoplastik nişasta filminden kolayca geçebilmekte, ancak yapıya eklenen kil sayesinde polimer matriksinde labirent benzeri dolambaçlı yollar oluşmakta ve su moleküllerinin geçişini engellenmektedir. Ayrıca nişasta molekülünün açıkta kalan hidroksil gruplarının matrikste homojen dağılmış MMT katmanlarıyla kaplanması ile nanokompozitin suya duyarlılığı da azalmaktadır. Modifiye edilmiş MMT eklenen nanokompozitlerin WVP değerlerinde daha düşük seviyeler ($2,0\times10^{-10}$ $g \cdot m^{-1} \cdot s^{-1} \cdot Pa^{-1}$) elde edildiği raporlanmıştır. Bu tez çalışmasında organokil eklenmiş nanokompozitlerin WVP sonuçları Wang vd.

[144] tarafından raporlanan değerlerle oldukça yakın olup, özellikle nanokil eklenen nanokompozitlere kıyasla daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.15). Bu durum, MMT nanodolgusuna gerçekleştirilen modifikasyon işleminin etkinliğini ortaya koymaktadır.



Şekil 4.15 TPS esaslı film materyallerinin su buharı geçirgenliği (WVP)

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

- **Oksijen Geçirgenliği**

Nanokompozit filmler ile korunan yağlara ait peroksit değerleri (dolaylı olarak oksijen geçirgenliği) Tablo 4.12 ve Şekil 4.16'da verilmiştir. Peroksit sayısı en çok olan yağ numunesi herhangi bir film örneği ile kaplanmayan şahit numunesi (47,00±0,96 meq O_2/kg yağ) olmuşken, şahit örneğine en yakın PV sonucu yapısında nanokil bulunmayan kontrol filmi (N) vermiştir. Kontrol örneği ile kaplanmış yağ örneğine göre kil ilave edilen materyallerin PV değerlerinde %7-29 oranında azalma elde edilmiştir. Bu sonuç film yapısına eklenen nanokil veya organokilin ortamdaki oksijenin test hücresi içerisine geçişi yavaşlattığını ve bariyer özelliği gösterdiğini kanıtlamaktadır [71]. Azalma miktarı özellikle organokil içeren nanokompozitlerde (N-CTAB-oMt ve N-Tween-oMt) nanokil içerenlere (N-Mt) kıyasla daha fazla olmuştur. Nanodolgu oranının %1 düzeyinden %3'e arttırılması, PV değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($p<0,05$) sağlamıştır. Nanokil oranının materyal yapısın %3'den %5'e çıkarılması ise PV sonuçlarında bir artışa neden olmuş; bu artış, dolaylı olarak oksijen geçirgenliğinin yükseldiğini göstermiştir. Buna göre, yapısında sürfaktan bulunmayan nanokilin

%5 seviyesinde TPS matriksine eklenmesi, yapıda nanopartiküllerin topaklanmasına neden olarak değerlerin yükselmesine yol açmıştır. İstatistiksel olarak en düşük PV sonuçlarının elde edildiği organokil ilave edilen nanokompozitlerin %3 ve %5 seviyeleri için önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

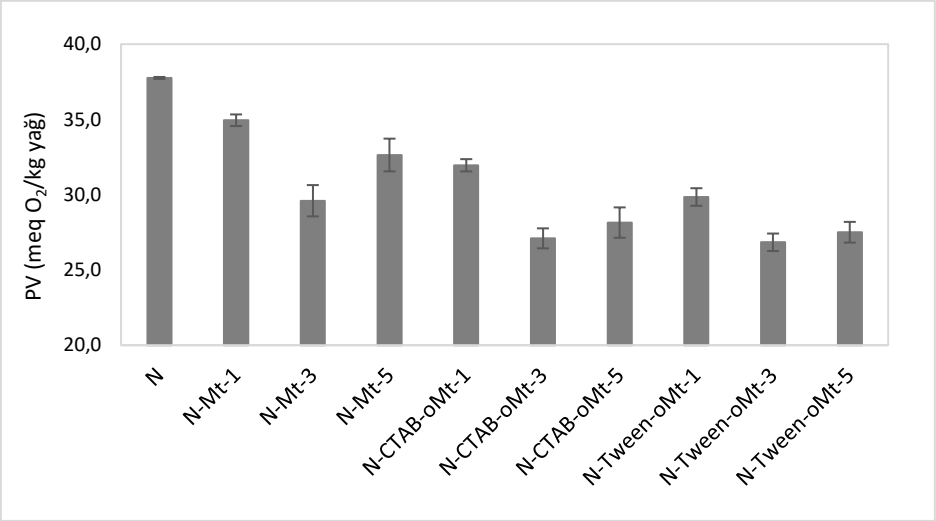
Tablo 4.12 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmler ile korunan yağ örneklerine ait peroksit değerleri (PV)

Film Materyali	PV (meq O_2/kg yağ)
N	$37,75\pm0,07^{a}$
N-Mt-1	$34,95\pm0,39^{b}$
N-Mt-3	$29,60\pm1,04^{d}$
N-Mt-5	$32,64\pm1,09^{c}$
N-CTAB-oMt-1	$31,95\pm0,41^{c}$
N-CTAB-oMt-3	$27,10\pm0,66^{e}$
N-CTAB-oMt-5	$28,15\pm1,01^{e}$
N-Tween-oMt-1	$29,85\pm0,58^{d}$
N-Tween-oMt-3	$26,84\pm0,58^{e}$
N-Tween-oMt-5	$27,51\pm0,69^{e}$

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a\text{-}e}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Literatürde Memiş vd. [145] tarafından gerçekleştirilen çalışmada %2,5, 5,0 ve 7,5 seviyelerinde nanokil (MMT, HNT ve ticari organokil) eklenmiş çemenotu gamı esaslı filmler üretilerek ayçiçek yağı içeren tüplerin ağız kısımları bu malzemeler ile kaplanmıştır. 60°C'de 9 günlük depolama sonunda PV analizi sodyum tiyosülfat titrasyonu ile belirlenmiştir. Yapısına nanokil ilave edilmemiş kontrol materyali için PV sayısı 36,37 meq/kg olurken, nanokil ilavesi ile üretilen nanokompozitler için 13,89-28,49 meq/kg arasında değişiklik göstermiştir. En düşük sonuçlar, ticari organokil ilave edilmiş filmler ile %5,0 seviyesine kadar MMT ve HNT nanokili içeren filmlerde elde edilmiştir. Bu kapsamda, genel olarak %5,0 seviyesine kadar oksijen geçirgenliğinde elde edilen azalma, nanokil ilavesi ile güçlendirilmiş filmlerde daha yoğun ve kompakt bir materyal yapısının elde edildiğinin göstergesi olarak yorumlanmıştır. Khezrian & Shahbazi [146] farklı seviyelerde uçucu yağ

içeren montmorillonit-kitosan (MMT-Ch) ve montmorillonit-karboksimetil selüloz bazlı gıda ambalaj filmleri ile ambalajlanmış kıyma deve etinde, oksidatif acılaşmasının bir göstergesi olarak peroksit değeri değişimini incelemişlerdir. Depolama süresince et örneklerindeki PV artışı, mikrobiyal enzimatik hidrolizle oluşan ve oksidasyona son derece yatkın serbest kısa zincirli yağ asitlerinin üretilmesinden kaynaklanmakta olup, bu yağ asitleri kararsız lipit hidroperoksitlerin oluşumuna neden olmaktadır. Çalışmada, kontrol örneğine kıyasla uçucu yağ içermeyen saf MMT-Ch filmleri ile kaplanan et örneklerinde birincil lipit oksidasyon ürünlerinin oluşumunun önemli ölçüde gecikdiği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada biyomatrikse çinko oksit (ZnO) nanoçubuklarının katılımıyla nişasta esaslı ve jelatin esaslı biyonanokompozit filmlerde oksijen geçirgenliği (OP) için benzer sonuçlar raporlanmıştır. Buna göre, nişasta esaslı nanokompozitlerde %14-40, jelatin esaslı nanokompozitlerde ise %9-54 aralığında OP katsayısının azaldığı belirtilmiştir. İnorganik ZnO nanoçubukların biyokompozit matrikse kıyasla suya daha dirençli olması nedeniyle, matrikse katılmalarının oksijen moleküllerinin geçişi için dolambaçlı bir yol oluşturduğu açıklanmıştır [132].



Şekil 4.16 Termoplastik nişasta esaslı filmler ile kapatılmış ayçiçek yağlarının peroksit değerleri (PV)

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

Materyallerin bariyer özelliklerindeki gelişmenin en yaygın kabul gören açıklaması Nielsen teorisidir [147]. Bu teoriye göre, matriks içindeki kil gibi nanodolgular sıvı

veya gaz moleküllerine karşı geçirimsiz olduğundan materyal boyunca nüfuz eden moleküller (migrant, penetrant) nanodolguların etrafından dolanmak zorunda kalmakta ve bu durum bu moleküllerin izlediği difüzyon yolunun karmaşık (tortuosity) hale gelmesine yol açıp geçirgenliği azalmakta ve böylece bariyer özelliklerinde iyileşmeler elde edilebilmektedir [15], [24], [132].

- **Su Absorpsiyon Kapasitesi ve Suda Çözünürlük Özellikleri**

TPS esaslı nanokompozitlere ait su absorpsiyon kapasitesi ve suda çözünme analiz değerleri Tablo 4.13'te ve Şekil 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.13 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmlerin su absorpsiyon kapasitesi (W_a) ve suda çözünürlük (W_s) sonuçları

Film Materyali	W_a (%)	W_s (%)
N	120,6±2,0^{a}	40,8±0,4^{a}
N-Mt-1	89,6±1,5^{b}	29,5±0,3^{b}
N-Mt-3	82,6±5,2^{cd}	23,8±0,9^{de}
N-Mt-5	81,4±1,2^{d}	24,0±0,6^{d}
N-CTAB-oMt-1	85,7±1,7^{bc}	27,0±0,3^{c}
N-CTAB-oMt-3	76,6±2,9^{e}	21,9±2,4^{ef}
N-CTAB-oMt-5	75,8±1,7^{e}	23,5±0,2^{de}
N-Tween-oMt-1	76,0±1,2^{e}	24,9±0,3^{d}
N-Tween-oMt-3	70,2±0,9^{f}	20,3±1,7^{f}
N-Tween-oMt-5	69,6±2,2^{f}	20,6±1,2^{f}

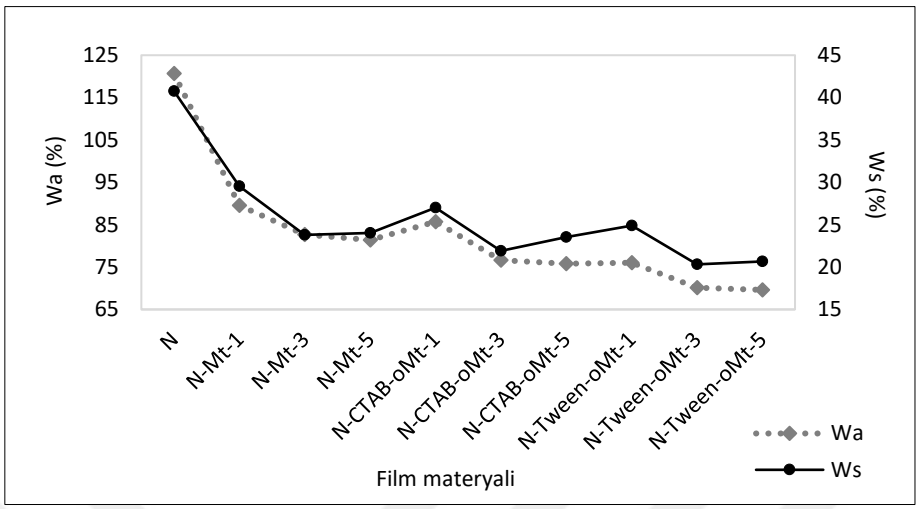
Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-f}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Biyopolimer yapısına farklı oranlarda kil ilavesi kontrol filmine (N) kıyasla W_a değerlerinde önemli ölçüde (yaklaşık %26-42) azalma sağlamıştır. Bu azalma, polimer ve nanopartiküller arasındaki etkileşimden kaynaklanmaktadır. Yapıdaki kil varlığı sayesinde serbest su molekülleri ile nanokompozit filmler daha zayıf etkileşim göstermiştir [148]. Modifiye kil içermeyen nanokompozit filmler (N-Mt), organokil içeren filmlere göre genel olarak daha yüksek W_a değerleri sergilemiştir. Kilin modifikasyonu ile silikat tabakaları arasındaki boşluklar artmış ve polimer yapısındaki nanoparçacıkların dağılımı daha homojen hale gelmiştir. Nanodolgu

oranının %1 ve %3 seviyelerinde olması su absorpsiyon kapasitesinde önemli bir azalma sağlarken, %3'ten %5'e çıkarılması yalnızca küçük bir azalma sağlamış ve bu iki seviye arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). En düşük su absorpsiyon değeri (%69,6) N-Tween-oMt örneğinde elde edilmiştir.

Literatürde yer alan bir çalışmada nişasta/Mt nanokompozit filmlerde su difüzyonunu incelenmiş ve yapıya nanokil eklenmesi ile su absorpsiyon kapasitesinin düştüğünü raporlanmıştır. Bu azalmaya, nişasta matriksi ile kilin silikat tabakaları arasında oluşan hidrojen bağları ve matrikste nanokillerin oluşturduğu dolambaçlı yollardan kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Yapısal modifikasyonlar su moleküllerinin nanokompozit materyal boyunca difüzyonunu azaltmakta ve böylece su absorpsiyon kapasitesi düşmektedir [149]. Başka bir çalışmada, Mt eklenmiş termoplastik nişasta yapısına su alım özellikleri değerlendirilmiştir. Kontrol film materyali, nanokompozitlere kıyasla en yüksek su hassasiyetine sahip olmuş ve yapıya nanokil eklenmesi ile materyallerin hidrofilikliği önemli ölçüde azalmıştır. Nanodolguların polimerde homojen bir şekilde dağılımı, OH grupları ile silikat tabakaları arasında daha fazla etkileşime girmesine neden olarak su absorpsiyonu (nem emilimi) için daha az erişilebilir hale gelmelerine yol açmaktadır. Ayrıca çalışmada matrikste su absorpsiyonunu etkileyen iki moleküler kuvvetten (polimer-plastikleştirici ve kil-plastikleştirici etkileşimleri) bahsedilmiştir. Ancak nanokil tabakalarının polimerdeki dağılımı, plastikleştirici gibi neme duyarlı grupların varlığından daha fazla etki göstererek malzemenin suya duyarlılığını değiştirdiği belirtilmiştir [150]. Abdullah & Dong [98], farklı konsantrasyonlarda HNT kili içeren nişasta/polivinil alkol matriksinde, nanoparçacık konsantrasyonunun artışı ile su absorpsiyon kapasitesinde önemli derecede azalma elde etmişlerdir. Ancak belirli bir HNT seviyesine ulaştıktan sonra, W_a değerinde neredeyse sabit veya küçük bir azalma gözlemlenmiş olup, benzer trend bu tez çalışmasında da elde edilmiştir. Bu duruma neden olarak, nanodolgunun polimer matriksindeki homojen olmayan dağılımından dolayı olduğu belirtilmiştir. Tez çalışmasında, organokil içeriğinin %1 ve %3 seviyeleri için kontrol filmine kıyasla su absorpsiyon kapasitesinde istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0,05$) elde edilirken, %3'ten %5 seviyesine arttırılması ile görülen azalma bu iki seviye arasında istatistiksel olarak fark bulumamıştır. Yüksek kil

konsantrasyonlarında nanodolgunun polimerde homojen dağılmaması sonucu oluşan topaklanma, bu duruma neden olabilmektedir.



Şekil 4.17 Termoplastik nişasta esaslı film materyallerinin su absorpsiyon kapasitesi (W_a) ve suda çözünürlüğü (W_s)

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

W_s analizinde, matrikse %1 ve %3 seviyelerinde kil eklenmesi sonuçları istatistiksel olarak önemli ölçüde ($p<0,05$) etkilemiştir. Kontrol materyali en yüksek suda çözünürlük değerini (%40,8) göstermiş olup, bu durum polimer yapısında su molekülleri ile etkileşime girebilecek çok sayıda serbest hidroksil grubunun bulunmasıyla açıklanabilir [98]. Biyopolimere kil eklenmesi ile W_s değerlerinde yaklaşık %28-50 arasında azalma elde edilmiştir. %1 ve %3 seviyesi için yapısında organokil içeren nanokompozitler (N-CTAB-oMt ve N-Tween-oMt), aynı seviyede modifiye kil içermeyen nanokompozite (N-Mt) kıyasla daha düşük suda çözünürlük sonuçları göstermiştir. Bu sonuç, organomodifikasyon için kullanılan sürfaktanların bu seviyedeki nanopartiküllerin interkalasyon veya eksfoliasyonuna yardımcı olduğunu ve bu durumun daha homojen nanokompozit yapısı ile sonuçlandığını göstermektedir. Çalışmada istatistiksel olarak, %3 organokil içeren nanokompozitler en düşük W_s değerleri sergilemiştir. Nişasta esaslı nanokompozitlerin hidrofobikliği, matrikse kil nanodolgularının eklenmesi sonucunda yapıdaki OH gruplarının hidrofobik fonksiyonel gruplarla yer değiştirmesiyle elde edilmiştir [30]. Pek çok biyopolimer suya karşı oldukça hassas olduğundan, biyopolimer kompozitlerin potansiyel uygulamalarının

belirlenmesinde bu durum kritik önem oynayabilmektedir [148]. Suda çözünürlük analizinde su molekülleri matriks boyunca penetre olurken, biyopolimerin boyutu değişebilmekte ve çözünebilir bileşenler yapıdan uzaklaşabilmektedir [149]. Kil nanopartiküllerinin polimerde optimum konsantrasyonunda suya daldırma sırasında çözünen madde miktarında azalma sağlanmaktadır [98].

Literatürdeki çalışmalarda da benzer şekilde yapıya nanodolgu olarak kil eklenmesi sonucunda W_s değerinde azalma elde edildiği raporlanmıştır [98], [151]. Tez çalışmasında organokil oranı %1 ve %3 seviyelerinde olması suda çözünürlük sonuçlarını önemli ölçüde azaltırken; %3 ve %5 oranları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu durum, nanoparçacık topaklanmasına ve bunun sonucunda materyalin suya karşı gösterdiği direncin azalmasına bağlı olarak açıklanabilir [98]. Benzer eğilim, su absorpsiyon kapasitesi sonuçlarıyla da desteklenmektedir.

- **Su Temas Açısı (Yüzey Hidrofilikliği)**

Termoplastik nişasta esaslı film örneklerinin su temas açısı analizi sonuçları Tablo 4.14'te verilmiş ve en hidrofobik ile en hidrofilik örneklere ait görüntüler Şekil 4.18'de sunulmuştur. Sonuçlar 90°'den küçük olmakla beraber, yapısında kil içermeyen kontrol filmi en düşük WCA değerini (22,82±2,90°) sergilemiştir. Nanokompozit ambalaj filmleri kontrol materyaline göre daha hidrofobik bir yüzeye sahip olmuştur. Yapıdaki kil varlığı, filmlerin hidrofilik doğasını azaltmıştır. Nanoparçacıkların nişasta biyopolimerine eklenmesi, film yüzeyindeki hidrofobikliği artırmış ve WCA değerlerini yükseltmiştir [90], [152]. En yüksek WCA sonuçları, organokil içeren film örneklerinde elde edilmiştir. Bu değişim, esas olarak organokilin filmde homojen dağılması sonucunda oluşturduğu yoğun ve pürüzlü yüzey yapıdan kaynaklanmaktadır. Söz konusu bu yapı, su damlaları ile katı film yüzeyi arasındaki temas alanını azaltarak yüzey hidrofobikliğini arttırmakta ve ıslanabilirliği düşürmektedir [153]. %5 seviyesinde organokil içeren nanokompozit filmlerin temas açısı sonuçları incelendiğinde, %3 seviyesindeki örnekler için yapıda katyonik sürfaktan varlığında düşük çıktığı, non-iyonik sürfaktan için ise istatistiksel olarak farklı çıkmadığı ($p>0,05$) görülmüştür. Bununla beraber %5 seviyesinin temas açısı sonuçları yapısında kil içermeyen kontrol materyaline göre önemli ölçüde yüksek olduğundan ($p<0,05$), kil tabakalarının film yüzeyinde bulunduğu sonucuna varılabilmektedir. Ancak, temas

açısının %3 seviyesinde katyonik sürfaktanın bulunduğu organokil içeren filmlere kıyasla daha düşük olması, kil dağılımının daha az etkili olduğuna işaret etmektedir [154].

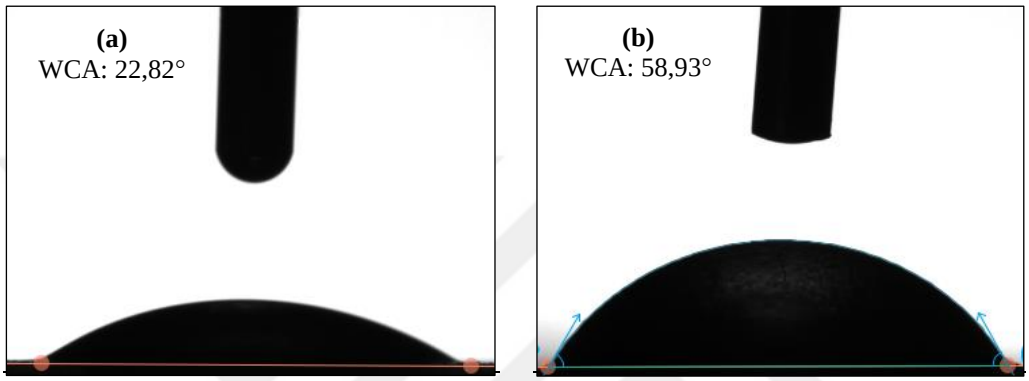
Tablo 4.14 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit filmlerin su temas açısı (WCA) değerleri

Film Materyali	WCA (°)
N	22,82±2,90^{g}
N-Mt-1	25,05±1,97^{fg}
N-Mt-3	27,50±1,73^{f}
N-Mt-5	38,12±3,10^{cd}
N-CTAB-oMt-1	35,21±4,73^{de}
N-CTAB-oMt-3	58,93±5,15^{a}
N-CTAB-oMt-5	43,79±2,79^{b}
N-Tween-oMt-1	32,63±4,23^{e}
N-Tween-oMt-3	42,21±2,83^{bc}
N-Tween-oMt-5	44,22±2,65^{b}

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-g}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Elde edilen sonuçlar, montmorillonit kilinin nişasta filmlerde su temas açısı değerlerini artırıcı etkilerini gösteren literatürdeki çalışmalarla uyum içindedir. Örneğin Wilpiszewska vd. [154] tarafından gerçekleştirilen çalışmada karboksimetil nişastaya %1, 3, 5 ve 7 seviyelerinde kalsiyum montmorillonit (MMT-Ca) kili eklenerek biyobozunur filmler elde edilmiştir. Yapıya MMT-Ca ilavesi ile temas açısı sonuçlarının artış gösterdiği ve malzeme yüzeyinin daha hidrofobik olduğu belirtilmiştir. En yüksek oranda (%7) MMT-Ca ilave edildiğinde, temas açısı değeri %5 seviyede kil içeren malzemeden daha düşük çıkmıştır. Bu duruma neden olarak en yüksek kil seviyesinde nanopartikülün materyalde dağılımının daha az olması şeklinde belirtilmiştir. Heydari vd. [155] yaptıkları çalışmada gliserol ile plastikleştirilmiş mısır nişastası esaslı filmlerinde, montmorillonit nanopartiküllerin kullanımıyla beraber temas açısı sonuçlarını arttığını ve böylece hidrofilikliğin azaldığını ortaya koymuştur. İlgili çalışmada incelenen %2,5 ve %5 nanokil seviyelerini içeren materyallerin temas açısı analiz

sonuçlarında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Başka bir çalışmada ise termoplastik mısır nişastası yapısına modifiye edilmemiş kil (Na^+MMT) veya organofilik kil (Cloisite 30B) farklı seviyelerde katılarak temas açısı ölçümü gerçekleştirilmiştir. Her iki durumda da, kil içeriği arttıkça film örnekleri için temas açısı değerlerinin yükseldiği raporlanmıştır. Ayrıca hidrofobiklik açısından Cloisite 30B organokilinin en etkili olduğu ve organik olarak modifiye edilmiş kilden en yüksek oranda katılmış nanokompozitlerde WCA sonuçlarının en yüksek değerine ulaştığı belirtilmiştir [156].



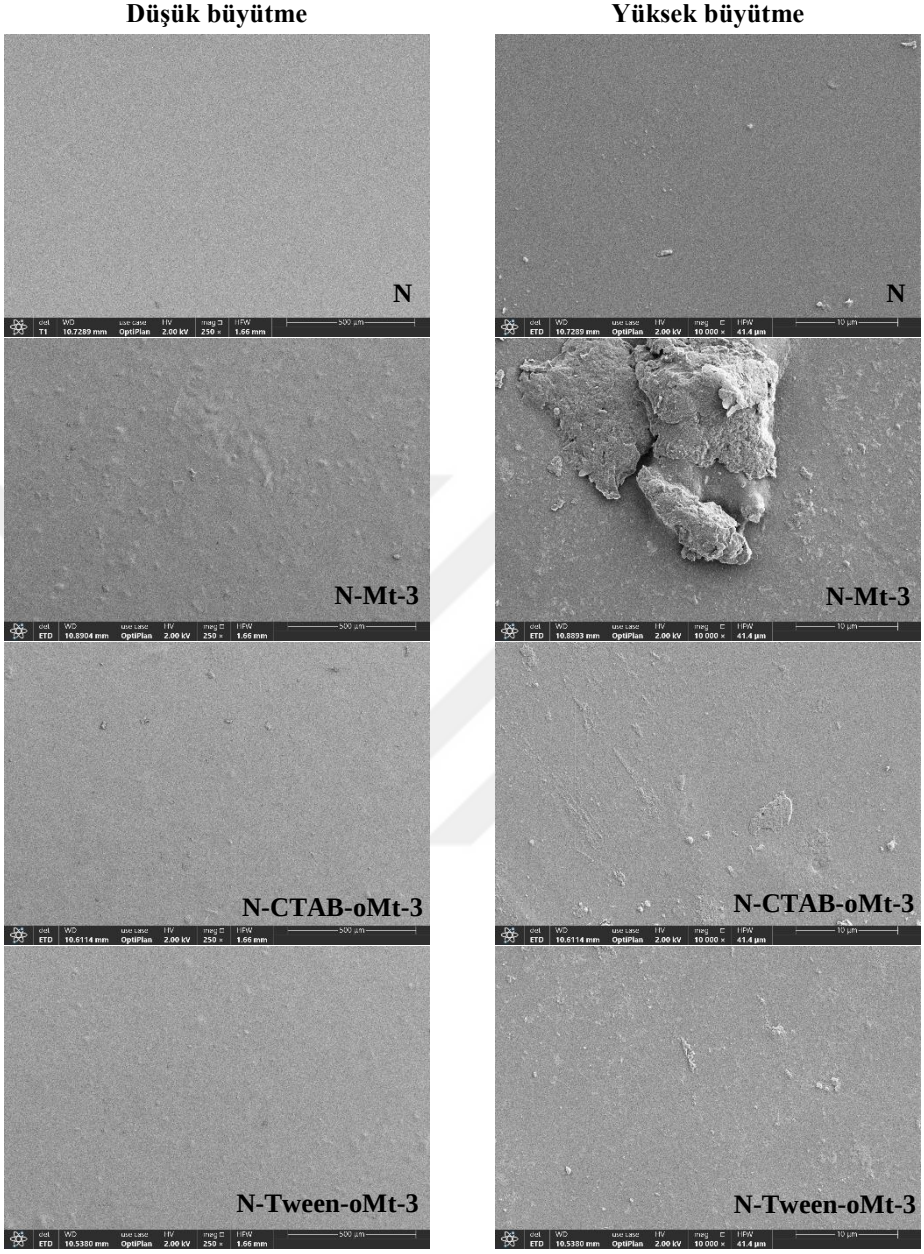
Şekil 4.18 Termoplastik nişasta esaslı (a) en hidrofilik (N) ve (b) en hidrofobik (N-CTAB-oMt-3) filmlere ait su temas açısı görüntüleri

N: Kil içermeyen kontrol filmi, N-CTAB-oMt-3: Katyonik sürfaktan eklenmiş organokilden %3 seviyesinde içeren film.

4.2.1.6 Filmlerin Yüzey Morfolojisi

Karakterizasyon analizlerinde en iyi sonuçların elde edildiği %3 seviyesinde modifiye veya modifiye edilmemiş kil içeren TPS esaslı nanokompozitlerin yüzey morfolojisini incelemek ve kil dağılımını belirleyebilemek amacıyla gerçekleştirilen SEM analizinde elde edilen mikrograflar Şekil 4.19'da verilmiştir. Nişasta esaslı filmlerin yapısına plastikleştirici ilave eklendiğinde, jelatinizasyon sırasında kayma gerilimi ve ısı etkisi ile beraber plastikleştiricinin nişasta granülleri içerisine nüfuz ederek, gözenek veya çatlak içermeyen homojen yüzeyler elde edildiği bilinmektedir. Plastikleştirici kullanılmadığında amiloz molekülleri kırılgan filmler oluşturmaktadır [157], [158]. Mevcut çalışmada kontrol filmine (N) ait SEM görüntülerinde homojen ve pürüzsüz bir yapı elde edilmiştir. Nanokompozitlere ait mikrograflarda özellikle organokiller, bazı aglomeratlar halinde bulunmakla birlikte, film matriksleri (N-CTAB-oMt-3 ve N-Tween-oMt-3) içinde iyi bir dağılım sergilemiştir. Buna karşılık, aynı konsantrasyonda modifiye

edilmemiş kil içeren nanokompozitte (N-Mt-3) homojen olmayan yoğun topaklanmış yapılar ve pürüzlü yüzey, düşük büyütmede bile oldukça belirgindir.



Şekil 4.19 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit film yüzeylerinin düşük (250x) ve yüksek (10.000x) büyütmedeki SEM mikrografları

N: Kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt-3: Modifiye edilmemiş kilden %3 seviyesinde içeren film, N-CTAB-oMt-3: Katyonik sürfaktan eklenmiş organokilden %3 seviyesinde içeren film, N-Tween-oMt-3: Non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokilden %3 seviyesinde içeren film.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde Kampeerapappun vd. [159] nişasta matriksinde Mt kil partiküllerinin homojen olarak dağılımını sağlamak amacıyla uyumlaştırıcı ajan olarak kitosan ilave etmişlerdir. SEM analizinde kil agregatları beyaz noktalar şeklinde görülmüştür. Saf Mt ilave edilmiş materyalde büyük kil

agregatları gözlenirken, uyumlaştırıcı ajan ile muamele edilmiş Mt içeren filmlerde kil partiküllerinin çok daha küçük boyutlarda ve homojen bir şekilde dağıldığı belirtilmiştir. Başka bir çalışmada, biyobozunur özellikteki polikaprolakton polimerine modifiye ve modifiye edilmemiş MMT ve HNT nanokilleri katılarak elde edilen nanokompozit filmlerin SEM analizi gerçekleştirilmiştir. Mikrograflarda beyaz noktalar ve düz çubuklar halinde görülen sırasıyla MMT ve HNT nanokillerinin, özellikle modifiye edilmemiş kil içeren filmlerde daha belirgin olduğu belirtilmiştir. Organomodifikasyon işleminin polimerde kil dağılımının homojen olmasına katkı sağladığı ve aglomerasyon eğilimini azalttığı belirtilmiştir [71].

Çalışmada organomodifikasyon işleminde kil yapısına katılan katyonik ve non-iyonik sürfaktanlar, kil yüzeyinde kolayca adsorbe olarak Mt kil tabakalarının ayrışmasını teşvik etmiş ve nişasta matriksinde daha homojen bir dağılım sağladığı SEM analizi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak modifiye edilmiş montmorillonit, jelatinizasyon sıcaklığında karıştırma sırasında uygulanan kayma kuvveti altında daha küçük partiküllere ayrışarak kilin daha iyi dağıldığı hibrit materyallerin oluşmasını sağlamıştır.

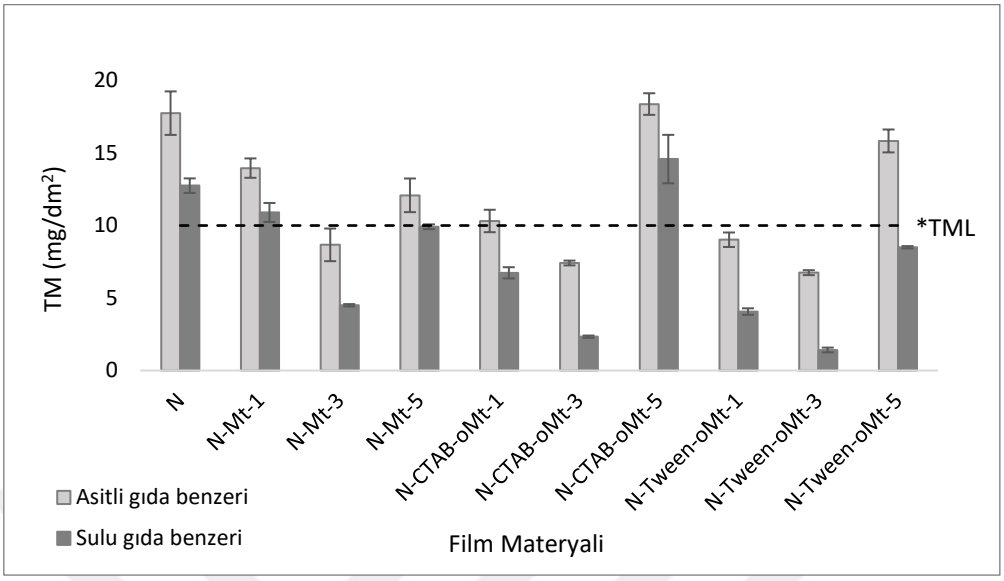
4.2.2 Filmlerin Migrasyon Özellikleri

Termoplastik nişasta esaslı nanokompozitlerin toplam ve spesifik migrasyon özellikleri incelenmiştir.

4.2.2.1 Toplam Migrasyon Değerleri

Materyallerin farklı gıda benzerleri (asitli, sulu ve yağlı) ile toplam migrasyon analizinde elde edilen bulgular Tablo 4.15'te özetlenmiştir. Yapıya %3 oranında kil eklenmesi ile **asitli gıda benzerinde** TM değerleri düşüş eğilimi sergilemiştir. En düşük sonuçlar %3 seviyesinde organokil içeren film materyallerine (N-CTAB-oMt-3 ve N-Tween-oMt-3) ait olup, mevzuatın toplam migrasyon analizinde plastik madde ve malzeme bileşenlerinin gıda benzerlerine geçiş için izin verilen maksimum 10 mg/dm^2 limit değerinin [41] altında çıkmıştır (Şekil 4.20). **Sulu gıda benzeri** ile gerçekleştirilen analiz sonuçları asidik olana kıyasla daha düşük elde edilmiştir. Yapıya %3 seviyesinde kil eklenmesi TM sonuçlarını mevzuat limitinin altına düşmesini sağlamıştır. En düşük sonuçlar %3 seviyesinde organokil içeren

film materyalleri için elde edilmiş olup, konsantrasyonun %5'e çıkarılması yapıdaki olası topaklanma ile TM sonuçlarında artışa neden olmuştur.



Şekil 4.20 Termoplastik nişasta esaslı film materyallerinin asitli ve sulu gıda benzeri ile toplam migrasyon (TM) değerleri

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. *TML: Toplam migrasyon limiti.

Yağlı gıda benzeri %95 etil alkol için TM0 koşullarında kontrol filmi hariç olmak üzere LOD seviyesinin altında TM değerleri elde edilmiştir. Analiz 60°C'de 2 saat olacak şekilde daha zorlu test koşullarında yenilenmiştir. Buna göre N-CTAB-oMt film materyalleri için %3 ve %5 organokil seviyesinde, N-Tween-oMt örnekleri için çalışılan tüm organokil seviyelerinde mevzuat limitinin altında sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçların nanokil içeren film materyalleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak da daha düşük olması, organomodifikasyon işleminin yağlı gıda benzeri ile toplam migrasyon analiz sonuçlarına etkisini ortaya koyması açısından önem taşımaktadır. **Yağlı gıda benzeri izooktan** ile 40°C-30 dk test koşullarında gerçekleştirilen migrasyon çalışması sonucunda LOD seviyesinin altında değerler elde edildiğinden, 60°C'de 1 saat olacak şekilde analiz yeniden gerçekleştirilmiştir. Daha zorlu test koşulu altında yapısında kil içermeyen kontrol materyali dışında nanokompozit filmlerin tümünde tespit edilebilir düzeyin altında sonuçlar hesaplanmıştır. Bu durum yapıya eklenen nanokil veya organokilin, yağlı gıda benzeri izooktan için toplam migrasyon miktarını azaltmadaki etkisini ortaya koymaktadır. TPS polimerinin esas olarak hidrofilik bir yapıya sahip olması, yağlı

gıdaları temsil eden %95 etil alkol ve izooktanın hidrofobik özellik göstermesi nedeniyle, asitli ve sulu gıda benzerlerine kıyasla daha düşük TM sonuçlarının elde edilmesini sağlamıştır. Böylece yağlı gıda benzerleri için LOD seviyesinin altında sonuçlar çıkmıştır.

Literatür incelendiğinde, bu çalışmada ile benzer şekilde polimere belirli bir seviyeye kadar nanokil ilavesinin toplam migrasyonu azaltabildiği görülmüştür. Abdullah & Dong [98] gerçekleştirdikleri çalışmada nişasta/polivinil alkol matriksine farklı seviyelerde (%0,25, 0,50, 1, 3, 5) HNT kili ekleyerek biyobozunur nanokompozit filmleri üretmişlerdir. Elde edilen filmlerin 40°C'de 10 gün test koşulunda hidrofilik (%10 etil alkol, simulant A), lipofilik (%50 etil alkol, simulant D1) ve asidik (%3 asetik asit, simulant B) gıda benzerleri ile toplam migrasyon özellikleri incelenmiştir. Simulant A ile %1 ve %3 kil seviyelerinde regülasyon limitinin altında TM sonuçları elde edilmiştir. Filmlerin hidrofilik yapısı, hidrofilik simülant içerisindeki çözünürlüklerini arttırabilmektedir. Matrikse hidrofobik HNT nanodolgusunun ilavesi, simulant A'da toplam migrasyonu azaltmış ve nanokompozitlerin sulu gıdalarda çözünürlüğünü düşürmüştür. Ayrıca polimer matriksi ile nanokil arasında arayüzey bağların varlığı, simulant A'ya doğru gerçekleşen kütle transferini sınırlamıştır. %5 HNT ilavesi ile yapıda topaklanmadan kaynaklı toplam migrasyon seviyelerinde artış görüldüğü raporlanmıştır. Bu tez çalışmasında benzer şekilde sulu gıda benzeri için %3 kil seviyesinde yasal limitin altında TM sonuçları elde edilirken, %5 seviyesine çıkıldığında yapıdaki topaklanmalardan kaynaklı migrasyon sonuçlarında artış görülmüştür. Simulant D1 ile sulu gıda benzerine kıyasla daha düşük sonuçlar elde edilmiş olup, tez çalışmasında da benzer şekilde nanokompozit filmler yağlı gıda benzerleri ile yapılan daha zorlu test koşullarında dahi sulu gıda benzerinden düşük sonuçlar göstermiştir. Ayrıca Abdullah & Dong [98] tarafından simulant B ile elde edilen sonuçlar, tez çalışmasından farklı olarak en düşük migrasyon oranları olduğu raporlanmıştır. Güncel mevzuatlara göre %3 asetik asit hidrofilik karaktere sahip gıdalar için de kullanılabilmektedir [40], [57]. Tez çalışmasında, matrikse %3 seviyesinde nanokil veya organokil ilavesiyle nişastanın hidrofilik özelliğinde meydana gelen azalma sonucunda, hem asidik hem de hidrofilik simülanlarında toplam migrasyonun azaldığı açıkça görülmüştür. Cano vd. [160], bezelye nişastası/polivil alkolden oluşan matrikse farklı konsantrasyonlarda (%1, 3, 5)

selüloz nanokristalleri (CNC) ilave ederek ürettikleri nanokompozit filmlerde polar özellikteki %10 etil alkol ve apolar özellikteki izooktan gıda benzerleri ile toplam migrasyon testleri gerçekleştirmiştir. %10 etil alkol ile yapılan migrasyon testinde, kontrol ve nanokompozit filmler arasında %5 CNC içeren filmler hariç anlamlı bir farkın olmadığı belirtilmiştir. %5 CNC içeren filmler daha yüksek migrasyon değerleri göstermesine rağmen, migrasyon değerleri yasal limitin altında kalmıştır. Benzer şekilde, tez çalışmasında da polimerdeki kil oranının %3'ten %5'e artırılmasıyla birlikte TM değerlerinde artış eğilimi gözlemlenmiştir. Ayrıca Cano vd. [160] izooktan simülantı ile toplam migrasyon çalışmalarında en yüksek migrasyon değerini kontrol filminde elde etmiş ve bu değerlerin, %10 etanol simülanında gözlemlenen değerlerden yaklaşık 100 kat daha düşük olduğu belirtilmiştir. Film yapısına CNC ilavesi, izooktandaki migrasyon seviyelerinde yaklaşık %70 oranında azalma sağlamıştır. Kontrol ve CNC içeren nanokompozit malzemelerin bu gıda benzerlerindeki farklı migrasyon davranışı, CNC'nin hidrofilik ve polar doğasına bağlanmıştır. Böylece CNC ilavesi, hidrofobik ve apolar bir ortam olan izooktana doğru gerçekleşen toplam migrasyonu etkin bir şekilde azaltmıştır [160].

Tablo 4.15 Termoplastik nişasta esaslı film materyallerine ait toplam migrasyon değerleri (mg/dm^2)

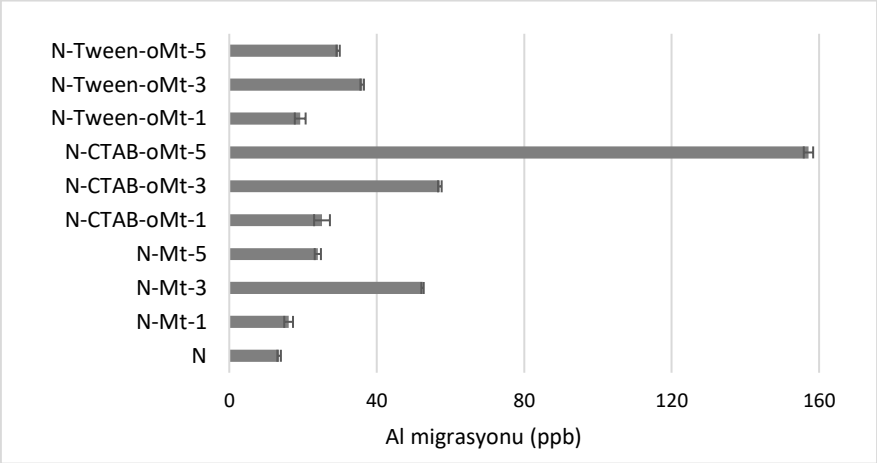
Film Materyali	Asitli Gıda Benzeri	Sulu Gıda Benzeri	Yağlı Gıda Benzerleri			
			%95 Etil Alkol		İzooktan	
	TM0	TM0	TM0	TM3	TM0	TM4
N	17,75±1,50^{a}	12,75±0,50^{b}	5,11±0,51	20,67±1,45^{a}	< LOD	2,06±0,19
N-Mt-1	13,96±0,67^{c}	10,90±0,66^{c}	< LOD	13,22±1,64^{b}		< LOD
N-Mt-3	8,67±1,13^{fg}	4,50±0,08^{f}		5,67±0,88^{de}		
N-Mt-5	12,08±1,16^{d}	9,92±0,17^{c}		12,78±0,19^{b}		
N-CTAB-oMt-1	10,31±0,77^{e}	6,74±0,39^{e}	< LOD	10,44±0,77^{c}		< LOD
N-CTAB-oMt-3	7,42±0,17^{gh}	2,33±0,08^{h}		3,00±0,33^{fg}		
N-CTAB-oMt-5	18,38±0,75^{a}	14,58±1,67^{a}		4,44±0,69^{ef}		
N-Tween-oMt-1	9,02±0,50^{ef}	4,07±0,23^{f}	< LOD	6,22±0,77^{d}		< LOD
N-Tween-oMt-3	6,75±0,17^{h}	1,42±0,17^{h}		2,11±0,19^{g}		
N-Tween-oMt-5	15,83±0,79^{b}	8,50±0,08^{d}		3,89±0,51^{f}		

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. TM0: 40°C-30 dakika temas koşulu, TM3: 60°C-2 saat temas koşulu, TM4: 60°C-1 saat temas koşulu, LOD: Tespit limiti (1 mg/dm^2). Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-h}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

4.2.2.2 Spesifik Migrasyon Değerleri

Termoplastik nişasta esaslı filmlere ait element spesifik migrasyon analizinde elde edilen değerler Tablo 4.16'da özetlenmiştir. **Alüminyum** migrasyonunda en düşük değer kontrol örneğine ait olup, nanokompozit malzemelere ait sonuçlar istatistiksel olarak birbirinden farklı elde edilmiştir ($p<0,05$). Kontrol örneğine kıyasla Al migrasyonu N-Mt filmlerinde 1,2-3,9 kat, N-Tween-oMt filmlerinde 1,4-2,7 kat aralığında artış gösterirken, CTAB sürfaktanı içeren organokilin katıldığı filmlerin migrasyon sonuçları daha fazla (1,9-11,6 kat) artmıştır. Bu durum killerin yapısında kullanılan sürfaktan türünün ve kil seviyesinin Al spesifik migrasyon davranışında önemli olduğunu göstermektedir (Şekil 4.21). **Mangan** element sonuçlarında genel olarak CTAB sürfaktanı içeren organokilin eklendiği film örneklerinin (N-CTAB-oMt) sonuçları istatistiksel olarak benzer seviyedeki N-Mt ve N-Tween-oMt nanokompozitlerinden daha yüksek çıkmıştır. En düşük Mn migrasyonu kontrol filminde olurken, en yüksek sonuç katyonik sürfaktan içeren N-CTAB-oMt-5 filminde elde edilmiştir. **Demir** migrasyonunda %1 kil seviyesi için nanokompozitler istatistiksel olarak aynı sonuçlar ($p>0,05$) sergilerken, %3 ve %5 seviyesinde modifiye edilmemiş kil içeren filmler (N-Mt) aynı seviyede organokil içeren filmlerden daha yüksek sonuç vermiştir. **Kobalt** elementi için kontrol örneği, N-Mt-5 ve N-CTAB-oMt-5 hariç olmak üzere, diğer nanokompozitlerden yüksek migrasyon sonucuna sahip olmuştur. **Nikel ve çinko** elementleri için kontrol filminin sonucu genel olarak nanokompozit filmlerden yüksek çıktığı için bu elementlerin yapıya katılan kil ile ilişkilendirilmesinde anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. **Baryum** migrasyonunda N-Tween-oMt materyalleri kontrol örneği ile istatistiksel olarak benzer sonuçlar ($p>0,05$) göstermiştir. Diğer nanokompozitlerde kil oranının artışı ile Ba migrasyonu artış eğilimi göstermiş olup, en yüksek sonuçlar modifiye edilmemiş kil içeren film örneklerinde (N-Mt) elde edilmiştir. **Bakır** elementinde ise tüm film materyalleri için elde edilen sonuçlar LOQ seviyesinin (3,37 ppb) altında kalmıştır. Bu sonuçlara göre, nanokompozit yapıda kullanılan organokil türünün Al, Mn, Fe ve Ba elementlerinin migrasyonu üzerinde etkili olduğu; buna karşılık Co, Ni, Zn ve Cu elementleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Migrasyon ekstraktlarında tespit edilen elementlere ait sonuçlar güncel mevzuatlardaki ([40], [41]) SM limit değerlerinin (Al: 1 ppm, Mn: 0,6 ppm, Fe: 48 ppm, Co: 0,05 ppm, Ni: 0,02 ppm, Zn: 5 ppm, Ba: 1 ppm) çok altında kalmıştır.

Gıda benzerlerine polimerdeki nanoparçacıkların kütle transferini, ikili sorpsiyon teorisi (dual sorption theory) olarak adlandırılan difüzyon ve gömülme mekanizmaları (embedding, polimer zincirleri ile penetrant moleküller arası etkileşimler) etkilemektedir. Migrasyonda özellikle difüzyon mekanizması gömülme mekanizmasından daha hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir. Buna göre çalışmada kullanılan gıda benzerindeki asetik asit ve su molekülleri önce polimer matriks içine difüze olmakta, ardından gömülme mekanizması ile etkileşimler sonucunda plastikleştirici gibi davranarak polimer zincirlerinin arasını genişletmektedir. Bu zincir genişlemesi matriks boyunca nanoparçacıkların göç etmesini kolaylaştırmaktadır. Nanokil karmaşık bileşenlere sahip olup, doğası gereği düzensiz ve termodinamik olarak kararsız bir malzeme olduğundan entropi durumuna yönelme eğilimindedir. Dolayısıyla nanokompozit film temas halinde olduğu gıda/gıda benzerine doğru difüzyon gerçekleştirme ve gömülme mekanizması ile entropi eğilimi kolaylaşmaktadır [98], [102], [161].



Şekil 4.21 Termoplastik nişasta esaslı filmlerin alüminyum (Al) elementi spesifik migrasyon değerleri (ppb)

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

Polimer yapısına kil nanoparçacıklarının katılmasının temel avantajı, malzemenin gaz veya sıvı moleküllerinin geçişine karşı bariyer özelliklerini önemli ölçüde geliştirmesidir. Bariyer özelliklerindeki bu iyileşmeye ilişkin en yaygın kabul gören açıklama Nielsen teorisi [147] tarafından sunulmuştur. Bu teoriye göre, matriks içindeki nanodolgular sıvı veya gaz moleküllerine karşı geçirimsiz olduğunda, bu

moleküller dolgu partiküllerinin etrafından dolanmak zorunda kalmakta ve böylece dolaşık (tortuous) bir difüzyon yolu izlemektedir [15], [24]. Difüzyon yolundaki bu uzama, migrasyon süresini etkin biçimde uzatmakta ve dolayısıyla malzemenin bariyer verimliliğini arttırmaktadır. Çalışmada kullanılan asitli gıda benzerindeki asetik asit ve su moleküllerinin nişasta bazlı nanokompozitlere difüzyonu, polimer zincirleri arasındaki mesafenin genişlemesine ve yapıdan modifiye edilmemiş kil veya organokil salımının artmasına katkı sağlamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada difüzyon mekanizmasının, özellikle asidik simülantta spesifik migrasyon hızlarını belirlemede baskın bir rol oynadığı söylenebilir.

Literatürdekiilgili çalışmalar, bu çalışmada elde edilen bulgularla uyumlu olarak, nanokilin malzeme yapısına eklenmesinin element spesifik migrasyonuna yol açabildiğini göstermektedir. Farhoodi vd. [102] tarafından yürütülen çalışmada, polietilen tereftalat (PET) matrisine ticari organokil karıştırılarak nanokompozit örnekler hazırlanmıştır. Alüminyum elementinin spesifik migrasyonunu değerlendirmek amacıyla, %3 asetik asit kullanılarak toplam daldırma yöntemi uygulanmış ve testler 25°C ve 45°C'de 7–90 gün boyunca gerçekleştirilmiştir. Belirli zaman aralıklarında simülantlardan örnek alınarak Al konsantrasyonu analiz edilmiştir. Sonuçlar, depolama süresinin uzaması ve sıcaklığın artmasıyla birlikte spesifik migrasyonunun arttığını göstermiştir. 25°C sıcaklıkta alüminyum düzeyi 10. günde 0,03 mg/kg iken 90. günde 0,18 mg/kg'a yükselmiş; 45°C'de ise aynı süre zarfında 0,06 mg/kg'dan 0,34 mg/kg'a çıkmıştır. Bu çalışmada asidik simülant kullanılarak elde edilen spesifik migrasyon sonuçları, Farhoodi vd. [102] tarafından bildirilen bulgulara kıyasla genel olarak daha düşük bulunmuştur. İki çalışmada kullanılan ana polimer matrislerinin farklı olmasına rağmen, bu farkın bizim çalışmamızda temas süresinin daha kısa olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Mauricio-Iglesias vd. [103] çalışmalarında, gıda ile temas eden malzeme olarak buğday glüten matriksine montmorillonit ilave edilerek elde edilen filmlerden su, %3 asetik asit ve %15 etanol gıda benzerlerine 40°C'de 10 günlük depolama sonrasında spesifik migrasyon özellikleri incelemiştir. Çalışmada Al elementi için yalnızca asidik simülantta anlamlı sonuçlar elde edildiği belirtilmiştir. Bu durum, düşük pH koşullarında alüminyum elementinin daha yüksek çözünürlüğüne bağlanmıştır. %3 asetik asit ortamında bulunan yüksek hidrojen iyon konsantrasyonu (pH ≈ 2,9), kil tabakaları arasındaki boşlukta yer alan

alüminyum iyonlarının serbestleşmesine yol açarak alüminyum migrasyonunu arttırmaktadır. Avrupa Konseyi'nin [78] belirttiği üzere, %3 asetik asit plastiklerde metal migrasyonu açısından en agresif simülant olarak kabul edilmektedir.

Tablo 4.16 Termoplastik nişasta esaslı nanokompozit film örneklerinin spesifik migrasyon değerleri (ppb)

Film Materyali	Element						
	Al	**Mn**	**Fe**	**Co**	**Ni**	**Zn**	**Ba**
N	13,52±0,48^{i}	3,43±0,33^{e}	< LOQ	0,30±0,01^{b}	1,55±0,10^{a}	32,86±1,95^{a}	1,87±0,14^{g}
N-Mt-1	16,10±1,19^{h}	5,66±0,41^{d}	6,38±0,48^{e}	< LOQ	1,29±0,11^{b}	26,11±0,67^{c}	18,33±1,61^{d}
N-Mt-3	52,43±0,32^{c}	7,66±0,54^{c}	22,58±2,36^{a}	0,23±0,02^{d}	0,66±0,04^{gh}	28,70±1,41^{bc}	30,83±0,72^{b}
N-Mt-5	24,02±0,84^{f}	10,06±0,84^{b}	15,52±1,48^{b}	0,35±0,01^{a}	0,75±0,06^{fg}	< LOQ	43,76±3,41^{a}
N-CTAB-oMt-1	25,16±2,15^{f}	7,36±0,37^{c}	6,47±0,60^{e}	0,23±0,02^{d}	1,04±0,09^{c}	< LOQ	7,86±0,69^{f}
N-CTAB-oMt-3	57,12±0,49^{b}	10,05±0,40^{b}	7,09±0,26^{e}	0,27±0,02^{d}	0,81±0,04^{ef}	30,97±3,09^{ab}	11,79±0,66^{e}
N-CTAB-oMt-5	157,12±1,27^{a}	17,99±0,87^{a}	12,50±0,73^{c}	0,34±0,03^{a}	0,88±0,06^{de}	< LOQ	21,49±1,44^{c}
N-Tween-oMt-1	19,24±1,47^{g}	5,96±0,45^{d}	6,22±0,68^{e}	0,19±0,02^{e}	0,98±0,07^{cd}	26,22±1,74^{c}	3,13±0,07^{g}
N-Tween-oMt-3	36,06±0,47^{d}	6,42±0,19^{d}	8,66±0,86^{d}	0,20±0,01^{de}	0,95±0,09^{cd}	< LOQ	2,95±0,15^{g}
N-Tween-oMt-5	29,53±0,44^{e}	6,24±0,35^{d}	9,71±0,66^{d}	0,23±0,02^{d}	0,57±0,05^{h}	< LOQ	3,20±0,24^{g}

Örnek kodlarındaki N kil içermeyen kontrol filmi, N-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, N-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, N-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-i}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir. Al, Mn, Fe, Co, Ni, Zn ve Ba elementleri için LOQ değerleri sırasıyla 8,31 ppb, 0,22 ppb, 3,43 ppb, 0,15 ppb, 0,28 ppb, 25,49 ppb, 0,40 ppb

4.3 Sodyum Aljinat Esaslı Filmler

4.3.1 Optimizasyon Çalışmaları

Sodyum aljinat esaslı film materyallerinde sulu ve asitli gıda benzerleri ile gerçekleştirilen migrasyon analizleri sonucunda makroskopik deformasyonlar gözlemlendiğinden, materyal eldesinde çapraz bağlanma amacıyla $CaCI_2$ uygulamaları için öncelikli olarak optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Box-Behnken deney tasarımına göre %3 asetik asit ile elde edilen toplam migrasyon sonuçları Tablo 4.17'de verilmektedir. Optimizasyon çalışmasında en düşük 19,67 mg/dm^2 ve en yüksek 29,67 mg/dm^2 sonuçları elde edilmiştir.

Tablo 4.17 Sodyum aljinat esaslı filmlerin üretimine ait optimizasyon çalışmalarında kullanılan Box-Behnken deney tasarımı bağımsız değişkenler ve bağımlı değişken sonuçları

Test No	Bağımsız Değişkenler			Bağımlı Değişken
	Kodlanmış Değerler			Toplam Migrasyon (mg/dm^2)
	Gliserol (X_1)	$CaCI_2$-mix (X_2)	$CaCI_2$-immerse (X_3)	
1	-1	-1	0	26,33
2	0	-1	+1	22,67
3	0	0	0	26,50
4	0	0	0	26,83
5	+1	0	+1	25,33
6	-1	0	+1	21,00
7	+1	0	-1	23,33
8	0	0	0	27,00
9	+1	+1	0	21,00
10	-1	+1	0	20,00
11	0	0	0	25,83
12	0	0	0	26,17
13	+1	-1	0	24,00
14	0	+1	-1	22,67
15	0	+1	+1	19,67
16	0	-1	-1	25,67
17	-1	0	-1	29,67

$CaCI_2$: Kalsiyum klorür.

Elde edilen sonuçlara göre program toplam migrasyon analizinde ikinci derece regresyon önermiştir (Tablo 4.18). Tahmini R^2 değeri 0,8018 ve ayarlanmış R^2

değeri 0,9570 elde edilmiş olup, aradaki fark 0,2'den küçük olduğu için uyumlu olduğu, uyum eksikliği (lack of fit) p-değeri > 0,05 olduğu için önemsiz olduğu, bu nedenle metodun uyum içinde ve sıralı p-değeri < 0,05 olduğundan modelin toplam migrasyon analizi yanıtı için uygun olduğu belirlenmiştir [162].

Tablo 4.18 Toplam migrasyon analizinde bağımlı değişkenler için uygun regresyon modeli

Kaynak	**Sıralı p-değeri**	**Lack of fit p-değeri**	**Ayarlanmış R^2**	**Tahmini R^2**	
Doğrusal (Linear)	0,0788	0,0017	0,2569	-0,0861	
İki faktörlü etkileşim (2FI)	0,1448	0,0023	0,4235	-0,1122	
İkinci derece (Quadratic)	**< 0,0001**	**0,2311**	**0,9570**	**0,8018**	**Önerildi (Suggested)**
Kübik (Cubic)	0,2311		0,9716		

Tablo 4.19 Toplam migrasyon analizindeki model özet istatistikleri

	Toplam Migrasyon Analizi (mg/dm^2)
Standart sapma (Standard deviation)	0,5869
Çoklu belirleme katsayısı (Determination coefficient R^2)	0,9812
Ayarlamanmış R^2 (Adjusted R^2)	0,9570
Tahmini R^2 (Predicted R^2)	0,8018
Yeterli kesinlik (Adequate precision)	22,95

Toplam migrasyon analizi için model özet istatistikleri Tablo 4.19'da verilmektedir. **Çoklu belirleme katsayısı (R^2)**, modelde yer alan bağımsız değişkenlerce bağımlı değişkendeki değişikliğin yüzde ne kadarının açıklandığını gösteren bir değerdir [163]. Toplam migrasyon analizinde ikinci derece regresyon denklemi R^2 değeri 0,9812 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, üç bağımsız değişkenin birlikte toplam migrasyon analizindeki değişimin %98,12'sini açıkladığını göstermektedir. Modeldeki değişim miktarı ölçümünü düzeltilmiş terimler ile ifadesini sağlayan değer **ayarlanmış R^2**'dir. Eğer modelde pek çok değişken varsa ve örnek miktarı çok değilse ayarlamalı R^2 değerleri, R^2 değerinden belirgin şekilde küçük olabilir. Bu değerlerin 1'e yaklaşması modellerin başarısını göstermektedir [163]. Modelde, ayarlamanmış R^2 değerleri ile **tahmini R^2** katsayılarının birbiri ile

uyum içerisinde olduğu görülmektedir. **Yeterli kesinlik**, sinyal gürültü oranını (signal/noise, S/N) göstermektedir. Modelin etkili bir şekilde kullanılabilmesi için bu oranın 4'ten büyük olması beklenmektedir [163]. Bu çalışmada; toplam migrasyon analizi için bulunan sinyal gürültü oranı 22,95 (S/N>4) elde edilmiştir. Bu değer modelin tasarım yapmak için kullanılabilir olduğunu göstermektedir.

Toplam migrasyon analizi için varyans analizi (ANOVA) Tablo 4.20'de verilmiştir. Elde edilen sonuçların anlamlı olabilmesi için modelde **F-değeri**nin yüksek olması ve **p-değeri** olarak ifade edilen **olasılık değeri**nin **(probabilite)** 0,05'ten küçük olması gerekmektedir. Olasılık değerinin 0,1'den büyük olduğu durumlarda model cevap değişkenleri için anlamsız olmaktadır [164]. Bu çalışmada toplam migrasyon analizi için F-değeri 40,61 olup, olasılık değeri düşük olduğundan (<0,0001) model anlamlıdır.

Tablo 4.20 Toplam migrasyon analizi için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	**Karelerin Toplamı**	**df**	**Ortalama Karesi**	**F-değeri**	**p-değeri**
Model	125,89	9	13,99	40,61	< 0,0001
Gliserol (X_1)	1,39	1	1,39	4,05	0,0841
$CaCI_2$-mix (X_2)	29,38	1	29,38	85,29	< 0,0001
$CaCI_2$-immerse (X_3)	20,07	1	20,07	58,26	0,0001
X_1X_2	2,77	1	2,77	8,05	0,0252
X_1X_3	28,46	1	28,46	82,64	< 0,0001
X_2X_3	0,0000	1	0,0000	0,0000	1,0000
X_1^2	2,28	1	2,28	6,61	0,0369
X_2^2	35,36	1	35,36	102,67	< 0,0001
X_3^2	3,40	1	3,40	9,86	0,0164
Artık (Residual)	2,41	7	0,3444		
Uyum eksikliği (Lack of fit)	1,50	3	0,5000	2,20	0,2311
Hata	0,9109	4	0,2277		
Düzeltilmiş toplam	128,30	16			

$CaCI_2$: Kalsiyum klorür.

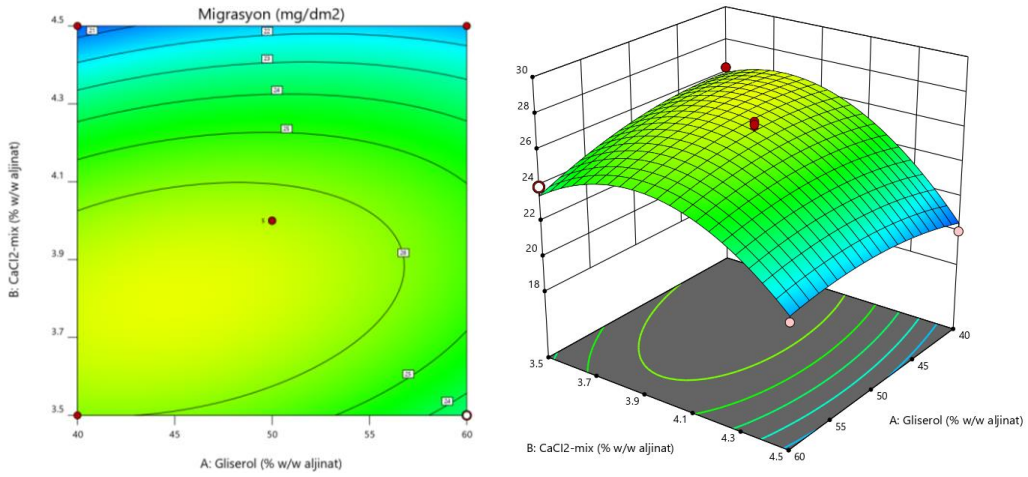
Polinomiyal denklemler, bağımsız değişkenlerin bağımlı değişken (yanıt) üzerindeki pozitif veya negatif yöndeki etkileşimini göstermektedir [162]. Çalışmada toplam migrasyon analizi için X_2, X_3, X_1X_2, X_1X_3, X_1^2, X_2^2 ve X_3^2 parametreleri önemli model terimleri olarak elde edilmiştir. Kodlanmış değerler

üzerinden ikinci dereceden denklem (4.1)'de belirtilmiştir. Denklemde bağımlı değişken toplam migrasyon sonucu y_1 şeklinde; bağımsız değişkenler gliserol, $CaCI_2$-mix ve $CaCI_2$-immerse oranları ise sırasıyla X_1, X_2 ve X_3 olarak kodlanmıştır.

$$y_1 = 26{,}47 - 1{,}92\,X_2 - 1{,}58\,X_3 + 0{,}8325\,X_1X_2 + 2{,}67\,X_1X_3 - 0{,}7355\,X_1^2 - 2{,}90\,X_2^2 - 0{,}8980\,X_3^2 \quad (4.1)$$

Uyum eksikliği, regresyonda içerilmeyen noktalarda kümedeki verileri deneysel göstermek için modelin başarısını ölçmektedir [164]. Büyük olmayan uyum eksikliği değeri uygundur [163]. (4.1)'in regresyonundan elde edilen uyum eksikliği değeri F-değeri (Tablo 4.20) 2,20 hataya bağlı olarak yüksek olmadığını belirtmektedir. Yani denklemde yer alan bağımsız değişkenlerin değerlerinin herhangi bir kombinasyonunda toplam migrasyon analiz değerini belirlemek için yeterli olduğunu göstermektedir. Elde edilen ikinci dereceden denklemde X_2, X_3, X_1X_2 ve X_1X_3 faktör etkileşimlerinin etkileri anlamlı bulunduğu için düzey önerisinde bulunurken her üç faktörün de aynı anda değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle sonuçların daha iyi anlaşılması amacıyla, toplam migrasyon analizi için iki boyutlu (2D) kontur (contour) grafikleri ve üç boyutlu (3D) yanıt grafikleri incelenmiştir.

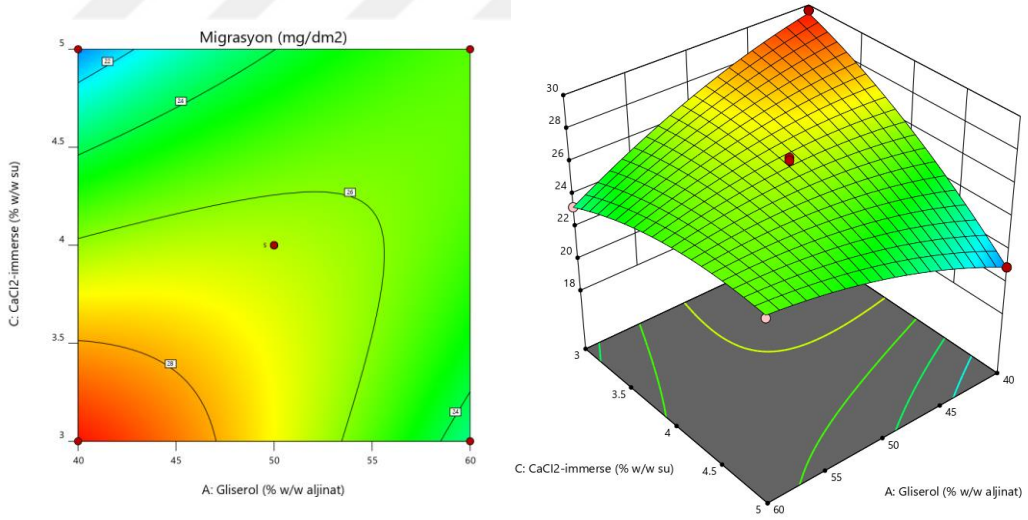
Film solüsyonunda gliserol (X_1) ve $CaCI_2$-mix (X_2) oranlarının toplam migrasyon üzerine etkisi Şekil 4.22'de gösterilmiştir. Optimizasyon çalışmalarında en düşük 19,67 mg/dm^2 ve en yüksek 29,67 mg/dm^2 sonuçları elde edilmiştir. Elde edilen grafiklerde mevzuatta limiti 10 mg/dm^2 değerine daha yakın olan mavi renkli alanlar vurgulanmıştır. X_1 değeri arttıkça migrasyon sonucunun yaklaşık aynı değerlerde kaldığı (21-22 mg/dm^2) görülmekte olup, grafiklerde özellikle %40 gliserol seviyesinde mavi rengin daha yoğun olduğu görülmüştür. Yüzey yanıt grafikleri ile paralel olarak ANOVA sonucunda X_1 için $p>0{,}05$ bulunduğu için tek başına gliserol oranı toplam migrasyon analiz sonuçları için önemsizdir. Ancak X_1X_2 ve X_1X_3 önemli model terimleri olduğundan beraber değerlendirilmesi önemlidir. X_2 değeri arttıkça toplam migrasyon analiz sonuçları azalmaktadır. Bu nedenle toplam migrasyon analizi için X_1X_2 etkileşiminde optimum seviye yaklaşık %40 gliserol oranı ve %4,5 $CaCI_2$-mix olarak tespit edilmiştir.



(a) **(b)**

Şekil 4.22 Toplam migrasyon analizinin gliserol (X_1) ve $CaCI_2$-mix (X_2) oranlarına göre değişimini gösteren (a) kontur, (b) üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri

Gliserol (X_1) ve $CaCI_2$-immerse (X_3) oranlarının toplam migrasyon değerine etkisi Şekil 4.23'deki grafiklerde gösterilmiştir. Toplam migrasyon analizi için X_1X_3 etkileşiminde optimum seviye, gliserol oranı düşük (yaklaşık %40 gliserol) ve $CaCI_2$-immerse oranı artarak en yüksek seviye olan %5,0 seviyesinde tespit edilmiştir.



(a) **(b)**

Şekil 4.23 Toplam migrasyon analizinin gliserol (X_1) ve $CaCI_2$-immerse (X_3) oranlarına göre değişimini gösteren (a) kontur, (b) üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri

Optimizasyon çalışmasında elde edilen sonuçlara göre Design-Expert® yazılımında bağımsız değişkenlere ait hedef olarak çalışılan aralıklar (in range) seçilip, migrasyon en düşük (minimum) seviyede tutulduğunda program tarafından verilen

sonuçlar incelenmiştir. Buna göre yazılım programına göre minimum migrasyon sonucu (16,68 mg/dm^2); %41,504 gliserol, %4,467 $CaCI_2$-mix ve %4,979 $CaCI_2$-immerse oranlarında gerçekleştiği hesaplanmıştır. Belirtilen oranlarda film materyalleri hazırlanarak üç paralel olarak çalışıldığında elde edilen deneysel toplam migrasyon sonucu 16,94±0,77 mg/dm^2 olmuştur. Sonuç olarak, yazılımsal ve deneysel sonuçlar birbiriyle uyumlu elde edilmiştir.

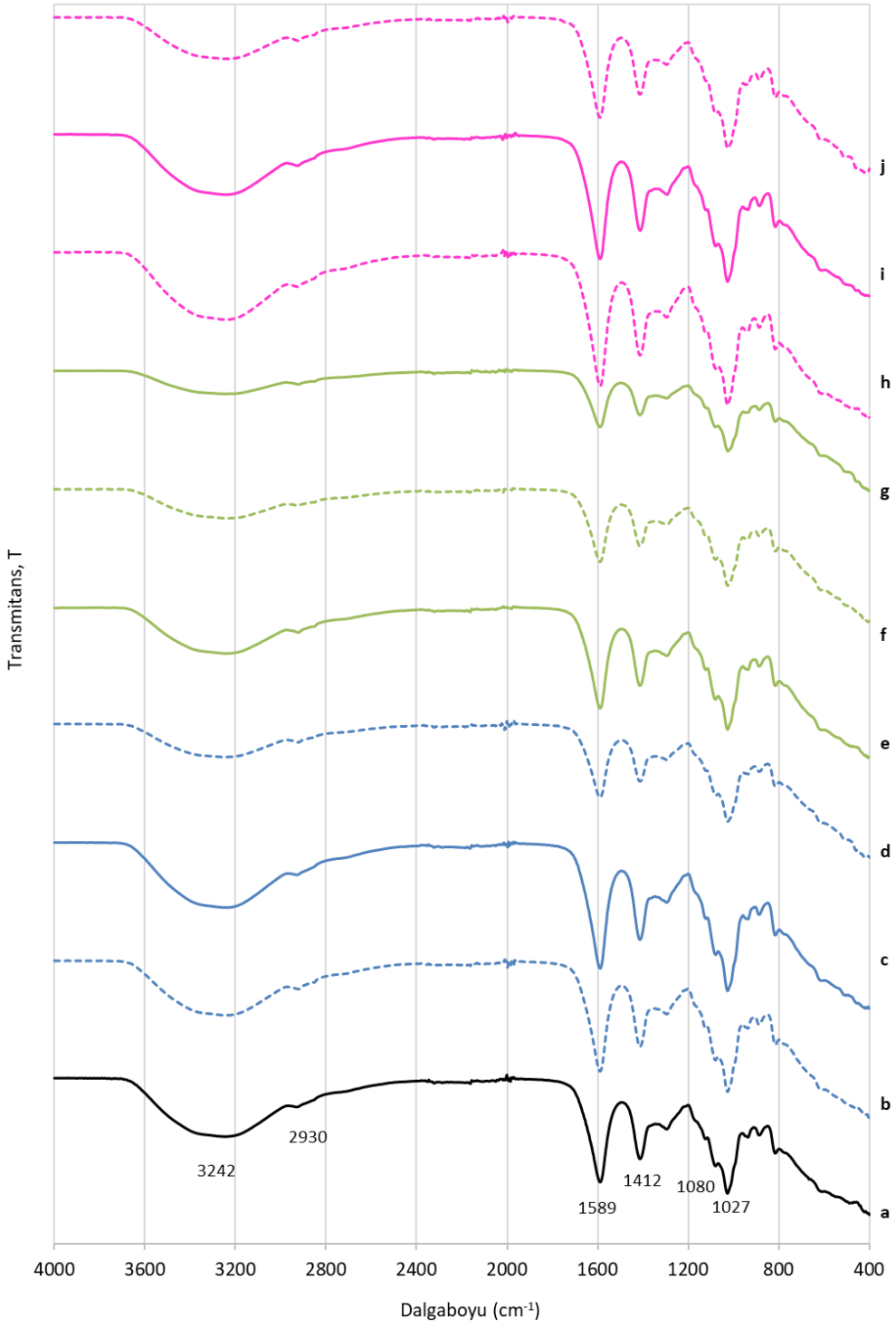
Sodyum aljinat esaslı filmler için optimizasyon çalışmasında belirlenen %41,504 gliserol, %4,467 $CaCI_2$-mix ve %4,979 $CaCI_2$-immerse oranlarında ve yapıya farklı seviyelerde (%1, %3, %5) organokil veya modifiye edilmemiş kil ilave edilerek materyaller üretilmiş karakterizasyon ve migrasyon analizleri gerçekleştirilmiştir.

4.3.2 Filmlerin Özellikleri

SA esaslı nanokompozit filmlere ait karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiştir.

4.3.2.1 Filmlerin Yapısal Özellikleri

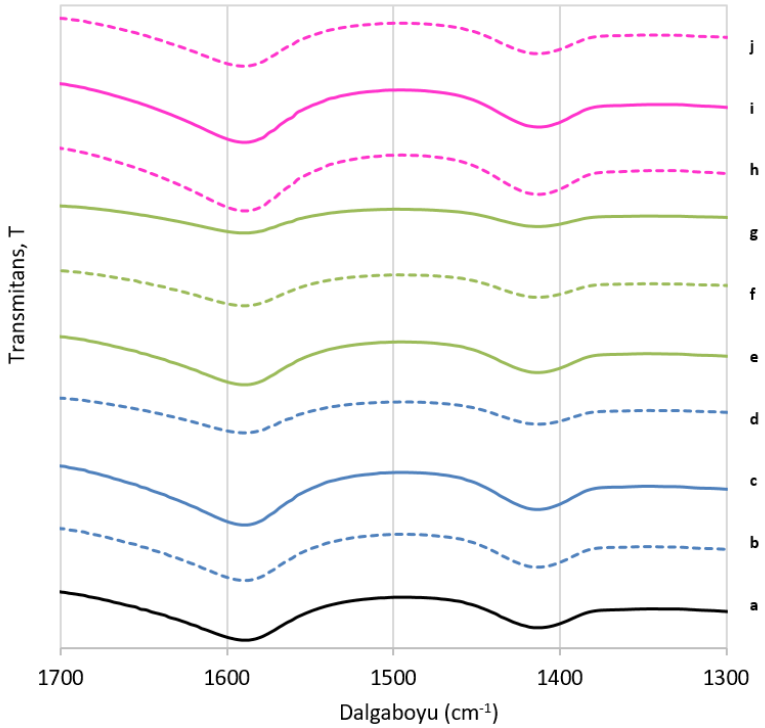
Nanokompozit matrikslere ait FT-IR spektrumları Şekil 4.24'te gösterilmiştir. Film örneklerinde 3700-3000 cm^{-1}, 1589-1601 cm^{-1} ve 1410-1413 cm^{-1} arasında yer alan pikler sırasıyla OH^-, COO^- (asimetrik) ve COO^- (simetrik) gerilmelerini temsil etmektedir [33], [165]. Matriksteki kil oranının arttırılması sonucunda hem kompozit filmlerdeki O–H gerilme (stretching) absorbsiyon piklerinin [166] hem de aljinat molekülünde karakteristik olan ve Şekil 4.25'te gösterilen karboksil (COO^-) gerilme piklerinin dalga boyu değişmemekle beraber pik şiddetinin azaldığı belirlenmiştir. Bu bulgu, polimer matriks ve silikat tabakaları arasındaki etkileşimi ortaya koyması açısından önemlidir. Literatürde Tezcan vd. [165] sodyum aljinat esaslı filmlere sodyum montmorillonit kil ilavesi sonucunda COO^- simetrik ve COO^- asimetrik absorpsiyon piklerinde azalma olduğunu ve bu değişikliklerin aljinat polimerinin karboksil grupları ile nanodolgu kil arasında etkileşim gösterdiğini raporlanmıştır. 3000 ile 2850 cm^{-1} arasında ise C–H gerilme titreşimine karşılık gelen pikler gözlenmiştir [33]. 1079-1082 cm^{-1} ve 1025-1027 cm^{-1}'deki pikler, C–O–C bağlarının gerilme titreşimlerini temsil etmektedir. 815-817 cm^{-1}, 886-887 cm^{-1} ve 936-937 cm^{-1}'de görülen pikler, polisakkarit yapılar için karakteristiktir [85].



Şekil 4.24 Sodyum aljinat esaslı filmlerin 4000-400 cm^{-1} aralığındaki FT-IR spektrumları

(a) SA, (b) SA-Mt-1, (c) SA-Mt-3, (d) SA-Mt-5, (e) SA-CTAB-oMt-1, (f) SA-CTAB-oMt-3, (g) SA-CTAB-oMt-5, (h) SA-Tween-oMt-1, (i) SA-Tween-oMt-3, (j) SA-Tween-oMt-5

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

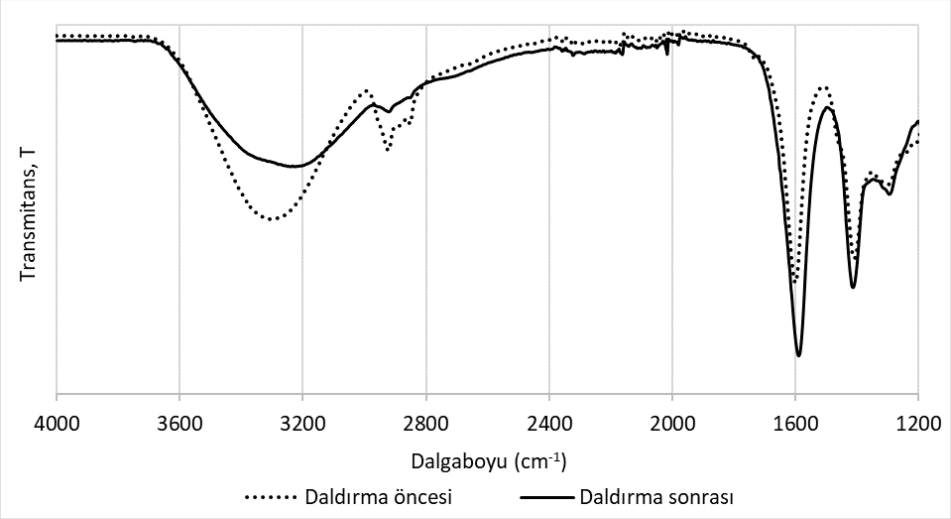


Şekil 4.25 Sodyum aljinat esaslı filmlerin 1700-1300 cm^{-1} aralığındaki FT-IR spektrumları

(a) SA, (b) SA-Mt-1, (c) SA-Mt-3, (d) SA-Mt-5, (e) SA-CTAB-oMt-1, (f) SA-CTAB-oMt-3, (g) SA-CTAB-oMt-5, (h) SA-Tween-oMt-1, (i) SA-Tween-oMt-3, (j) SA-Tween-oMt-5

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

Literatürde sodyum aljinat matriksinin kalsiyum ile çapraz bağlanması sonucunda O–H gerilme ve C–O–O asimetrik ve simetrik bantlarında kayma olduğu raporlanmıştır [85]. Bu çalışmada çapraz bağlanmanın etkinliğini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen FT-IR ile spektrometrik analizde Giz vd. [85] ile benzer şekilde kalsiyum ile çapraz bağlanma öncesinde O–H bandı 3250-3308 cm^{-1} iken 3240-3242 cm^{-1}'ye, C–O–O asimetrik bandı 1595-1602 cm^{-1}'den 1589-1601 cm^{-1}'ye, C–O–O simetrik bandı ise 1407-1411 cm^{-1}'den 1410-1413 cm^{-1}'ye kaymıştır. Örnek teşkil etmesi açısından katyonik sürfaktan içeren organokilin %3 seviyesinde eklendiği film materyalinin (SA-CTAB-oMt-3) $CaCl_2$ solüsyonuna daldırma öncesi ve sonrası durumunda ilgili piklerin değişimi Şekil 4.26'da verilmiştir. Bu sonuçlar çalışmada sodyum aljinat matriksinde $CaCl_2$ çapraz bağlanma ajanı ile istenilen yumurta kutusu (egg-box) yapısının elde edilebildiğini göstermektedir.



Şekil 4.26 SA-CTAB-oMt-3 nanokompozitin daldırma yöntemi ile kalsiyumla çapraz bağlanma öncesi ve sonrası FT-IR spektrumları (4000-1200 cm^{-1})

SA-CTAB-oMt-3: Katyonik sürfaktan içeren organokilden %3 oranında eklenmiş sodyum aljinat esaslı nanokompozit

4.3.2.2 Filmlerin Termal Özellikleri

Yarı kristalin polimerlerin DSC analizi sonucunda amorf faza ait camsı geçiş, (T_g) kristalin faza ait erime geçişi (T_m) ve kristalleşmeye bağlı geçiş (T_c) olmak üzere üç karakteristik termal geçiş gözlenebilmektedir [142].

Sodyum alijnat biyomateryal yapısına farklı seviyelerde nanokil veya organokil yüklenmesi sonucunda termal özelliklerinde değişimi incelenmesi için gerçekleştirilen DSC analiz sonuçları Tablo 4.21'de verilmiştir. Analizde üç karakteristik termal geçiş (T_g, T_c, T_m) elde edilmiştir. Buna göre camsı geçiş sıcaklığı değeri, kontrol materyaline göre yapıya kil eklenmesi ile genel olarak artış eğilimi göstermiştir (Şekil 4.27). Artan T_g değeri, yapıya ilave edilen silikat tabakaları sonucunda polimer zincir mobilitesinin düşmesinden kaynaklanmaktadır [16]. Genel olarak organokil eklenmiş materyallerin T_c değerlerinde nanokil eklenen örneklere göre daha fazla azalma olduğu görülmüştür. Buna göre, homojen dağılmış organokiller polimer zincirlerinin düzenli dizilimini engelleyerek T_c değerinin düşmesine neden olmuştur. En düşük T_c değerleri non-iyonik organokil içeren film materyallerinde (SA-Tween-oMt) belirlenmiştir. T_m değerleri kontrol filmine göre özellikle SA-Tween-oMt nanokompozitlerinde daha fazla düşmüş ve erime entalpisi sonuçlarında azalma elde edilmiştir. Nanokompozitlerdeki kil

plakacıkları kristal büyüme bölgelerinde fiziksel bariyer oluşturduğu için kristal boyutu ve kristal düzeni azaldığından T_m ve ΔH_m azalma azalmıştır.

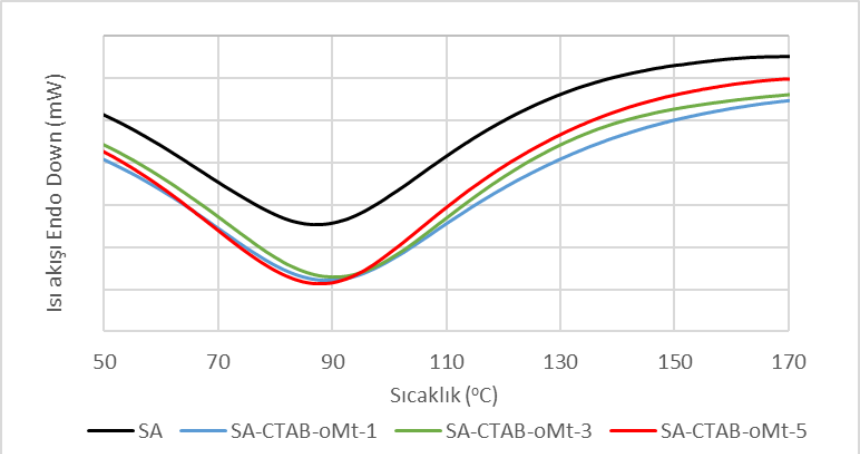
Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, yapısına silikat tabakaları eklenmiş polimer matrikslerin DSC ile gerçekleştirilen termal karakterizasyonu sonucunda benzer bulguların elde edildiği görülmektedir. Musa & Shaari [167] sodyum aljinat-polivinil alkol esaslı hibrit membranların yapısına farklı oranlarda (%2, 5, 10, 15, 20) MMT nanokil ilavesi ile termal özellikleri incelemiştir. Yüksek T_g değerlerine sahip materyalin geç ısınmaya maruz kaldığında kütle kaybı daha az olacağından, daha yüksek termal stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmada %10 MMT nanokil seviyesine kadar T_g değerleri artış göstermiş ve bu duruma yapıya kil ilavesi ile homopolimer zincirler arasındaki dipol etkileşimlerinin azalmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Ancak MMT seviyesi %15'e ulaştığında camsı geçiş sıcaklığı seviyesi yapısında kil içermeyen kontrol membran seviyesine düşmüştür. Bu durum polimer ana zincirlerinin daha yüksek dolgu oranlarında yumuşadığını göstermiştir. Başka bir çalışmada, polibütilen tereftalat/MMT nanokompozitlerde ekzotermik kristalizasyon pikleri incelenmiştir. Kil silikatı içermeyen kontrol filmine göre nanokompozitlerdeki ekzotermik kristalizasyon piklerinin tüm incelenen soğutma hızlarında belirgin şekilde daha düşük sıcaklıklara kaydığı ve MMT içeriği arttıkça kristalleşme tepe sıcaklığının kademeli olarak azaldığı belirlenmiştir. Bu bulgunun, kil parçacıklarının polimer zincirlerinin hareketini kısıtlayarak büyük kristalin bölgelerin oluşumunu engellediğini gösterdiğini belirtmişlerdir [168]. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da genel olarak yapıya organokil eklenmiş materyallerin T_c değerlerinde daha fazla azalma olduğu görülmüştür. En düşük T_c değerleri non-iyonik organokil içeren film materyallerinde (SA-Tween-oMt) belirlenmiştir. Bu durum organokil içeren nanokompozitlerde silikat tabakaların iyi dağılmasıyla ilgili olup, kristalleşme engellenmiş ve böylece T_c değerinde daha fazla azalma elde edilmiştir. Bununla beraber, polimer matriksinde kil tabakaları, ek çekirdeklenme (nucleation) bölgeleri şeklinde etki göstererek kristalleşme sıcaklığını da arttırabilmektedir. Özellikle yapıya düşük miktarda kil eklenmesi kristalleşme sürecini etkili bir şekilde hızlandırabilecekken, yüksek kil yüklemeleri kristalleşme hızını azalttığı raporlanmıştır [169]. Bu çalışmada yapıdaki kil miktarının arttırılması ile genel olarak T_c sonuçları azalmıştır. Ancak kontrol filmine göre sürfaktan içermeyen

nanokilin %1 ve %3 seviyesinde eklendiği materyaller (SA-Mt-1 ve SA-Mt-3) ile katyonik sürfaktan içeren organokilin %1 seviyesi oranında eklendiği materyalde (SA-CTAB-oMt-1) artan T_c değerleri sonucunda yapıya eklenen Mt kilinin kristalizasyon ajanı olarak davrandığı belirlenmiştir.

Tablo 4.21 Sodyum aljinat esaslı materyallerin DSC analizinden elde edilen veriler

Film Materyali	Camsı Geçiş Sıcaklığı, T_g (°C)	Kristalizasyon Sıcaklığı, T_c (°C)	Erime Sıcaklığı, T_m (°C)	Erime Entalpisi, ΔH_m (J/g)
SA	96,14	212,82	242,84	37,14
SA-Mt-1	93,01	213,35	236,92	10,31
SA-Mt-3	97,36	215,50	240,79	8,36
SA-Mt-5	97,13	212,07	244,30	19,77
SA-CTAB-oMt-1	102,25	213,48	242,24	8,78
SA-CTAB-oMt-3	100,31	211,70	242,45	28,58
SA-CTAB-oMt-5	102,01	212,26	243,82	23,79
SA-Tween-oMt-1	100,72	211,16	238,45	19,35
SA-Tween-oMt-3	100,22	211,73	236,22	18,37
SA-Tween-oMt-5	99,76	211,19	237,97	9,44

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.



Şekil 4.27 Sodyum aljinat (SA) matriksine farklı oranlarda (%1, 3, 5) katyonik sürfaktan içeren organokil (SA-CTAB-oMt) ilavesinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g) değerlerine etkisi

4.3.2.3 Filmlerin Renk ve Optik Özellikleri

- **Filmlerin Renk Özellikleri**

Gıda ambalaj materyalinin rengi, içindeki ürünün tüketici üzerindeki ilk izlenimini etkileyen ve görünümünü iyi veya kötü yönde etkileyen önemli bir bileşendir [90], [92]. Sodyum aljinat esaslı nanokompozit film materyallerine ait Hunter sistemine göre renk analiz sonuçları Tablo 4.22'de gösterilmiştir. Yapıya kil ilavesi ile L^* değerlerine azalma olmuştur. Genel olarak %1 ve %3 organokil içeren biyokompozitler istatistiksel olarak kontrol filmine daha yakın sonuçlara sahiptir. a^* koordinatları incelendiğinde matrikse kil eklenmesi negatif değerlerin azalarak, nötr seviyeye daha fazla yaklaşmasını ve kırmızılığın artmasını sağlamıştır. Nanokompozitlerin b^* koordinatlarında ise kil seviyesinin arttırılması kontrol örneğine göre değerlerin yükselmesini sağlamıştır. Bu sonuçlara göre ΔE hesaplandığında özellikle nanokil içeren filmlerin %3 ve %5 seviyesinde en yüksek çıkan sonuçlar, bu malzemelerin renk açısından kontrol örneğinden oldukça farklı olduğunu ifade etmektedir. Buna göre, organomodifikasyon işlemi sonucunda kil tabakalarının sodyum aljinat yapısında homojen bir şekilde dağıldığı, ışığın geçişini etkilemediği ve optik özelliklerin [71] %3 ile %5 organokil seviyelerinde bile değiştirmediği gösterilmiştir.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde Alboofetileh vd. [92] sodyum aljinat esaslı matrikse MMT ilave ederek çözelti döküm yöntemi ile üretilen nanokompozit malzemelerde yüzey renk özelliklerini incelemişlerdir. Elde edilen tüm filmler şeffaf olup, filmlerin sahip olduğu pozitif b^* değerlerine göre hafif sarımsı bir tonda olduğu belirtilmiştir. Kontrol örneğine göre yapıya eklenen MMT sonucunda a^* ve b^* koordinatları ile ΔE değerlerinin anlamlı derecede arttığı raporlanmıştır. Perera vd. [90] tarafından sodyum aljinat, jelatin ve karanfil esansiyel yağı içeren matrikse farklı oranlarda MMT nanokili (%0,3, 0,5, 1,0) ilavesiyle gıda ambalaj malzemesi geliştirilmiştir. Filmlerin yüzey renk analizinde yapıdaki nanokil içeriği %0,3 ve %0,5 seviyelerinde istatistiksel olarak aynı değerlere sahipken, %1 seviyesine çıkarıldığında L^* değerinin azaldığı, a^* değerinin negatiften pozitife geçerek (kırmızılığın) arttığı, b^* değerinin (sarılığın) arttığı ve ΔE değerinin yükseldiği belirtilmiştir. Aktif gıda ambalaj malzemelerinin soluk sarı renkte olduğu ifade edilmiştir.

Tablo 4.22 Sodyum aljinat esaslı materyallerin renk değerleri

Film Materyali	L^*	a^*	b^*	ΔE
SA	97,21±0,11^{a}	-0,10±0,01^{g}	1,19±0,01^{f}	-
SA-Mt-1	96,79±0,11^{c}	-0,05±0,01^{c}	1,35±0,04^{c}	0,46±0,09^{d}
SA-Mt-3	96,70±0,01^{d}	0,02±0,00^{b}	1,74±0,19^{b}	0,77±0,12^{b}
SA-Mt-5	96,22±0,23^{e}	0,07±0,01^{a}	1,85±0,06^{a}	1,21±0,15^{a}
SA-CTAB-oMt-1	97,14±0,01^{a}	-0,07±0,01^{d}	1,30±0,03^{cd}	0,13±0,02^{g}
SA-CTAB-oMt-3	96,94±0,03^{b}	-0,06±0,01^{d}	1,34±0,03^{c}	0,31±0,03^{ef}
SA-CTAB-oMt-5	96,70±0,01^{d}	-0,05±0,00^{c}	1,32±0,03^{cd}	0,53±0,01^{cd}
SA-Tween-oMt-1	96,96±0,04^{b}	-0,08±0,01^{f}	1,21±0,04^{ef}	0,26±0,04^{f}
SA-Tween-oMt-3	96,85±0,07^{c}	-0,07±0,01^{e}	1,27±0,02^{de}	0,37±0,07^{e}
SA-Tween-oMt-5	96,63±0,02^{e}	-0,07±0,01^{c}	1,30±0,02^{cd}	0,59±0,02^{c}

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-g}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

- **Filmlerin Optik Özellikleri**

Tablo 4.23'te sodyum aljinat esaslı nanokompozitlerin UV bölge ve görünür bölgedeki ışık geçirgenliği ve opaklık değerleri verilmiştir. Matrikse nanokil eklenmesi UV bölgede (360 nm) ışık geçirgenliğini en yüksek %15 oranında azaltırken, bu durum yapıya organokil eklenmesi ile %20-23 seviyesine kadar yükselmiştir. İstatistiksel olarak en düşük sonuçlar %5 seviyesinde organokil içeren nanokompozitlerde elde edilmiştir. Görünür bölgede (660 nm) ışık geçirgenliği sonuçlarına bakıldığında en yüksek geçirgenliğe kontrol numunesi (%90,1) sahip olup, bu değere istatistiksel olarak en yakın sonuçları %1 seviyesinde organokil içeren örnekler vermiştir.

UV ışığa karşılık gelen dalgaboyları (200-380 nm) nispeten düşük olmasına rağmen, bu bölgede yayılan radyasyon görünür spektrumda (380-780 nm) yayılandan daha yüksek enerjiye sahiptir ve görünür ışığa kıyasla daha yüksek oksidasyon hızına neden olmaktadır. Çalışmadaki nanokompozitlerin UV bölgede daha düşük ışık geçirgenliği göstermesi, onları özellikle oksidasyona duyarlı ürünler için ambalaj malzemesi olarak ideal hale getirmektedir [86]. Gıda ambalajının UV bariyer özelliği, içindeki gıdayı UV ışınına maruz kaldığında

bozulmaya karşı korumada önemli bir rol oynamasını sağlamaktadır. Gıdaların yapısında yer alan lipit ve protein gibi bazı bileşenler, ışığa maruz kaldıklarında oksidasyona uğrayarak ürününün raf ömrünü azaltabilmektedir. Bu nedenle malzemesinin optik özelliklerinin incelenmesi gıda ambalaj uygulamaları açısından önemli olup, UV geçirgenlik değerinin azalması gıda ambalaj uygulamaları açısından avantajlı olabilmektedir [91]. Örneğin peynirde yapılan çalışmalar, UV ışığına maruz kalmanın oksidatif bozulmaya ve tat değişimlerine yol açabileceği göstermiştir [90].

Tablo 4.23 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin UV bölge (360 nm) ve görünür bölgedeki (660 nm) ışık geçirgenliği (T) ve opaklık sonuçları

Film Materyali	% T (360 nm)	% T (660 nm)	Opaklık (A.U./mm)
SA	77,2±0,1^{a}	90,1±0,2^{a}	0,242±0,005^{i}
SA-Mt-1	74,1±0,2^{b}	82,9±0,5^{f}	0,401±0,005^{e}
SA-Mt-3	71,1±0,4^{d}	76,8±0,1^{h}	0,627±0,003^{b}
SA-Mt-5	65,9±0,3^{f}	71,2±0,5^{i}	0,815±0,008^{a}
SA-CTAB-oMt-1	72,3±0,6^{c}	87,4±0,3^{c}	0,337±0,005^{g}
SA-CTAB-oMt-3	64,3±0,5^{g}	84,3±0,5^{e}	0,355±0,005^{f}
SA-CTAB-oMt-5	59,8±0,3^{i}	81,3±0,2^{g}	0,510±0,016^{c}
SA-Tween-oMt-1	72,0±0,1^{c}	88,5±0,6^{b}	0,299±0,005^{h}
SA-Tween-oMt-3	66,7±0,1^{e}	86,5±0,3^{d}	0,365±0,006^{f}
SA-Tween-oMt-5	62,1±0,3^{h}	84,7±0,3^{e}	0,421±0,008^{d}

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-i}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Opaklık sonuçlarına bakıldığında, yapıya modifiye edilmemiş nanokil eklenmesi kontrol filmine kıyasla sonuçların %53-211 oranında yükselmesine neden olurken, katyonik sürfaktan içeren organokil eklenmiş filmlerde %29-95, non-iyonik sürfaktan içeren organokil içeren filmlerde %14-61 oranında artış elde edilmiştir. Genel olarak, nanometre kalınlığındaki kil plakacıklarının polimer matriksi içerisinde homojen dağılması durumunda iyi geliştirilmiş nanokompozit filmin saydamlığının önemli ölçüde değişmediği bilinmektedir. Çünkü bu tür kil plakacıkları görünür ışığın dalga boyundan küçük olup, ışığın geçişini

engellememektedir [170]. Ancak inorganik bir madde olan MMT film çözeltisinde çözünmediğinden, film matriksine eklenmesi sonucunda filmlerin saydamlığında azalma olabilmektedir [92].

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde Perera vd. [90] sodyum aljinat, jelatin ve karanfil esansiyel yağı içeren matrikse nanokil ilavesiyle geliştirdikleri gıda ambalaj malzemesinin UV bariyer özelliklerini incelediklerinde 280 nm'deki geçirgenlik değerinde azalma elde etmişlerdir. Elde edilen aktif gıda ambalaj malzemesi, UV radyasyonunun neden olduğu bozulmaya karşı içine konulan peyniri koruyarak gelişmiş UV bariyer özellikleri göstermiştir. Benzer şekilde filmlerin şeffaflığı nanokil konsantrasyonu arttıkça anlamlı şekilde azalmıştır. Çalışmada nanokil ve uçucu yağın sodyum aljinat matriksine entegre edilmesinin filmlerin opaklığını arttırdığı ve bu durumun görünür bölgedeki ışığa karşı (400-800 nm) daha yüksek bariyer, diğer bir deyişle daha düşük şeffaflık (saydamlık) derecesine işaret ettiği belirtilmiştir. Artan kil oranı ile film şeffaflığının azalması, ışık maruziyeti ve oksidatif bozulmayı azalttığı için peynir ambalajı açısından olumlu olduğu belirtilmiştir. Başka bir çalışmada, farklı oranlarda MMT kili ilave edilerek elde edilen aljinat bazlı nanokompozitlerin ışık geçirgenliği analizinde artan MMT konsantrasyonu ile geçirgenlik değerlerinde azalma gözlemlenmiştir. MMT içeren filmler, 200-280 nm arasındaki UV ışığında daha düşük ışık geçirgenliği göstermiştir. Bu sonuçlar MMT içeren aljinat filmlerin, gıda sistemlerinde UV ışığı kaynaklı lipit oksidasyonunu geciktirme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca MMT ilavesi, film opaklığında belirgin artışa neden olmuştur [92]. Tezcan vd. [165] ve Tibolla vd. [86] inceledikleri biyonanokompozit yapısına nanoparçacık ilavesi ile görünür bölgedeki ışık geçirgenliği sonuçlarında azalma elde etmelerine rağmen, filmlerin hala şeffaf olduğunu raporlamışlardır. Bu tez çalışmasında da benzer şekilde, matrikse kil ilavesi ile görünür bölgede ışık geçirgenliğinde azalma ve opaklık sonuçlarında artış olması ile birlikte, nanokompozitlerin görsel olarak şeffaf olduğu değerlendirilebilir.

4.3.2.4 Filmlerin Mekanik Özellikleri

Çekme dayanımı ve kopma anında uzama sonuçları Tablo 4.24'te verilmiştir. Sodyum aljinat esaslı filmlerin çapraz bağlayıcı ajan ile muamele edilmesi sonucunda yapıda kararlı ağ oluşumu sayesinde çekme dayanımı değerlerinde artış elde edilmiştir. Ayrıca $CaCl_2$ işlemi ile çapraz bağlanma sayesinde filmlerin

kırılganlığı önemli ölçüde artmış ve esneklik azalmıştır [82], [171]. Daldırma yöntemi ile hazırlanan sodyum aljinat esaslı filmlerin çekme dayanımı ve kopma gerilmesi sonuçlarındaki değişim, yapıya $CaCI_2$ karıştırma yöntemine göre daha belirgin olmakla beraber [79]; bu çalışmada hem yapıya doğrudan $CaCI_2$ ekleme (mix) hem $CaCI_2$'e daldırma (immerse) yöntemleri bir arada kullanılarak sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin yapıları güçlendirilmiştir. Bu nedenle 5 kg'lık yük hücresi ile çalışmalar gerçekleştirildiğinde yapıda deformasyon (delinme, kopma gibi) tam olarak gerçekleşmediği için 100 kg'lık yük hücresi ile çalışılma ihtiyacı doğmuştur. Filmlerin kalınlığı ortalama 0,072±0,006 mm olarak belirlenmiş ve aralarında istastistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.24 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin çekme dayanımı ve kopma uzaması değerleri

Film Materyali	Kopma Anındaki Uzama (%)	Çekme Dayanımı (mPa)
SA	368,77±10,82^{a}	17,67±1,43^{c}
SA-Mt-1	355,87±12,09^{ab}	18,08±2,27^{c}
SA-Mt-3	349,46±15,99^{b}	19,13±1,12^{bc}
SA-Mt-5	351,08±11,69^{b}	20,49±3,38^{abc}
SA-CTAB-oMt-1	352,46±11,53^{b}	20,85±2,59^{abc}
SA-CTAB-oMt-3	348,28±7,95^{b}	21,43±1,68^{ab}
SA-CTAB-oMt-5	344,35±4,43^{b}	22,10±2,68^{ab}
SA-Tween-oMt-1	354,35±13,84^{ab}	20,97±1,30^{ab}
SA-Tween-oMt-3	347,68±17,38^{b}	22,72±2,58^{ab}
SA-Tween-oMt-5	351,99±13,20^{b}	22,45±2,03^{ab}

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-c}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Kopma uzaması değerleri incelendiğinde, en yüksek sonucun yapısında kil içermeyen kontrol örneğinde (SA) elde edildiği, kil ilavesi ile birlikte bu değerlerin %3-7 seviyelerinde azaldığı görülmüştür. Çalışmada, hem film solüsyonuna ekleme hem de filmlerin daldırılması yöntemleriyle uygulanan çapraz bağlanma ajanı sayesinde oluşan güçlü ağ yapısı, kopma uzaması değerlerinin birbirine oldukça yakın çıkmasına ve yapıya kil ilavesine rağmen nanokompozit filmler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamasına neden olmuştur. Kopma uzaması

analizinde elde edilen gerilme-uzama grafikleri üzerinden malzemenin gerilme anında dayanabileceği en yüksek değer olan çekme dayanımı sonuçları hesaplanmıştır. Kontrol örneği en düşük sonuca sahip olup, yapıya eklenen kil ile çekme dayanımı değerleri artış göstermiştir. En yüksek değerler ise organokil eklenmiş örneklere ait olup, farklı organokil seviyeleri için aralarında istatistiksel olarak fark çıkmamıştır ($p>0,05$).

Polimerin yapısına eklenen nanokilin mekanik özellikleri güçlendirici etkisi, literatürde yer alan çalışmalarda da ortaya konmuştur. Prasetia vd. [172] sodyum aljinat esaslı malzemelerin yapısına bentonit ilave edilerek nanokompozit filmlerin mekanik özelliklerini (yırtılma direnci, çekme dayanımı, elastikiyet katsayısı ve uzama yüzdesi) incelemişlerdir. Artan oranlarda kil kullanımı sonucunda yırtılma direnci, çekme dayanımı ve elastikiyet katsayısı özelliklerinde artış görülürken, uzama katsayısı değerinde önemli ölçüde azalma olduğu belirtilmiştir. Yapıda kil kullanımının daha yüksek çekme dayanımı sağlaması, bentonitin silikat katmanlarının sodyum aljinat içinde eksfoliye olmasının ve filmin güçlü bir matriks yapısı oluşturabildiğinin göstergesi olduğu belirtilmiştir. Uzama katsayısındaki azalmanın, nanokil gibi katı parçacıkların ilave edildiği filmlerde genellikle gerçekleştiği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada ise kuru haldeki nanokompozitler yerine sulu ortamda şişirilmiş hidrojellerin mekanik özelliklerinin incelenmesinin, uygulamada sulu gıda veya gıda benzeri ile temas eden biyoesaslı nanokompozit malzemelerin mekanik özelliklerin incelenebilmesine imkan vermesi açısından dikkat çekici bulunmuştur. Çalışmada kalsiyum iyonları ile çapraz bağlanmış montmorillonit/aljinat nanokompozitlerin (Ca^{2+}-MtAlg) hidrojel halde mekanik özellikleri açısından değerlendirildiğinde, yapısında %30 Mt içeren filmler (Mt3Alg7), %20 (Mt2Alg8) ve %50 Mt (Mt5Alg5) içerenlere göre daha iyi Young's modulus ve çekme dayanımı değerleri sergilemiştir. %30 Mt içeren filmlerin, %20 Mt'ye kıyasla daha yüksek kil oranına sahip olması sonucunda nanodolgu ile matriks arasındaki artan elektrostatik kuvvetler ve hidrojen bağlarının yapıdaki çapraz bağ yoğunluğunu arttırarak mekanik performansı geliştirdiği belirtilmiştir. Ayrıca pozitif yüklü Ca^{+2} iyonları ile %30 Mt oranına sahip materyallerin yapısındaki daha fazla bulunan negatif yüklü Mt katmanları tarafından absorplandığından, elektrostatik çekim artış göstermiş ve bunun sonucunda çapraz bağ yoğunluğu, Young modülü ve çekme dayanımı değerleri

yükselmiştir. Öte yandan, Mt3Alg7 filmi, Mt2Alg8'e kıyasla kopma uzamasının yarısı kadar bir değer sergilemiştir. Bu durum, nanokompozit filmde daha düşük miktarda esnek aljinat zinciri bulunması ve daha yüksek çapraz bağ yoğunluğuna sahip olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Mt5Alg5'te montmorillonit içeriği Mt3Alg7'ye göre daha fazla olmasına rağmen, daha yüksek suda şişme (su absorpsiyon kapasitesi) sonuçları sergilemesi mekanik özelliklerin Mt3Alg7'ye kıyasla bozulmasına yol açmıştır. Bu durumda Mt5Alg5 için Mt katmanlarına adsorbe olan Ca^{2+} miktarının azaldığı, çapraz bağ yoğunluğu ve mekanik özelliklerin düştüğü belirtilmiştir [83].

4.3.2.5 Filmlerin Bariyer Özellikleri

- **Su Buharı Geçirgenliği**

Su buharı geçirgenliği sonuçları Tablo 4.25 ve Şekil 4.28'de verilmiş olup, elde edilen nanokompozit materyallerin WVP özelliklerinde gelişmeler elde edilmiştir.

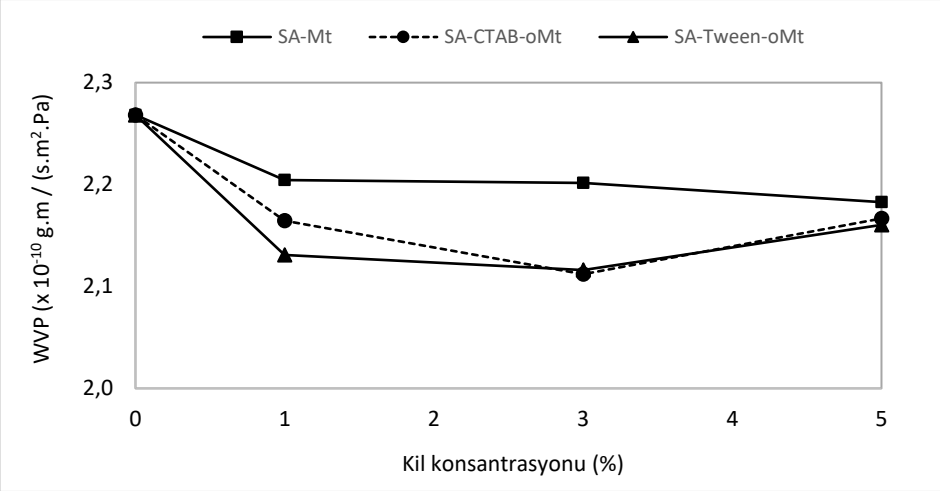
Tablo 4.25 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin su buharı geçirgenliği (WVP) sonuçları

Film Materyali	WVP × 10^{-10} ($g \cdot m \cdot s^{-1} \cdot m^{-2} \cdot Pa^{-1}$)
SA	$2,27 \pm 0,02^{a}$
SA-Mt-1	$2,20 \pm 0,01^{b}$
SA-Mt-3	$2,20 \pm 0,02^{cd}$
SA-Mt-5	$2,18 \pm 0,01^{de}$
SA-CTAB-oMt-1	$2,16 \pm 0,00^{ef}$
SA-CTAB-oMt-3	$2,11 \pm 0,02^{g}$
SA-CTAB-oMt-5	$2,17 \pm 0,01^{ef}$
SA-Tween-oMt-1	$2,13 \pm 0,00^{g}$
SA-Tween-oMt-3	$2,12 \pm 0,00^{g}$
SA-Tween-oMt-5	$2,16 \pm 0,00^{f}$

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-g}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Literatürde sodyum aljinat/jelatin film matriksine farklı seviyelerde (%0,3, 0,5, 1,0) Mt nanokili ilave ederek elde edilen nanokompozit materyallerin su buharı geçirgenlik değerleri incelendiği ve kontrol örneğine kıyasla nanokompozitlerde azalma olduğu raporlanmıştır. Bu duruma neden olarak Mt kil katmanlarının disk

benzeri morfolojisinden dolayı, su buharı difüzyonu için dolambaçlı yolların oluşumu verilmiştir [90]. Böylece su ve gaz moleküllerinin materyal boyunca difüze olabilmesi için kıvrımlı yollar oluşmakta, film matriksi boyunca alacakları ortalama yol uzunluğu artmakta ve su buharı difüzyonu gecikmektedir [139], [173]. Ayrıca ilgili çalışmada [90] bu tür ambalajların gıdadaki kullanımına örnek olarak çedar peyniri ile çalışmış olup, nanokompozit yapının sahip olduğu düşük su buharı geçirgenliği sonuçları sayesinde, depolama boyunca peynirdeki yüksek nem kaybının önüne geçtiği, yapısal sertlik artışına engel olduğu ve istenmeyen organoleptik özelliklerin oluşmasını engellediği belirtilmiştir. Su buharı geçiş hızının bilinmesi ile ambalaj içerisine konulan gıdanın türüne bağlı olarak depolama boyunca ürünün raf ömrü özellikleri geliştirilebilmektedir. Daha düşük WVP değerleri ambalaj içerisindeki gıdanın nem (su buharı) geçişine karşı korunduğunu göstermektedir. Bu özellikler, büyüyen gıda ambalajı pazarında firmaların bir adım öne çıkmalarını sağlayabilmektedir [90]. Alboofetileh vd. [92] sodyum aljinat matriksine farklı oranlarda (%1, 3, 5) Mt kili ekleyerek nanokompozit film materyalleri elde etmişlerdir. Su buharına karşı geçirimsiz Mt silikat tabakaların yapıya eklenmesi ile WVP değerinde görülen düşüş eğilimi, bu çalışma ile benzer seviyelerde olmuştur. Farklı bir çalışmada ise nişasta ve sodyum aljinattan oluşan polimer matriksinin içerisine farklı seviyelerde Mt (%2, 4, 6, 8, 10) katılarak biyobozunur film materyalleri elde edilmiştir. Su buharı geçirgenliği analizi sonucunda, yapıya ilave edilen Mt miktarının artması ile WVP değerinde önce azalış ardından yükselme olduğu belirtilmiştir. Çalışmada, en düşük WVP değerine %6 Mt eklendiğinde, homojen bir şekilde polimer matriksinde dağılmış tabakalı silikat yapının elde edildiği belirtilmiştir. Gaz veya sudan etkilenmeyen Mt kili, materyalin suya karşı daha iyi dayanıklılık göstermesini sağladığı raporlanmıştır [26]. Bu çalışmada da benzer şekilde yapıya kil ilavesi ile %3 seviyesine kadar arttırıldığında, WVP sonuçları azalış göstermiş ve sonrasında yapıdaki kil miktarının arttırılması ile sonuçlarda yükselme olmuştur (Şekil 4.28).



Şekil 4.28 Sodyum aljinat esaslı film materyallerinin su buharı geçirgenliği (WVP)

SA-Mt: Modifiye edilmemiş nanokil içeren film, SA-CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren film, SA-Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren film.

- **Oksijen Geçirgenliği**

Nanokompozit filmler ile korunan yağlara ait peroksit değerleri (dolaylı olarak oksijen geçirgenliği) Tablo 4.26'da ve Şekil 4.29'da verilmiştir. Herhangi bir film örneği ile kaplanmayan yağ numunesinde peroksit değeri 10,48±0,44 meq O_2/kg yağ olarak belirlenirken, bu değere en yakın peroksit değeri (7,44 meq O_2/kg yağ) yapısında nanokil içermeyen kontrol filmi (SA) ile kaplanan örnekte elde edilmiştir. Film yapısına Mt/oMt ilavesiyle birlikte peroksit değerlerinde yaklaşık %17-35 oranında azalma elde edilmiş olup, bu durum matrikse kil katkısının yağın oksidatif stabilitesini artırdığını göstermektedir. İstatistiksel olarak ($p<0,05$) en düşük sonuçlar %3 ve %5 seviyelerinde organokil içeren SA-CTAB-oMt ve SA-Tween-oMt filmlerinde olmuştur. Bu sonuçlar matriksteki organokillerin yağın oksidasyonunu azalttığını ve daha düşük oksijen geçirgenliği özelliklerine sahip olduğunu göstermektedir. SA-CTAB-oMt ve SA-Tween-oMt materyallerinde organokil miktarının %1 seviyesinde elde edilen PV değeri ile modifikasyon işlemi uygulanmamış nanokilin bulunduğu SA-Mt materyalinde ancak %3 seviyesinde elde edilebilmiştir. Bu durum organomodifikasyon işleminin etkinliğini göstermesi açısından önemlidir. Böylece sodyum aljinat esaslı materyal yapısında daha az kil kullanımı ile peroksit değeri ve dolaylı olarak oksijen geçirgenliğinde azalma elde edilebilmiştir.

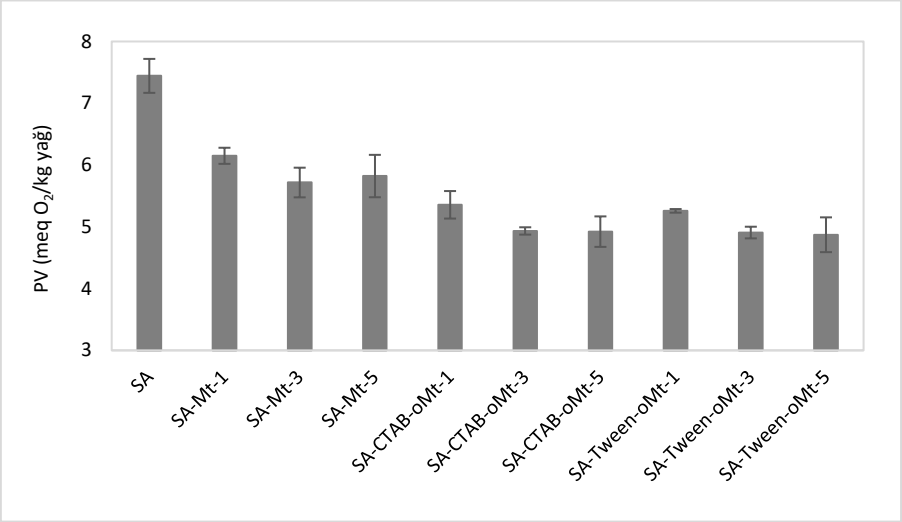
Tablo 4.26 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmler ile korunan yağ örneklerinin ait peroksit değerleri (PV)

Film Materyali	PV (meq O_2/kg yağ)
SA	7,44±0,27[a]
SA-Mt-1	6,15±0,13[b]
SA-Mt-3	5,72±0,24[cd]
SA-Mt-5	5,82±0,29[bc]
SA-CTAB-oMt-1	5,36±0,22[de]
SA-CTAB-oMt-3	4,93±0,06[f]
SA-CTAB-oMt-5	4,92±0,25[f]
SA-Tween-oMt-1	5,26±0,03[ef]
SA-Tween-oMt-3	4,91±0,09[f]
SA-Tween-oMt-5	4,87±0,28[f]

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. [a-f]: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Literatürdeki bir çalışmada salep glukomannan, keçiboynuzu gamı ve guar gamı matrikslerine plastikleştirici olarak gliserol ilave edilmiş ve çözelti döküm tekniği ile yenilebilir biyobozunur filmler elde edilmiştir. Çalışmada mannan filmleri ile kaplanmış tüplerdeki ayçiçek yağının peroksit sayısı sonuçları incelenmiştir. Filmler ile kaplanmamış yağa kıyasla, materyal ile kaplanmış yağdaki azalmış PV değerinin, biyobozunur filmlerin yapısındaki yoğun mannan zincirlerinin oksijen geçişini engellemesi sonucunda ortaya çıktığı ve PV sonuçlarının düşmesini sağladığı raporlanmıştır [94]. İlaslan [71] polikaprolakton (PCL) polimeri içerisine nanokil katılarak ürettikleri nanokompozit filmlerin okisjen geçirgenliği analizinde, matriksteki nanokillerin atmosferdeki oksijenin deney tüpünün içerisine geçişini yavaşlattığını ve bariyer özelliği gösterdiğini kanıtlamıştır. Nanokompozit materyal ile korunan yağların daha düşük peroksit değeri, bu malzemelerin daha yüksek oksijen bariyeri özelliklerine sahip olduğunu göstermektedir. Materyal yapısında yer alan nanodolgunun neden olduğu dolaşımlı, kıvrımlı yol (tortous path) ortamdaki oksijen molekülünün ambalaj boyunca ilerleyerek içteki yağa doğru penetrasyonuna engel teşkil edebilmekte ve oksijen geçirgenliğinde azalmaya neden olabilmektedir. Mevcut çalışmada özellikle organokil içeren örnekler ile

korunan yağlardaki düşük peroksit değeri, dolaylı olarak nanokompozit malzemelerin düşük oksijen geçirgenliğine sahip olduğunu göstermektedir [96]. Materyalin bariyer özelliğindeki iyileşme sonucunda yağdaki oksidasyon süreci daha yavaş ilerlemiş ve yağın peroksit değeri düşük kalmasını sağlamıştır. Ancak %3 ve %5 organokil içeren materyaller ile korunmuş yağların PV değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.29 Sodyum aljinat esaslı filmler ile kapatılmış ayçiçek yağlarının peroksit değerleri (PV)

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir

- **Su Absorpsiyon Kapasitesi ve Suda Çözünürlük Özellikleri**

Sodyum alijnat esaslı nanokompozit film materyallerinin su absorpsiyon kapasitesi ve suda çözünürlük analiz sonuçları Tablo 4.27'de verilmiştir. Genel olarak bir film materyali yüksek su absorpsiyon kapasitesine sahip olduğunda, su moleküllerinin hidrojen bağları ile hidroksil gruplarına bağlanması nedeniyle, su içinde daha kolay çözünme eğilimi göstermektedirler [174]. Tez çalışmasında da benzer şekilde su absorpsiyonu ve suda çözünme sonuçları farklı büyüklüklerde olmasına rağmen Şekil 4.30'da gösterildiği üzere benzer bir değişim trendi elde edilmiştir. En yüksek su absorpsiyon kapasitesi (%75,6) yapısında kil içermeyen kontrol materyalinde olmuştur. Yapıya eklenen kil ile elde edilen nanokompozit malzemelerde W_a değerleri %9-30 oranında düşüş göstermiştir. Organokil seviyesinin %3'e kadar arttırılması ile W_a sonuçlarındaki belirgin düşüş, yapıda gömülü olan Mt kilinin su difüzyonu engelleyen dolambaçlı yollar oluşturması ve nanopartiküller ile matriks

arasındaki yüksek etkileşim sayesinde serbest hidroksil gruplarındaki azalmadan kaynaklanmaktadır [98], [139], [175]. Ayrıca modifiye olmayan kil içeren SA-Mt materyalinde nanokil içeriğinin %3'ten %5'e çıkarılması sonucunda su absorpsiyon kapasitesi sonuçlarında hafif bir artış elde edilmiştir. Bu durum kil yapısında sürfaktan kullanımının silikat tabakaların organomodifikasyon ile interkalasyon ve/veya eksfoliasyon sağlamadaki önemini ortaya koymaktadır. Organokil içeren nanokompozit film materyallerinin (SA-CTAB-oMt ve SA-Tween-oMt), nanokil içerenlere (SA-Mt) göre daha düşük değerlere sahip olması tabakalarına ayrılmış organokillerin matrikste homojen bir şekilde dağılım gösterdiğini kanıtlanmaktadır. En düşük W_a sonuçları ise non-iyonik sürfaktan içeren organokilin katıldığı film materyalleri (SA-Tween-oMt) için elde edilmiştir.

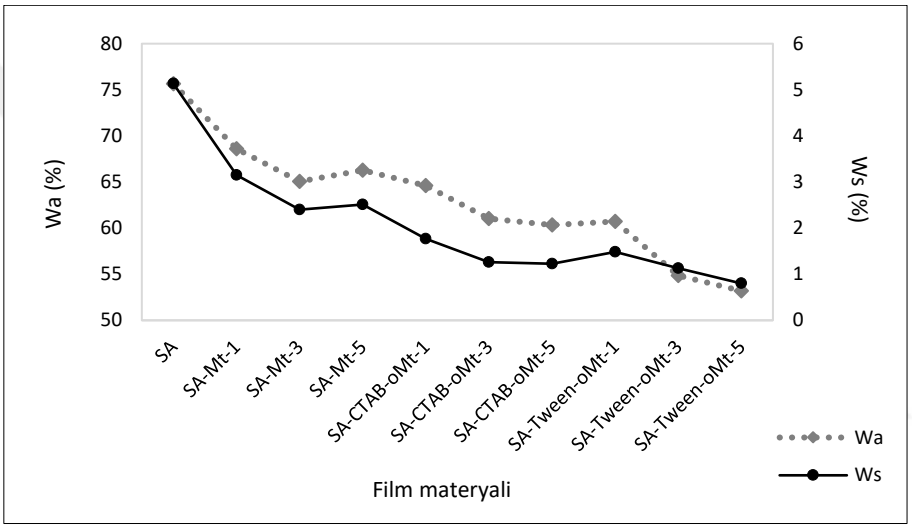
Tablo 4.27 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit film materyallerinin su absorpsiyon kapasitesi (W_a) ve suda çözünürlük (W_s) analiz sonuçları

Film Materyali	W_a (%)	W_s (%)
SA	$75,6\pm1,5^{a}$	$5,1\pm0,4^{a}$
SA-Mt-1	$68,6\pm0,9^{b}$	$3,1\pm0,3^{b}$
SA-Mt-3	$65,0\pm1,6^{c}$	$2,4\pm0,1^{c}$
SA-Mt-5	$66,3\pm0,8^{bc}$	$2,5\pm0,2^{c}$
SA-CTAB-oMt-1	$64,6\pm0,8^{c}$	$1,8\pm0,2^{d}$
SA-CTAB-oMt-3	$61,0\pm1,6^{d}$	$1,3\pm0,1^{e}$
SA-CTAB-oMt-5	$60,3\pm1,6^{d}$	$1,2\pm0,2^{e}$
SA-Tween-oMt-1	$60,7\pm1,8^{d}$	$1,5\pm0,2^{de}$
SA-Tween-oMt-3	$54,8\pm1,8^{e}$	$1,1\pm0,1^{ef}$
SA-Tween-oMt-5	$53,2\pm1,2^{e}$	$0,8\pm0,1^{f}$

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-f}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Kontrol materyalinin sahip olduğu yüksek W_s değeri (%5,1), sodyum aljinat ve gliserol bileşenlerinin hidrofilik doğasından kaynaklanmakta olup, yapıya katılan çapraz bağlanma ajanı ile hidrofilik özellik azaltılmaya çalışılmıştır. Ayrıca filmlere kil ilavesiyle W_s değerleri düşüş eğilimi göstererek, suda çözünürlük analiz sonuçları yaklaşık %39-84 oranında azalmıştır. En düşük W_s değerleri non-iyonik sürfaktan içeren organokillerin katıldığı materyallerde (SA-Tween-oMt-3 ve SA-

Tween-oMt-5) elde edilmiştir. Özellikle matriksteki organokil %1 ve %3 seviyelerindeyken, nanopartiküllerin yapıda homojen dağılması sonucunda W_a ve W_s sonuçlarında azalma daha belirgindir. Genel olarak organokilin %3'ten %5 seviyesine çıkarılması ile su absorpsiyon kapasitesi ve suda çözünme aynı seviyelerde kalmış veya hafif bir azalma eğilimi sergilemiş, istatistiksel olarak bu iki seviye arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Mt konsantrasyonunun %5'e çıkarılması, polimerde olası topaklanmaya (aglomerasyon) neden olarak W_a ve W_s sonuçlarında istatistiksel olarak önemsiz bir azalış göstermiştir. Sonuçlardaki azalma ve materyalin suya karşı direncindeki artış, yapıda kullanılan nanodolgunun içeriği ve polimer matriksteki dağılımına bağlı değişikliği göstermektedir [98].



Şekil 4.30 Sodyum aljinat esaslı film materyallerinin su absorpsiyon kapasitesi (W_a) ve suda çözünürlüğü (W_s)

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde farklı seviyelerde (%1, 3, 5) Mt kili ile aljinat bazlı nanokompozitlerde düşük suda çözünürlük sonuçları (%36-40 azalma) elde edildiği raporlanmıştır. Matrikse Mt kilinin eklenmesi ile azalan suda çözünürlükte değerleri üretilen biyopolimerlerin suya karşı dirençlerinin arttığını kanıtlamaktadır [92]. Lee vd. [139] tarafından kitosan ve farklı oranlarda HNT nanotüpünden (%5, 10, 15, 20, 25, 30) oluşan nanokompozit filmlerde kil içeriğinin arttırılması ile su absorpsiyon sonuçlarında azalma görülmüştür. Biyoesaslı kitosan polimerine %25 seviyesine kadar HNT nanokilinin eklenmesi su moleküllerine

karşı bariyer görevi sergilerken, bu seviyenin üstündeki kil oranında elde edilen su absorpsiyonu sonuçlarında istatistiksel olarak bir farklılık elde edilmediği ($p>0,05$) raporlanmıştır. Başka bir çalışmada polivinil alkol ve nişastadan oluşan kompozite farklı seviyelerde HNT kili ilave ederek su absorpsiyonu ve suda çözünürlük özellikleri incelenmişlerdir. Nanokompozit filmlerin yapısındaki HNT içeriğinin %5 seviyesine kadar arttırılmasıyla, su absorpsiyon kapasitesi ve suda çözünürlük sonuçları, sırasıyla %44 ve %48 oranında azalmıştır [98]. HNT'lerin nispeten hidrofobik yapısı ve polimer matriksleri ile nanodolgular arasında hidrojen bağlarının oluşması, su moleküllerinin polimer matriksi boyunca difüzyonunu kısıtlayabilmektedir. HNT yapısında SiO_2 grupları, polimer matrikslerindeki serbest hidroksil gruplarını tüketerek güçlü hidrojen bağları oluşturabilmekte ve böylece su molekülleri ile materyalin etkileşim bölgelerinin sayısını azaltabilmektedir [148]. Bu tez çalışmasında kullanılan Mt, iki silika tetrahedral tabaka arasında alüminyum hidroksit oktahedral tabaka içeren alüminyum silikat tabakalı bir kil yapısında [4] olduğundan, yapıya eklenen kil miktarının arttırılması ile SiO_2 gruplarının etkisi sonucunda materyalin hidrofilik özelliğinde azalış elde edilmiştir.

- **Su Temas Açısı (Yüzey Hidrofilikliği)**

Su temas açısı analizi ile su molekülleri ve polimer yüzeyindeki moleküller arasındaki çekim kuvveti değerlendirilebilmektedir. Moleküllerin arasındaki çekim kuvveti ne kadar güçlü olursa, su temas açısı o kadar düşük olmakta ve dolayısıyla birbirlerine daha iyi bağlanmaktadır [154], [155]. Nanokompozit filmlerin yüzey hidrofiliklik (ıslanabilirlik) özelliği temas açısı ölçümüyle değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.28'de verilmiştir. Sodyum aljinat esaslı filmlerde kalsiyum klorür kullanılmasının, biyofilmin hidrofilikliğini azaltarak, suya dayanımını artırmada önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. İncelenen sodyum aljinat esaslı malzemelerin WCA sonuçları 90°'nin altında olmakla beraber, uygulanan çapraz bağlama işlemi materyallerin suya dayanıklılığının artmasını sağladığı optimizasyon çalışmalarında görülmüştür [171]. Çalışmada en düşük su temas açısı değerleri istatistiksel olarak ($p<0,05$) kontrol örneği (SA) ile SA-Mt-1 filmlerinde elde edilmiştir. Su temas açısı değerleri, yapıya kil ilavesi ile hidrofobikliğin arttığını göstermiştir. Bu gelişme, su buharı bariyer özelliklerinin gerekli olduğu gıda ambalaj malzemeleri uygulamaları için istenilen bir durumdur. Özellikle %5

seviyesinde modifiye veya modifiye edilmemiş kil içeren nanokompozit malzemelerde yüksek WCA değerleri görülmüş olup, istatistik olarak ($p<0,05$) en yüksek sonuç SA-Tween-oMt-5 filmine aittir. Genel olarak organomodifiye kil eklenmiş nanokompozitler, modifiye edilmemiş kil eklenen filmlerden daha iyi sonuçlar sergilemiştir. Temas açısındaki artış, materyalin yüzeyine daha geçirimsiz ve hidrofobik özellik kazandıran organomodifiye kilin yapısındaki sürfaktanlardaki hidrofobik alkil gruplarından kaynaklanmaktadır [176]. Örnekler arasındaki en düşük ve en yüksek su temas açısı sergileyenler Şekil 4.31'de verilmiştir.

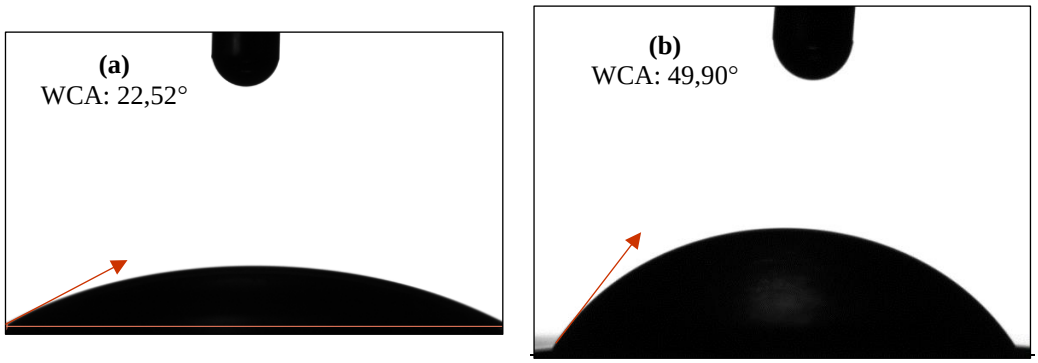
Tablo 4.28 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin su temas açısı (WCA) değerleri

Film Materyali	WCA (°)
SA	$22,52\pm1,77^{f}$
SA-Mt-1	$25,29\pm2,33^{ef}$
SA-Mt-3	$30,79\pm2,60^{d}$
SA-Mt-5	$39,01\pm2,43^{c}$
SA-CTAB-oMt-1	$26,60\pm1,97^{e}$
SA-CTAB-oMt-3	$32,16\pm2,17^{d}$
SA-CTAB-oMt-5	$42,85\pm3,23^{b}$
SA-Tween-oMt-1	$30,44\pm3,42^{d}$
SA-Tween-oMt-3	$34,16\pm3,32^{d}$
SA-Tween-oMt-5	$49,90\pm4,40^{a}$

SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-f}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmanın sonuçları literatürdeki bulgularla uyumludur. Örneğin bir çalışmada sodyum aljinat ve jelatinden oluşan matrikse nanokil eklenerek gıda ambalaj filmi elde edilmiştir. Gerçekleştirilen su temas açısı analizi ile yapıya eklenen nanokilin, filmlerin hidrofilik özelliğini azalttığı ve WCA değerlerini yükselttiği belirtilmiştir [90]. Zheng vd. [177] çalışmalarında, sodyum aljinat ve jelatinden oluşan film materyallerinin yapısına nanodolgu olarak kitin kristalleri (CW) eklemiş ve elde edilen nanokompozit filmleri %4 $CaCI_2$ solüsyonuna daldırmışlardır. CW ilavesiyle birlikte elde edilen filmlerin WCA değerleri artış göstererek daha iyi suya dayanıklılık özelliği sergilemiştir. Yapıya katılan nanopartikül ile sodyum

aljinat/jelatin matriksi arasındaki hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimlerin varlığı, kompozit filmin yapısal sıkılığını arttırmış ve bu durum filmin hidrofobikliğine katkı sağlamıştır.



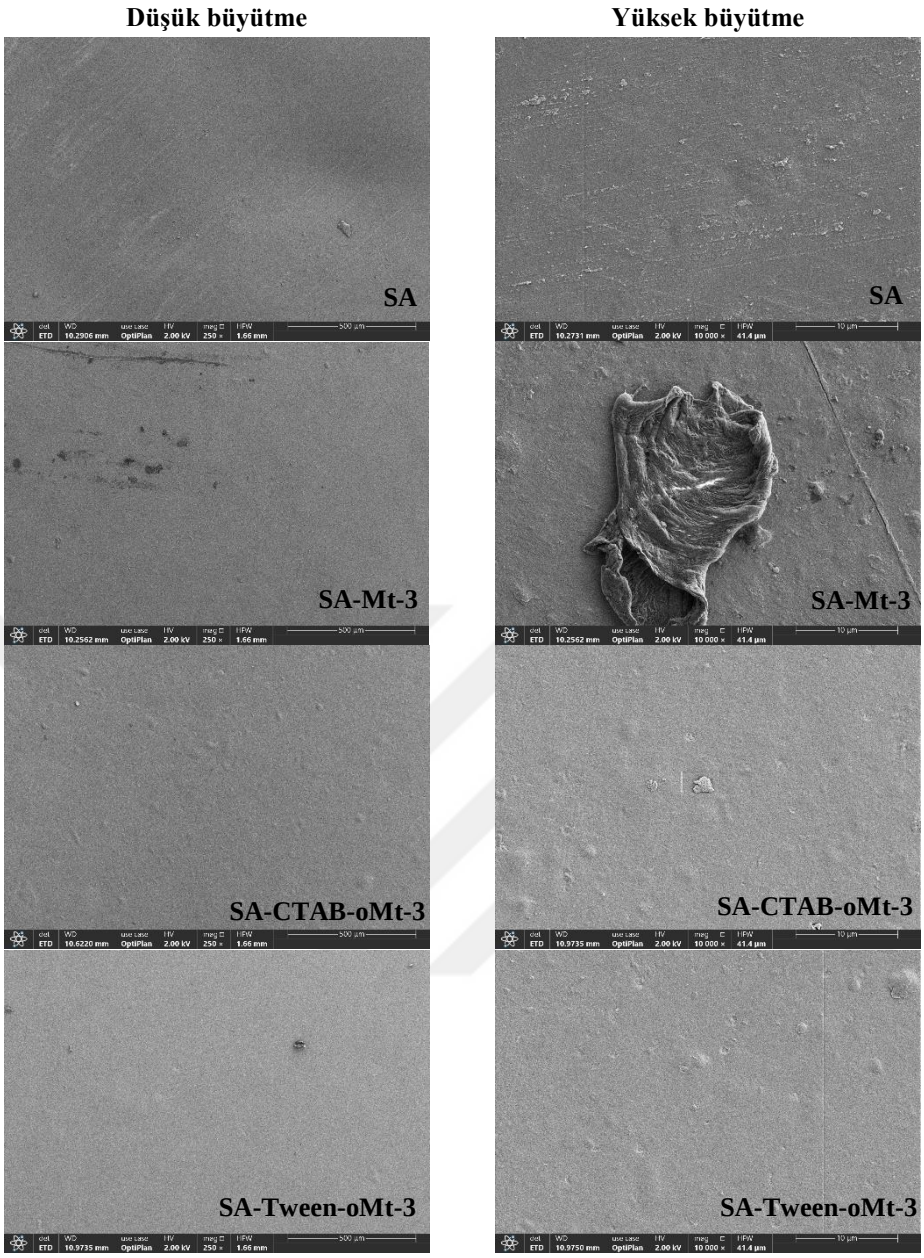
Şekil 4.31 Sodyum aljinat esaslı (a) en hidrofilik (SA) ve (b) en hidrofobik (SA-Tween-oMt-5) materyallerine ait su temas açısı görüntüleri

SA: Kil içermeyen kontrol filmi, SA-Tween-oMt-5: Non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokilden %5 seviyesinde içeren film.

4.3.2.6 Filmlerin Yüzey Morfolojisi

Çalışmada %3 seviyesindeki kil ve organokil nanoparçacıklarının sodyum aljinat film matriksinde morfolojik özellikleri ve dağılımı SEM analizi ile incelenmiş ve elde edilen mikrograflar Şekil 4.32'de verilmiştir. Daha yüksek kil konsantrasyon seviyesinde (%5) filmlerde taktoid ve kümelenme oluşumuna neden olabildiği gerçekleştirilen diğer karakterizasyon analizlerinde belirlenmiştir. Polimer yapısına eklenen nanodolgu maddesinin film kalitesini düşürmeden, esnekliğin fazla azalmasına neden olmadan, homojen dağılımını sağlamak için uygun dolgu konsantrasyonunun seçilmesi büyük önem taşımaktadır [178].

Kil içermeyen kontrol filmine (SA) ait mikrograflarda gözlenen yüzey pürüzlülüğü ve düzensizlikler çapraz bağlanma ile ilişkili olabilmektedir. Aljinat yapısı ile Ca^{+2} iyonları arasındaki etkileşimler sonucunda meydana gelen yumurta kutusu yapısının, küçük agregat oluşumları şeklinde görüldüğü belirlenmiştir [33]. Ancak modifiye olmayan kil içeren SA-Mt-3 nanokompozit filminde kontrole göre daha az düzgün yüzey ve aglomerasyonlar görülmüştür. Organokil içeren SA-CTAB-oMt-3 ve SA-Tween-oMt-3 nanokompozitlerinde ise nanopartikül matrikste homojen dağılım göstermiş ve sodyum aljinat matriksi ile uyumluluk göstermiştir. Bu sonuçlar polimer matriksinde %3 seviyesinde organokilin belirgin bir aglomerasyon olmaksızın homojen dağıldığını ve yapısal bütünlüğü göstermektedir.



Şekil 4.32 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit film yüzeylerinin düşük (250x) ve yüksek (10.000x) büyütmedeki SEM mikrografları

SA: Kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt-3: Modifiye edilmemiş kilden %3 seviyesinde içeren film, SA-CTAB-oMt-3: Katyonik sürfaktan eklenmiş organokilden %3 seviyesinde içeren film, SA-Tween-oMt-3: Non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokilden %3 seviyesinde içeren film.

Literatürdeki bir çalışmada farklı oranlarda montmorillonit kili eklenmiş aljinat esaslı nanokompozitler üretilerek incelenen SEM görüntülerinde, düşük kil içeriği seviyesinde (<%5) polimer matriksinde yüksek derecede kil dağılımı elde edildiğini belirtilmiştir [92]. Zhang & Chen [26] nişasta ve sodyum aljinat karışım matriksine montmorillonit nanodolgusu ilavesi ile kompozit filmler geliştirmiştir. SEM ile incelenen kesit morfolojisinde, kontrol materyalinde plastikleştici ve polimer moleküllerinin homojen dağılmamasına bağlı olarak bazı gözenekler gözlenmiş;

ancak genel yapı yoğun ve düzgün bir görünüm sergilemiştir. MMT kili ilavesi ile kesit morfolojisindeki belirgin tabakalı yapı; kilin matriks içinde iyi bir şekilde karıştığını göstermiştir. Bununla birlikte, tabakalar arasındaki yüksek miktarda inorganik iyon nedeniyle MMT'nin nişasta matriksi içindeki dağılımı sınırlı olmuştur.

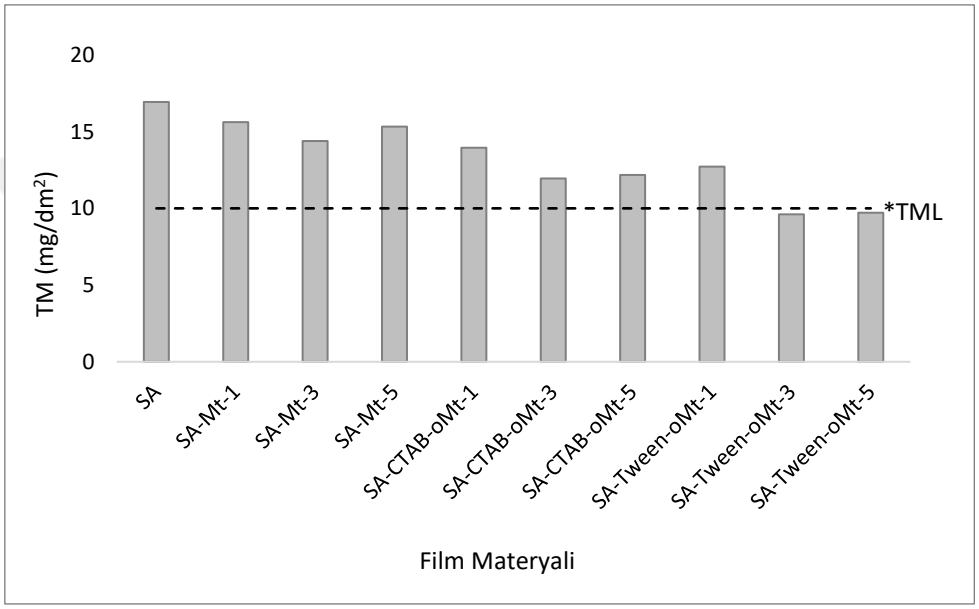
4.3.3 Filmlerin Migrasyon Özellikleri

Sodyum aljinat esaslı nanokompozitlerin toplam ve spesifik migrasyon özellikleri incelenmiştir.

4.3.3.1 Toplam Migrasyon Değerleri

Filmlerin farklı gıda benzerleri (asitli, sulu ve yağlı) ile TM sonuçları Tablo 4.29 ve Şekil 4.33'te verilmiştir. En yüksek değerler kontrol materyalinde elde edilmiş, matrikse kil ilavesi migrasyon sonuçlarında düşüş sağlamıştır. **Asitli gıda benzeri** ile gerçekleştirilen çalışmalarda TM0 test koşullarında TM sonuçlarındaki azalma, organokil ilave edilmiş nanokompozitlerde (SA-CTAB-oMt ve SA-Tween-oMt) modifiye edilmemiş nanokil içeren örneklere (SA-Mt) kıyasla daha fazla olmuştur. Mevzuat limitinin altına (<10 mg/dm^2) sadece SA-Tween-oMt-3 ve SA-Tween-oMt-5 nanokompozitlerinde inilmiş olup, istatistiksel olarak bu iki materyal arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$). **Sulu gıda benzeri** için TM0 test koşullarında tespit limitinin altında sonuçlar elde edilmiştir. Daha zorlu TM3 test koşullarında kontrol filmi ile beraber modifiye olmayan kil içeren film materyalleri (SA-Mt) için sonuçlar tespit limitinin üzerinde elde edilmiştir. Organokil içeren sodyum aljinat esaslı filmlerde (SA-CTAB-oMt ve SA-Tween-oMt) LOD seviyesinin altında sonuçların olması, Mt kilindeki tabakalarını ayrılarak interkalasyon/eksfoliasyonu sağlamada sürfaktanların etkin rol oynadığını ve böylece polimere eklenen organokilin toplam migrasyon sonuçlarını azaltmadaki etkisini göstermektedir. **Yağlı gıda benzeri %95 etil alkol** için TM0 test koşullarında kontrol (SA) ve modifiye olmayan nanokil içeren (SA-Mt) film materyalleri haricinde tespit limitinin altında sonuçlar elde edilmiştir. Daha zorlu TM3 test koşullarında tekrarlanan çalışmalarda, yapıya nanokil yerine organokil ilavesi ile daha düşük TM sonuçları elde edilmiştir. Ayrıca matrikste %3 ve %5 seviyelerinde modifiye olmamış nanokil kullanıldığında elde edilen TM değerleri ile %1 organokil içeren filmler için elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak

fark bulunamamıştır (p>0,05). Bu durum organokilin, modifiye edilmemiş kile göre biyopolimerde daha az kullanımı sonucunda migrasyon seviyelerinde azalma sağlayabildiğini göstermiştir. En düşük migrasyon sonucu ise SA-Tween-oMt-5 filminde elde edilmiştir. **Yağlı gıda benzeri izooktanda** 40°C-30 dk test koşulları için LOD seviyesinin altında sonuçlar elde edildiğinden, daha zorlu 60°C'de 1 saat temas koşullarında analiz yinelenmiştir. Daha zorlu test koşulları altında kontrol materyali (SA) dışında nanokompozit filmlerin tümünde tespit edilebilir düzeyin altında sonuçlar tespit edilmiştir.



Şekil 4.33 Farklı oranlarda (%1, 3, 5) kil içeren sodyum aljinat esaslı film materyallerinin asitli gıda benzeri ile toplam migrasyon (TM) sonuçları

SA: Kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt: Modifiye edilmemiş kil içeren film, SA-CTAB-oMt: Katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren film, SA-Tween-oMt: Non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren film, *TML: Toplam migrasyon limiti.

Literatürdeki bir çalışmada, polilaktik asit (PLA) matriksine saf selüloz nanokritallerinin (CNC) ve sürfaktan-modifiye selüloz kristallerinin (s-CNC) iki farklı oranda (%1 ve 5) ilavesinin TM davranışı üzerine etkisi %10 etil alkol ve izooktan gıda benzerlerinde incelenmiştir. Buna göre s-CNC içeren örnekler, CNC içeren örneklere kıyasla daha düşük migrasyon seviyelerine sahip olmuştur. Bu durum, sürfaktan ile modifiye edilmiş nanokristallerin polimer ile daha güçlü etkileşim göstermesinden kaynaklanmıştır. Bu tez çalışmasında da benzer şekilde organokil ilave edilmiş sodyum aljinat esaslı malzemelerde polar/apolar özellikteki gıda benzerleri ile daha düşük sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca %1 CNC ve %1 s-CNC içeren nanobiyokompozitlerin %10 etil alkol ile gerçekleştirilen TM

analizinde, aynı materyaller için izooktana kıyasla daha yüksek migrasyon seviyeleri elde edildiği raporlanmıştır. Migrasyonda polimer, migrant ve gıda benzeri arasındaki etkileşimlerden kaynaklanan polarite ve çözünürlük gibi termodinamik özellikler önemli bir rol oynamaktadır. Eğer migrant madde, simulant içinde düşük çözünürlüğe sahipse, polimer matriksi içinde tutulmaktadır. Bununla beraber gıda benzeri ile polimer arasındaki yüksek afiniteye dayalı eş zamanlı bir etkiden de dolayı, polimer matriksi tarafından simülatın absorpsiyonuna yol açabildiği belirtilmiştir. Buna göre, çözücünün polimer matriks tarafından absorbe edilmesi nanokristal gibi küçük parçacıkların ve PLA bozunma ürünlerinin salımına neden olmuş ve %10 etil alkol ortamında daha yüksek migrasyon sonuçları elde edilmiştir [179].

Mevcut çalışmada, sodyum aljinat esaslı malzemeler ile farklı test koşullarında gerçekleştirilen TM analiz sonuçlarına göre en yüksek değerlerin yapısında kil içermeyen kontrol materyali (SA) için elde edildiği, polimere Mt kilinin eklenmesi ile sonuçların azalma eğilimi sergilediği belirlenmiştir. Ayrıca, kile uygulanan organomodifikasyon işleminin TM sonuçlarının azalmasında etkili olduğu ve bazı test koşullarında sonuçların mevzuat limitinin altında, hatta tespit limitinin bile altında elde edildiği belirlenmiştir. Materyaller arasında genel olarak en düşük TM sonuçları non-iyonik sürfaktan içeren organokilin kullanıldığı nanokompozitlerde (SA-Tween-oMt) elde edilmiştir. Özellikle %3 ve %5 organokil içeren nanokompozitlerde gözlenen düşük migrasyon değerlerine dayanılarak, silikat tabakalarının matriks boyunca homojen bir şekilde dağılım gösterdiği ve tabakalarına ayrılmış kilin, matriks boyunca geçiş yapan moleküller (penetrant, migrant) için engel oluşturarak daha uzun bir yol izlemesine neden olduğu [4] ve böylece nanokompozit materyalin TM özelliklerini iyileştirdiği çıkarımı yapılabilir.

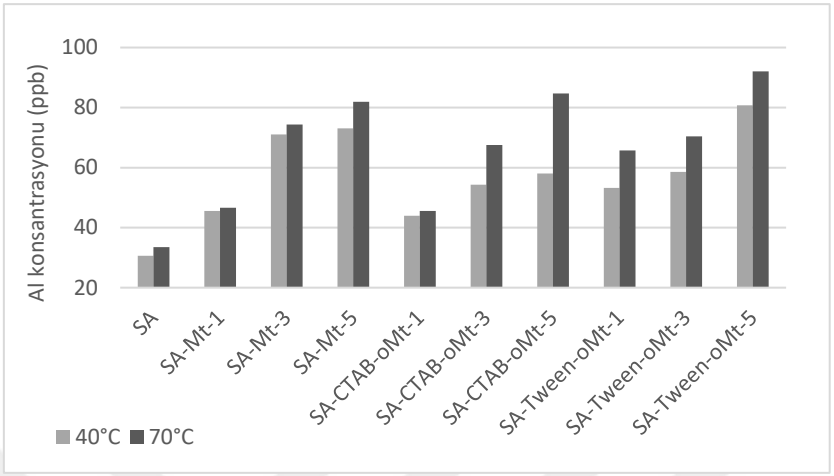
Tablo 4.29 Sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin toplam migrasyon değerleri (mg/dm^2)

Film Materyali	Asitli Gıda Benzeri	Sulu Gıda Benzeri		Yağlı Gıda Benzerleri			
				%95 Etil Alkol		İzooktan	
	TM0	TM0	TM3	TM0	TM3*	TM0	TM4*
SA	16,94±0,77^{a}	< LOD	7,72±1,02^{a}	1,56±0,38^{a}	7,00±0,33^{a}	< LOD	1,72±0,19
SA-Mt-1	15,61±0,51^{b}		3,94±0,19^{c}	1,44±0,19^{b}	5,67±1,00^{b}		< LOD
SA-Mt-3	14,39±0,19^{cd}		3,83±0,33^{c}	1,56±0,19^{b}	4,56±0,51^{cd}		
SA-Mt-5	15,33±0,60^{bc}		5,83±0,33^{b}	1,44±0,19^{b}	5,22±0,38^{bc}		
SA-CTAB-oMt-1	13,94±0,51^{d}		< LOD	< LOD	4,44±0,69^{cd}		< LOD
SA-CTAB-oMt-3	11,94±0,69^{e}				3,56±0,19^{e}		
SA-CTAB-oMt-5	12,17±0,67^{e}				4,00±0,67^{e}		
SA-Tween-oMt-1	12,72±0,77^{e}		< LOD	< LOD	4,22±0,38^{de}		< LOD
SA-Tween-oMt-3	9,61±0,51^{f}				4,00±0,67^{e}		
SA-Tween-oMt-5	9,72±0,19^{f}				2,33±0,33^{f}		

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. TM0: 40°C-30 dakika temas koşulu, TM3: 70°C-2 saat temas koşulu, TM3*: 60°C-2 saat temas koşulu, TM4: 60°C-1 saat temas koşulu, LOD: Tespit limiti (1 mg/dm^2). Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-f}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir.

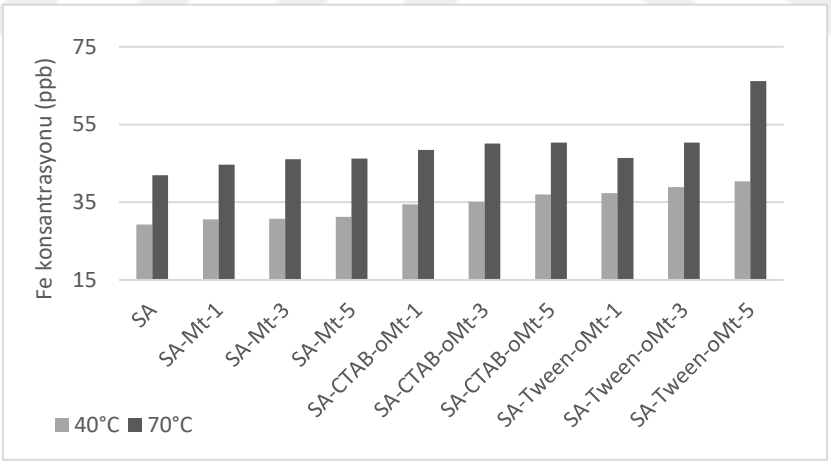
4.3.3.2 Spesifik Migrasyon Değerleri

Sodyum aljinat esaslı filmlerin SM analizi öncelikli olarak 40°C-30 dk gerçekleştirilmiş ve elde edilen element sonuçları Tablo 4.30'da verilmiştir.



Şekil 4.34 Sodyum aljinat esaslı filmlerin farklı temas koşullarında (40°C-30 dk ve 70°C-2 saat) alüminyum (Al) migrasyon seviyeleri

SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.



Şekil 4.35 Sodyum aljinat esaslı filmlerin farklı temas koşullarında (40°C-30 dk ve 70°C-2 saat) demir (Fe) migrasyon seviyeleri

SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir.

Yapıya katılan kil oranı ile **alüminyum** element migrasyonu artış eğilimi göstermiştir. En düşük sonuç (30,61 ppb) kil eklenmemiş kontrol örneğinde (SA) elde edilirken; en yüksek migrasyon değeri (80,77 ppb) SA-Tween-oMt-5 nanokompozitinde olmuştur. **Mangan** elementi için istatistiksel olarak en yüksek

sonuçlar %5 seviyesinde modifiye veya modifiye edilmemiş kil içeren filmlerde elde edilmiştir. **Demir** sonuçları incelendiğinde organokil içeren film örneklerinde nanokil içerenlere göre daha yüksek sonuçlar çıkmış olup, istatistiksel olarak nanokil içerenlerin (SA-Mt) sonuçları kontrol örneği ile benzer olduğu görülmüştür. **Nikel** elementi için en düşük sonuç (0,58 ppb) kontrol örneğinde elde edilirken, en yüksek değerler SA-Mt-5 ve SA-Tween-oMt-5 film örneklerinde olmuştur. **Çinko** element migrasyonunda kontrol filminin sonucu genel olarak nanokil veya organokil içeren örneklerden yüksek çıktığı için bu elementin yapıya katılan nanodolgu ile ilişkilendirilmesinde anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. **Baryum** elementine ilişkin en düşük değer (3,54 ppb) kontrol materyalinde elde edilmiş ve yapıya eklenen kil seviyesine bağlı olarak migrasyonda artış eğilimi gözlenmiştir. **Kobalt** ve **bakır** elementleri için ise elde edilen sonuçlar tüm film materyalleri için LOQ seviyesinin (sırasıyla 0,15 ppb ve 3,37 ppb) altında kalmıştır.

Matrikste kullanılan çapraz bağlanma ajanı sayesinde daha zorlu bir sıcaklık olan 70°C'de malzeme bütünlüğü bozulmadan kalabildiği görüldüğünden, SM çalışmaları 70°C-2 saat olacak şekilde devam ettirilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.31'de verilmiştir. Bu temas koşulundaki SM sonuçları incelendiğinde **alüminyum** elementinde en düşük değer (33,46 ppb) kontrol materyalinde elde edilirken; istatistiksel olarak en yüksek sonuçlar organokil eklenmiş örneklerin %5 seviyelerini içeren örneklerde (SA-CTAB-oMt-5 ve SA-Tween-oMt-5) olmuştur. Çalışılan iki farklı temas koşulu karşılaştırıldığında 70°C'de 2 saat çalışma malzemelerden gıda benzerine geçen Al migrasyon seviyelerini arttırmıştır (Şekil 4.34). Migrasyon çalışmalarında sıcaklık ve sürenin arttırılması sonuçların yükselmesine neden olabildiği bilinmektedir. Örneğin literatürdeki bir çalışmada polietilen tereftalat (PET) matriksine, ticari olarak satılan organokil ilave ederek üretilen nanokompozit örneklerden iki farklı sıcaklıkta (25°C ve 45°C) asidik gıda benzerine Si ve Al element migrasyonu incelenmiştir. Depolama sıcaklığındaki artış ile örneklerden Si migrasyonu 1,6 kat, Al migrasyon miktarı ise 1,9 kat yükselmiştir. Ayrıca temas süresinin uzatılması Si ve Al element migrasyon sonuçlarında artışa neden olmuştur [102]. **Mangan** elementi için istatistiksel olarak en yüksek sonuçlar %5 seviyesinde nanokil veya organokil eklenmiş örneklerde olmuştur. **Demir** elementi için temas koşulunun zorlaştırılması migrasyon sonuçlarını yükseltmiştir (Şekil 4.35). SA-Tween-oMt-5 nanokompoziti,

istatistiksel olarak ($p<0,05$) diğerlerinden farklılaşmış ve en yüksek değeri (66,20 ppb) sergilemiştir. **Nikel** elementinde daha zorlayıcı temas koşulları migrasyon sonuçlarını arttırmamış, tam tersine daha düşük değerler elde edilmiştir. **Çinko** element migrasyonunda kontrol filminin sonucu genel olarak kil içeren örneklerden yüksek çıktığı için bu elementin yapıya katılan kil ile ilişkilendirilmesinde anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. **Baryum** için en düşük değer (4,61 ppb) kontrol materyalinde elde edilmiş olup, yapıya eklenen kil seviyesine göre artış eğilimi göstermiştir. En yüksek sonuçlar ise organokil eklenmiş örneklerin %3 ve %5 seviyelerinde olmuştur. **Kobalt** ve **bakır** elementleri için elde edilen sonuçlar tüm film materyalleri için LOQ seviyesinin (sırasıyla 0,15 ppb ve 3,37 ppb) altındadır. Bu sonuçlara göre, sodyum aljinat yapısına ilave edilen kil veya organokil seviyesinin Al, Fe, Mn ve Ba elementlerinin migrasyonu üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Her iki temas koşulu için de incelenen elementlere ait SM sonuçları, AB ve Türkiye gıda ile temasta bulunan madde ve malzemelere ait güncel mevzuatlarında [40], [41] belirtilen SML değerlerinin (alüminyum (SML: 1 ppm), mangan (SML: 0,6 ppm), demir (SML: 48 ppm), kobalt (SML: 0,05 ppm), nikel (SML: 0,02 ppm), bakır (SML: 5 ppm), çinko (SML: 5 ppm), baryum (SML: 1 ppm)) oldukça altında kalmıştır.

Literatürde Maisanaba vd. [101] tarafından PLA polimerine iki farklı modifiye kil eklenerek üretilen şişe numunelerinde, yapıdaki killerden kaynaklanabilecek metal migrasyonu incelenmiştir. Bu amaçla distile su ile gerçekleştirilen migrasyonda alüminyum, demir ve magnezyum miktarları ICP-MS yöntemiyle belirlenirken; silisyum ve kalsiyum (Ca) içerikleri ICP-OES (indüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi) cihazıyla incelenmiştir. Nanokompozit örneklerden Al spesifik migrasyonu 0,7 ppb düzeyinde olurken, Mg 1,51-3,6 ppb aralığında, Si elementi ise 20,5-29,1 ppb seviyesinde görülmüştür. Örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Ca ve Fe elementleri ise hiçbir örnekte kantitatif olarak belirlenememiştir. Çalışmada tespit edilen metal migrasyon seviyelerinin çok düşük olduğu ve Avrupa Birliği'nin (Komisyon Tüzüğü AB No. 10/2011) [40] izin verdiği limitlerin altında çıktığı belirtilmiştir. Başka bir çalışmada, demir ile modifiye edilmiş kaolinit içeren poliolefin gıda ambalaj filmlerinden su ve izooktani simülantlarına Al ve Fe migrasyonu ICP-MS cihazı ile incelenmiştir. Nanokompozit malzemelerden her iki elementin migrasyonu da çok

düşük/ihmal edilebilir seviyelerde bulunmuştur. Test edilen örneklerin hiçbirinde istatistiksel olarak fark gözlemlenmediği belirtilmiştir [100].

Tablo 4.30 Sodyum aljinat esaslı filmlerin 40°C-30 dk temas koşulu için element spesifik migrasyon değerleri (ppb)

Film Materyali	Element					
	Al	**Mn**	**Fe**	**Ni**	**Zn**	**Ba**
SA	30,61±2,24^{e}	0,90±0,02^{d}	29,29±0,85^{d}	0,58±0,01^{e}	126,56±2,62^{b}	3,54±0,03^{f}
SA-Mt-1	45,60±3,70^{d}	1,03±0,03^{c}	30,60±0,51^{d}	1,09±0,08^{d}	114,03±1,14^{c}	3,77±0,16^{ef}
SA-Mt-3	71,10±5,59^{b}	0,98±0,03^{cd}	30,72±0,40^{d}	1,43±0,14^{c}	148,82±2,07^{a}	4,27±0,03^{abc}
SA-Mt-5	73,05±5,59^{b}	1,25±0,04^{a}	31,21±0,71^{d}	2,23±0,20^{a}	91,47±1,34^{ef}	4,40±0,06^{ab}
SA-CTAB-oMt-1	43,91±3,58^{d}	1,15±0,07^{ab}	34,48±0,86^{c}	1,15±0,02^{d}	97,46±2,15^{d}	4,19±0,05^{bc}
SA-CTAB-oMt-3	54,30±1,85^{c}	1,14±0,08^{b}	35,11±2,12^{c}	1,42±0,08^{c}	87,64±1,70^{f}	4,35±0,40^{ab}
SA-CTAB-oMt-5	58,04±2,29^{c}	1,18±0,07^{ab}	37,04±1,88^{b}	1,70±0,03^{b}	94,83±3,89^{de}	4,47±0,08^{a}
SA-Tween-oMt-1	53,23±1,20^{c}	0,94±0,10^{cd}	37,36±1,13^{b}	1,15±0,02^{d}	127,95±1,32^{b}	3,92±0,04^{de}
SA-Tween-oMt-3	58,57±7,25^{c}	1,00±0,08^{c}	38,94±1,77^{ab}	1,18±0,02^{d}	87,49±1,70^{f}	4,04±0,27^{cd}
SA-Tween-oMt-5	80,77±9,62^{a}	1,18±0,06^{ab}	40,42±1,31^{a}	2,25±0,14^{a}	94,80±6,01^{de}	4,40±0,02^{ab}

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a-f}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir. Al, Mn, Fe, Ni, Zn ve Ba elementleri için LOQ değerleri sırasıyla 8,31 ppb, 0,22 ppb, 3,43 ppb, 0,28 ppb, 25,49 ppb, 0,40 ppb.

Tablo 4.31 Sodyum aljinat esaslı filmlerin 70°C-2 saat temas koşullu için spesifik migrasyon değerleri (ppb)

Film Materyali	Element					
	Al	**Mn**	**Fe**	**Ni**	**Zn**	**Ba**
SA	33,46±5,30^{f}	0,75±0,03^{f}	41,93±4,53^{d}	0,58±0,04^{def}	108,28±11,95^{a}	4,61±0,24^{d}
SA-Mt-1	46,64±5,62^{e}	0,92±0,05^{e}	44,65±1,15^{cd}	0,62±0,06^{de}	98,20±1,09^{b}	5,37±0,18^{c}
SA-Mt-3	74,33±3,54^{cd}	1,20±0,05^{d}	46,08±2,73^{bcd}	0,70±0,01^{d}	83,58±4,66^{c}	5,78±0,15^{b}
SA-Mt-5	81,95±5,34^{bc}	1,82±0,07^{a}	46,24±5,40^{bcd}	1,62±0,18^{b}	61,59±7,26^{d}	5,96±0,16^{b}
SA-CTAB-oMt-1	45,51±1,10^{e}	0,86±0,02^{ef}	48,49±1,80^{bc}	0,54±0,07^{ef}	87,64±8,59^{c}	5,11±0,05^{c}
SA-CTAB-oMt-3	67,57±4,55^{d}	1,20±0,11^{d}	50,10±1,79^{b}	0,88±0,08^{c}	46,22±2,47^{e}	5,38±0,31^{c}
SA-CTAB-oMt-5	84,69±8,29^{ab}	1,74±0,10^{ab}	50,32±1,61^{b}	1,90±0,08^{a}	84,45±6,43^{c}	6,58±0,28^{a}
SA-Tween-oMt-1	65,72±7,97^{d}	0,77±0,04^{f}	46,41±1,93^{bcd}	0,48±0,06^{f}	58,91±2,99^{d}	5,43±0,29^{c}
SA-Tween-oMt-3	70,38±4,57^{d}	1,46±0,07^{c}	50,33±1,07^{b}	0,98±0,03^{c}	82,27±5,17^{c}	6,46±0,19^{a}
SA-Tween-oMt-5	92,10±9,67^{a}	1,67±0,12^{b}	66,20±4,20^{a}	1,98±0,12^{a}	96,84±2,18^{b}	6,63±0,29^{a}

Örnek kodlarındaki SA kil içermeyen kontrol filmi, SA-Mt modifiye edilmemiş kil içeren filmi, SA-CTAB-oMt katyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, SA-Tween-oMt non-iyonik sürfaktan eklenmiş organokil içeren filmi, 1, 3 ve 5 ise film materyallerindeki % kil miktarını temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir. $^{a\text{-}f}$: Aynı sütundaki birbirinden farklı küçük harfler veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0,05$) olduğunu göstermektedir. Al, Mn, Fe, Ni, Zn ve Ba elementleri için LOQ değerleri sırasıyla 8,31 ppb, 0,22 ppb, 3,43 ppb, 0,28 ppb, 25,49 ppb, 0,40 ppb.

5
SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, farklı sürfaktanlar ile modifiye edilmiş organokillerin üretilmesi ve bu organokillerin biyoesaslı materyallerin yapısına ilave edilerek aktif gıda ambalaj filmlerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Polimer matriks yapısına düşük oranlarda katılan organokiller aracılığıyla polimerlerin özelliklerinin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Gıda ile temas eden madde ve malzemeler için nanokompozit malzeme üretiminde nanokil kullanımı konusunda AB ve Türkiye'de belirlenmiş veya kabul edilmiş yasal limit bulunmamaktadır. Çalışma ile gıda ambalajlamasında nanomateryal kullanımı üzerinde risk değerlendirmesi yapılmış, ülkesel mevzuat düzenlemeleri ve kontrol mekanizmaları için veri oluşturulmuş, hammadde olarak çoğunlukla ithal edilen sentetik plastiklerin yerine biyoesaslı polimerlerin gıda ambalajı olarak daha etkin, kaliteli, ekonomik olarak kullanılmasına yönelik katkıda bulunularak biyobozunur materyallerin özellikleri iyileştirilmiştir.

Çalışma ilk olarak katyonik ve non-iyonik sürfaktanlar ile modifiye edilmiş organokillerin üretilmesi ve organokillerin karakterizasyonu, ikinci aşamada çözelti döküm yöntemiyle iki farklı biyopolimerin (termoplastik nişasta ve sodyum aljinat) yapısına kil eklenmeden önce optimizasyon çalışmaları ile film hazırlama formülasyonlarının belirlenmesi ve sonrasında nanodolgu olarak organokillerin farklı oranlarda termoplastik nişasta ve sodyum aljinat matrikslerine eklenerek nanokompozit gıda ambalaj filmlerin üretimi, üçüncü aşamada filmlere gerçekleştirilen karakterizasyon analizleri ve son olarak farklı türde gıda benzerlerine migrasyon davranışlarının incelenmesi şeklinde dört aşamadan oluşmaktadır.

Ilk aşamada doğada yaygın olarak bulunabilen montmorillonit nanokilinin iki farklı özellikteki sürfaktan (katyonik CTAB ve non-iyonik Tween-80) ile organomodifikasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve tabakalı silikat yapının içine sürfaktanların difüze olarak basal boşlukların genişlemesi hedeflenmiştir. Elde

edilen organokillerde yapılan karakterizasyon analizleri (ortalama partikül boyut dağılımı, zeta potansiyel, elektriksel iletkenlik, FT-IR ve XRD) ile kil yapısında kullanılan katyonik ve non-iyonik sürfaktanların optimum seviyeleri belirlenmiştir. Ayrıca killerin sınırlı toksikolojik bilgisi göz önünde bulundurularak, çalışmada kullanılan montmorillonit kili, elde edilen optimum organokillerin ve yapılarında kullanılan sürfaktanların fare fibroplast sağlıklı hücre hattı (L-929) ve insan kolorektal kanser hücresi hattı (HT-29) üzerindeki toksisitesi değerlendirilmiştir. Çalışılan konsantrasyon aralığında, kanser hücreleri üzerinde modifiye edilmemiş nanokil ve non-iyonik sürfaktan içeren organokillerin sitotoksik etki göstermediği; buna karşılık özellikle katyonik sürfaktan içeren organokilin en yüksek konsantrasyonunda (1000 ppm) antiproliferatif etki elde edilmesi, bu organokilin antitümör ajan olabilme ihtimaline işaret etmektedir. Sağlıklı hücre hattı üzerinde her iki organokilin de incelenen konsantrasyon aralığında toksik bir etki oluşturmadığı (hücre canlılığı > EC_{50}) belirlenmiş olup, bu sonucun organokillerin gıda ambalajı uygulamalarında güvenli kullanım açısından önemli bir gösterge olduğu değerlendirilmiştir.

Ikinci aşamada öncelikli olarak nişasta matriksinde kullanılması gereken plastikleştirici oranı ön denemeler ile belirlenmiştir. Benzer şekilde sodyum aljinat matriksinin yapısında kullanılacak plastikleştirici oranı ve çapraz bağlanma ajanı $CaCI_2$'ün iki farklı uygulama (ekleme ve daldırma) için çalışma aralıkları belirlenmiş ve yüzey yanıt metodu ile optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sonrasında polimerlerin yapısına üç farklı seviyede (%1, 3, 5 w/w polimer) modifiye edilmemiş kil veya modifiye edilmiş organokil katılarak her bir polimer için nanokompozitler çözelti döküm yöntemiyle üretilmiştir.

Üçüncü aşamada elde edilen nanokompozitlerde karakterizasyon analizleri (yapısal, termal, mekanik, renk ve optik, bariyer, ve morfolojik) gerçekleştirilerek hem modifikasyon işleminin hem de yapıdaki kil oranının etkisi detaylı olarak incelenmiştir. Bu amaçla filmlere uygulanan karakterizasyon analizlerinden;

- FT-IR analizinde TPS esaslı filmlere modifiye/modifiye olmamış kil eklenmesi yapıda belirgin spektral değişikliklere yol açmadığı, yeni fonksiyonel grupların oluşmaması sonucunda kil ile film matriksi arasında yalnızca fiziksel etkileşimlerin gerçekleştiği belirlenmiştir. SA esaslı filmlerde ise yapıdaki kil oranının artması sonucunda bazı absorpsiyon piklerinin dalga boyu

değişmemekle beraber pik şiddetinin azalması, polimer matriks ve silikat tabakaları arasındaki etkileşimi ortaya koymuştur. Ayrıca bu analiz ile $CaCI_2$ ile çapraz bağlanma işleminin etkin bir şekilde gerçekleştirilerek, egg-box yapısının oluştuğu belirlenmiştir.

- Termal özellikler için DSC ile gerçekleştirilen çalışmalarda kontrol filmine göre camsı geçiş sıcaklığında artış, erime sıcaklıklığı ve erime entalpisinde sonuçlarında azalışlar elde edilmiştir.
- Hunter sistemine göre renk analiz sonuçlarına bakıldığında, toplam renk farkı açısından en büyük değişimler modifiye edilmemiş kil içeren nanokompozitlerde görülmüş olup, özellikle %1 ve %3 seviyesinde organokil içeren nanokompozit filmler, kontrol örneğine daha yakın değerler sergilemiştir. Bu sonuçlara göre incelenen matrikslerde organokiller, nanokillere göre daha homojen bir dağılım gerçekleştirmiştir.
- Optik özellikler açısından yapıya eklenen kil ile UV ve görünür bölgelerde ışık geçirgenliği değerlerinde azalma olmuştur. Matrikse organokil ilavesi görünür bölgeye kıyasla UV bölgede geçirgenliği daha fazla azaltmıştır. Bu durum nanokompozit filmlerinin görsel saydamlığını kaybetmeden yüksek UV bariyer özelliklerinin elde edilmesinin mümkün olduğunu göstermiştir. Opaklık sonuçları için özellikle matriksteki %5 kil seviyesinin ışık saçılmasına yol açarak geçirgenliği azalttığı ve filmlerin görünür şeffaflığını düşürerek opaklığı önemli ölçüde yükselttiği belirlenmiştir.
- Mekanik özellikler açısından nanokompozitler daha yüksek çekme dayanımı ve daha düşük kopma anındaki uzama sonuçlarına sahip olmuştur. Tabakalı silikat, biyopolimerlerin mekanik olarak güçlendirilmesini sağlamış ve polimerin esnekliğini azaltmıştır.
- Su buharı geçirgenliğinde yapıya eklenen kil nanodolgu morfolojisi sayesinde difüze olan su moleküllerinin izlediği yolun uzamasından kaynaklı olarak su buharı difüzyonu geciktirmiş ve elde edilen değerler azalmıştır. En düşük WVP sonuçları TPS matriksinde %5 organokil eklenmiş filmlerde elde edilirken, SA matriksi için %3 organokil eklenmiş filmlerde belirlenmiştir.
- Filmlerin oksijen geçirgenliğinin bir göstergesi olarak gerçekleştirilen peroksit sayısı tayininde modifiye edilmemiş kil eklenmiş filmler kontrol materyaline yakın sonuçlara sahip olurken, çalışılan her iki matriks için %3 ve %5

seviyesinde organokil içeren nanokompozitler istatistiksel olarak benzer ve en düşük sonuçlar sergilemiştir.

- Su absorpsiyon kapasitesi ve suda çözünürlük sonuçlarına göre matrikslerde kil varlığı sayesinde serbest su molekülleri ile nanokompozit filmler daha zayıf etkileşim göstermiştir. Genel olarak %3 ve %5 oranında organokil eklenmiş nanokompozitler minimum W_a ve W_s sonuçları sergilemiştir.
- Su temas açısı analizinde organokilin matrikste homojen bir şekilde dağılması sonucunda oluşturduğu yoğun ve pürüzlü yüzey yapısından kaynaklı olarak daha hidrofobik hale geldiği belirlenmiştir. En yüksek WCA, dolayısıyla en düşük ıslanabilirlik, sonuçları TPS için N-CTAB-oMt-3 ve sodyum aljinat için SA-Tween-oMt-5 nanokompozitlerinde elde edilmiştir.
- Morfolojik analiz %3 organokil içeren nanokompozit filmlerin, aynı seviyede modifiye edilmemiş nanokil eklenmiş nanokompozite göre belirgin bir aglomerasyon olmaksızın daha homojen bir dağılım sergilediğini göstermiştir.

Son aşamada, üretilen nanokompozit gıda ambalaj filmlerinin migrasyon davranışının nanodispers yapıdaki tabakalı silikatlar tarafından nasıl etkilendiğini araştırmak amacıyla, toplam ve spesifik migrasyon testleri gerçekleştirilmiştir.

- TPS esaslı filmlerin TM analizinde asidik ve sulu gıda benzerleri için N-CTAB-oMt-3 ve N-Tween-oMt-3 örneklerinde istatistiksel olarak en düşük sonuçlar elde edilmiş olup, mevzuatın izin verdiği limit değerin altında kalmıştır. Polimer yapısındaki organokil seviyesinin %5'e çıkarılması TM sonuçlarını olumsuz etkilemiştir. Lipofilik gıda benzerleri ile daha zorlu test koşullarında bile asitli ve sulu gıda benzerlerinden düşük TM sonuçları elde edilmiştir.
- SA matriksinde %1 organokil içeren filmlere ait TM değerlerinin, modifiye edilmemiş nanokil içeren filmlerde ancak %3 veya %5 kil konsantrasyonlarında ulaşılabilmesi, organomodifikasyon işleminin etkinliğini göstermesi açısından dikkat çekici olmuştur. Hidrofilik gıdalar için tüm örnekler TML kriterini karşılarken, asidik gıdalar için SA-Tween-oMt-3 ve SA-Tween-oMt-5 nanokompozitleri uygun bulunmuştur.
- SM analizinde TPS filmler arasında N-CTAB-oMt nanokompoziti için Al ve Mn elementlerinin migrasyonu diğer örneklerden daha yüksek çıkmıştır. SA esaslı filmlerin daha zorlu test koşullarında malzeme bütünlüğünü koruduğu belirlendiğinden, SM çalışması bu koşullar altından da tekrarlanmıştır. Temas

koşulunun zorlaştırılması ile Al ve Fe elementlerinin migrasyonu artış eğilimi göstermiş ancak mevzuat limitlerinin çok altında kalmıştır.

Sonuç olarak, çalışma kapsamında polimer-organokil etkileşimleri başarılı bir şekilde gerçekleşmiş ve sürdürülebilir gıda ambalajı olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu ortaya konmuştur. Ticari olarak kullanılan petrol esaslı birçok ambalaj malzemesi biyolojik olarak parçalanamadığından, çevresel problemlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Biyopolimer malzemeler, ambalajlama gibi endüstriyel uygulamalarda sentetik polimerlerin yerini alabilmede zayıf kalabilmektedir. Bu soruna alternatif bir çözüm olarak geliştirilen, biyoesaslı TPS ve SA esaslı organokil ilave edilmiş nanokompozitlerin, saf kontrol filmleri ve modifikasyon işlemi gerçekleştirilmemiş kil içeren nanokompozitler ile karşılaştırıldığında mekanik, bariyer, termal, renk, optik ve morfolojik özellikleri açısından önemli iyileşmeler sağladığı belirlenmiştir.

Gıda güvenliği açısından değerlendirildiğinde, geliştirilen hidrofilik özellikteki nanokompozitlerin polar yapıdaki asidik ve sulu gıda benzerlerinde toplam migrasyon özellikleri organokil ilavesi ile ölçülebilir düzeyde iyileştiği belirlenmiştir. Bu değerlerin gıda ile temas eden plastikler için Türkiye ve AB'deki mevzuatlarda belirlenen 10 mg/dm²'lik migrasyon limitiyle uyumlu olduğu belirlenmiştir. Nanokompozitler, toplam migrasyon limit kriterini non-polar yapıdaki lipofilik gıdaların ambalajlanmasında kullanılmak üzere de karşılamıştır. Ayrıca nanokompozitlere ait spesifik migrasyon sonuçları ilgili mevzuatlarda belirtilen limit değerlerinin çok altında kalması açısından dikkat çekici olmuştur. Bu sonuçlar, TPS ve sodyum aljinat esaslı nanokompozit filmlerin potansiyel aktif gıda ambalaj malzemesi olarak etkinliğini açıkça göstermektedir. Bu tür biyo kaynakların bileşimi ve kaynağı genel özelliklerini etkileyen önemli faktörlerdir. Nişasta ve sodyum aljinat kaynakları bölgelere ve ülkelere göre farklılık gösterdiğinden, ambalaj üretiminde ülkesel sınırlarda temin edilebilen kaynakların kullanılması, farklı ülkelerden ithalat gereksinimini ortadan kaldırarak üretim sürecinin sürdürülebilirliğine katkı sağlayacaktır.

Nanokil içeren nanokompozitler, günümüzde ambalaj pazarında ticari olarak yer almakta olup, gıda ambalajı endüstrisindeki uygulama alanları sürekli olarak genişlemektedir. Bu nedenle, organokil içeren gıda ambalajları için farklı gıda grupları ve depolama koşullarının incelenmesine yönelik gelecekteki çalışmalara

ihtiyaç vardır. Bu çalışmalarda, çeşitli matematiksel modelleme yaklaşımları kullanılarak nanokompozit ambalajların yapısındaki farklı bileşenlerin migrasyonu üzerine çalışmaların genişletilmesi önem taşımaktadır. Bu modeller ile elde edilen deneysel ve tahmin edilen değerler arasındaki uyum belirlenerek, ambalaj materyalinden farklı gıda benzerlerine olan temas süresinin herhangi bir noktasında migrasyon tahmin edilebilmektedir. Böylece maliyetli ve zaman alıcı migrasyon testlerinin gerçekleştirilmesi için gerekli kimyasal, ekipman ve iş gücünden tasarruf edilmesi, daha çevreye duyarlı bir yaklaşım sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

[1] M. S. Rahman, "Packaging as a preservation technique," in *Handbook of Food Preservation*, Second edi., M. S. Rahman, Ed., Boca Raton, FL: CRC Press, 2007, ch. 38, pp. 925–934. doi: 10.6041/j.issn.1000-1298.2015.04.033.

[2] Y. Echegoyen, S. Rodríguez, and C. Nerín, "Nanoclay migration from food packaging materials," *Food Addit. Contam. - Part A*, vol. 33, no. 3, pp. 530–539, 2016, doi: 10.1080/19440049.2015.1136844.

[3] ISO, "ISO/TR 18401 Nanotechnologies — Plain language explanation of selected terms from the ISO/IEC 80004 series," Geneva, 2017.

[4] A. Nasiri, S. Peyron, E. Gastaldi, and N. Gontard, "Effect of nanoclay on the transfer properties of immanent additives in food packages," *J. Mater. Sci.*, vol. 51, no. 21, pp. 9732–9748, 2016, doi: 10.1007/s10853-016-0208-x.

[5] D. R. Patwardhan, S. Mohite, and E. Prasad, "Nanomaterials market size, share, competitive landscape and trend analysis report, by material type, by end use industry: Global opportunity analysis and industry forecast, 2021-2031," 2022. Accessed: Dec. 05, 2024. [Online]. Available: https://www.alliedmarketresearch.com/lubricants-market-A07693

[6] K. Pulidindi, "Nanoclays market - By product (montmorillonite, kaolinite, smectite), by application (water treatment, food and beverage packaging, automotive, biomedical, paints and coatings), by particle size & forecast, 2024-2032," 2024. [Online]. Available: https://www.gminsights.com/industry-analysis/nanoclays-market

[7] E. Inshakova and O. Inshakov, "World market for nanomaterials: Structure and trends," *MATEC Web Conf.*, vol. 129, no. 2017, pp. 1–5, 2017, doi: 10.1051/matecconf/201712902013.

[8] Y. Xia, M. Rubino, and R. Auras, "Interaction of nanoclay-reinforced packaging nanocomposites with food simulants and compost environments," in *Advances in Food and Nutrition Research*, 1st ed., vol. 88, Elsevier Inc., 2019, ch. Chapter 7, pp. 275–298. doi: 10.1016/bs.afnr.2019.02.001.

[9] FDA, "Nanotechnology guidance documents," 2018. Accessed: May 10, 2024. [Online]. Available: https://www.fda.gov/science-research/nanotechnology-programs-fda/nanotechnology-guidance-documents

[10] EFSA Scientific Committee, "Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain," *EFSA J.*, vol. 9, no. 5, 2011, doi: 10.2903/j.efsa.2011.2140.

[11] EFSA Scientific Committee, "Guidance on risk assessment of the application

of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain: Part 1, human and animal health," *EFSA J.*, vol. 16, no. 7, 2018, doi: 10.2903/j.efsa.2018.5327.

[12] EFSA Scientific Committee, "Guidance on technical requirements for regulated food and feed product applications to establish the presence of small particles including nanoparticles," *EFSA J.*, vol. 19, no. 8, pp. 6769, 48 pp, 2021, doi: 10.2903/j.efsa.2021.6769.

[13] C. Szakal *et al.*, "Measurement of nanomaterials in foods: Integrative consideration of challenges and future prospects," *ACS Nano*, vol. 8, no. 4, pp. 3128–3135, 2014, doi: 10.1021/nn501108g.

[14] S. Sinha Ray, "Chapter 1: An overview of pure and organically modified clays," in *Clay-containing polymer nanocomposites: From fundamentals to real applications*, First edit., Elsevier B.V., 2013, ch. 1, pp. 1–24. doi: https://doi.org/10.1016/C2011-0-07134-X.

[15] F. Törnük, "Biyoaktif madde yüklenmiş nanokillerle güçlendirilmiş aktif ambalaj üretimi ve gıda ambalajlamada kullanımı," Erciyes University, 2014.

[16] B. Şengül, "Poli(laktik asit)/tabakali silikat nanokompozitlerin hazirlanmasi, karakterizasyonu ve gida ambalaji olarak uygulanabilirliğinin incelenmesi," Gazi Üniversitesi, 2013.

[17] F. Uddin, "Chapter 1: Montmorillonite: An introduction to properties and utilization," in *Current topics in the utilization of clay in industrial and medical applications*, M. Zoveidavianpoor, Ed., InTechOpen, 2018, pp. 3–24. doi: 10.5772/intechopen.77987.

[18] X. Yining, "Release of nanoclay and surfactant from polymer-clay nanocomposite systems," Michigan State University, 2014.

[19] L. B. de Paiva, A. R. Morales, and F. R. Valenzuela Díaz, "Organoclays: Properties, preparation and applications," *Appl. Clay Sci.*, vol. 42, no. 1–2, pp. 8–24, 2008, doi: 10.1016/j.clay.2008.02.006.

[20] M. Zhou, G. Xia, J. Li, L. Chai, and L. Zhou, "Analysis of factors influencing thermal conductivity and viscosity in different kinds of surfactant solutions," *Exp. Therm. Fluid Sci.*, vol. 36, pp. 22–29, 2012, doi: 10.1016/j.expthermflusci.2011.07.014.

[21] N. M. Mahmoodi, A. Taghizadeh, M. Taghizadeh, and M. Az. S. Azimi, "Surface modified montmorillonite with cationic surfactants: Preparation, characterization, and dye adsorption from aqueous solution," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 7, no. 4, p. 103243, 2019, doi: 10.1016/j.jece.2019.103243.

[22] R. Guégan, "Organoclay applications and limits in the environment," *Comptes Rendus Chim.*, vol. 22, no. 2–3, pp. 132–141, 2019, doi: 10.1016/j.crci.2018.09.004.

[23] X. Hu, S. Tian, S. Zhan, and J. Zhu, "Adsorption of switchable surfactant mixed with common nonionic surfactant on montmorillonite: Mechanisms and arrangement models," *Appl. Clay Sci.*, vol. 146, no. May, pp. 140–146, 2017, doi: 10.1016/j.clay.2017.05.025.

[24] K. R. V. Mahesh *et al.*, "Synthesis and characterization of organomodified

Na-MMT using cation and anion surfactants," *Front. Chem. China*, vol. 6, no. 2, pp. 153–158, 2011, doi: 10.1007/s11458-011-0239-4.

[25] M. M. Reddy, S. Vivekanandhan, M. Misra, S. K. Bhatia, and A. K. Mohanty, "Biobased plastics and bionanocomposites: Current status and future opportunities," in *Progress in Polymer Science*, vol. 38, no. 10–11, Elsevier Ltd, 2013, pp. 1653–1689. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2013.05.006.

[26] M. Zhang and H. Chen, "Development and characterization of starch-sodium alginate-montmorillonite biodegradable antibacterial films," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 233, no. September 2022, p. 123462, 2023, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.123462.

[27] G. Mansour, M. Zoumaki, A. Marinopoulou, S. N. Raphaelides, D. Tzetzis, and N. Zoumakis, "Investigation on the effects of glycerol and clay contents on the structure and mechanical properties of maize starch nanocomposite films," *Starch/Staerke*, vol. 72, no. 3–4, pp. 1–12, 2020, doi: 10.1002/star.201900166.

[28] S. Sinha Ray, "Chapter 5: Mechanical properties," in *Clay-containing polymer nanocomposites: From fundamentals to real applications*, First edit., Elsevier B.V., 2013, pp. 171–226. doi: https://doi.org/10.1016/C2011-0-07134-X.

[29] S. Sinha Ray, "Chapter 7: Thermal stability," in *Clay-containing polymer nanocomposites: From fundamentals to real applications*, First edit., Elsevier B.V., 2013, pp. 243–261. doi: https://doi.org/10.1016/C2011-0-07134-X.

[30] S. Agarwal, "Major factors affecting the characteristics of starch based biopolymer films," *Eur. Polym. J.*, vol. 160, no. September, p. 110788, 2021, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2021.110788.

[31] H. Köksel, "Bölüm 2: Karbonhidratlar," in *Gıda Kimyası*, 3. Baskı., İ. Saldamlı, Ed., Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2007, ch. 2, pp. 49–132.

[32] P. Müller, É. Kapin, and E. Fekete, "Effects of preparation methods on the structure and mechanical properties of wet conditioned starch/montmorillonite nanocomposite films," *Carbohydr. Polym.*, vol. 113, pp. 569–576, 2014, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.07.054.

[33] M. J. Costa, A. M. Marques, L. M. Pastrana, J. A. Teixeira, S. M. Sillankorva, and M. A. Cerqueira, "Physicochemical properties of alginate-based films: Effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio," *Food Hydrocoll.*, vol. 81, pp. 442–448, 2018, doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.03.014.

[34] J. Gubitosa *et al.*, "Realizing eco-friendly water-resistant sodium-alginate-based films blended with a polyphenolic aqueous extract from grape pomace waste for potential food packaging applications," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 24, no. 11462, pp. 1–19, 2023, doi: 10.3390/ijms241411462.

[35] H. Zhou *et al.*, "Effects of CaCl2, HCl, acetic acid or citric acid on dynamic mechanical performances and physicochemical properties of sodium

alginate edible films," *Food Packag. Shelf Life*, vol. 34, p. 100935, 2022, doi: 10.1016/j.fpsl.2022.100935.

[36] S. Sinha Ray, "Chapter 12: Real and potential applications," in *Clay-containing polymer nanocomposites: From fundamentals to real applications*, First edit., Elsevier B.V., 2013, pp. 369–373. doi: https://doi.org/10.1016/C2011-0-07134-X.

[37] European Commission, "Commission recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (2011/696/EU)," *Off. J. Eur. Union*, vol. 2011/696/E, pp. 38–40, 2011, doi: 10.7748/ns.24.26.6.s4.

[38] European Commission, *Regulation (EC) No 1935/2004 "on materials and articles intended to come into contact with food and repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC,"* vol. L338/4, no. 1935. 2004, pp. 4–17.

[39] T. ve H. B. Gıda, *Türk gıda kodeksi gıda ile temas eden madde ve malzemelere dair yönetmelik*. Türkiye, 2019. [Online]. Available: https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=24499&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5

[40] E. Union, *Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food*. 2025, pp. 1–133. [Online]. Available: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02011R0010-20250316

[41] Tarım ve Orman Bakanlığı, *Türk gıda kodeksi gıda ile temas eden plastik madde ve malzemeler tebliği (Tebliğ no: 2019/44)*. Türkiye, 2024. [Online]. Available: https://mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=34066&MevzuatTur=9&MevzuatTertip=5

[42] European Commision, "Commission regulation (EC) No. 450/2009 of on active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food," *Off. J. Eur. Union*, no. 135, pp. 3–11, 2009, [Online]. Available: https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:135:0003:0011:EN:PDF

[43] Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, *Türk gıda kodeksi gıda ıle temas eden aktif ve akıllı madde ve malzemelere dair tebliğ (Tebliğ no: 2018/9)*, no. 30382. Türkiye Cumhuriyeti, 2018, pp. 1–3. [Online]. Available: https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=24500&MevzuatTur=9&MevzuatTertip=5

[44] FDA, "Guidance for Industry: Assessing the effects of significant guidance for industry manufacturing process changes, including emerging technologies, on the safety and regulatory status of food ingredients and food contact substances, including food ingredien," 2014. [Online]. Available: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-assessing-effects-significant-manufacturing-process-changes-including-emerging

[45] FDA, "Code of federal regulations Title 21-Food and Drugs," USA, 2024. [Online]. Available: https://www.govinfo.gov/app/collection/cfr/2024/

[46] FDA, “Guidance for industry considering whether an FDA-regulated product involves the application of nanotechnology,” 2014. [Online]. Available: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/considering-whether-fda-regulated-product-involves-application-nanotechnology

[47] A. Störmer, J. Bott, D. Kemmer, and R. Franz, “Critical review of the migration potential of nanoparticles in food contact plastics,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 63, pp. 39–50, 2017, doi: 10.1016/j.tifs.2017.01.011.

[48] R. Franz *et al.*, “Safety assessment of the substance montmorillonite clay modified by dimethyldialkyl(C16-C18)ammonium chloride for use in food contact materials,” *EFSA J.*, vol. 13, no. 11, p. 4285, 2015, doi: 10.2903/J.EFSA.2015.4285.

[49] FDA, “Inventory of effective food contact substance (FCS) notifications,” 2015. [Online]. Available: https://www.hfpappexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=FCN

[50] S. E. M. Selke, J. D. Culter, and R. J. Hernandez, “Chapter 14: Mass transfer in polymeric packaging systems: Soprtion, diffusion, permeation and shelf life,” in *Plastics packaging: Properties, processing, applications, and regulations*, 2nd ed., Ohio: Hanser Publications, 2004, ch. 14, pp. 333–374.

[51] E. Taş and Z. Ayhan, “Gıda-plastik ambalaj sistemlerinde geçirgenlik ve geçirgenliği etkileyen faktörler,” Bolu, 2006, pp. 53–56.

[52] C. Caner, “Sorption phenomena in packaged foods: factors affecting sorption processes in package–product systems,” *Packag. Technol. Sci.*, vol. 24, pp. 259–270, 2011, doi: 10.1002/pts.935.

[53] U. Sonchaeng, F. Iñiguez-Franco, R. Auras, S. Selke, M. Rubino, and L.-T. Lim, “Poly(lactic acid) mass transfer properties,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 86, pp. 85–121, 2018, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2018.06.008.

[54] D. A. P. de Abreu, J. M. Cruz, I. Angulo, and P. P. Losada, “Mass transport studies of different additives in polyamide and exfoliated nanocomposite polyamide films for food industry,” *Packag. Technol. Sci.*, vol. 23, no. 2, pp. 59–68, 2010, doi: 10.1002/pts.

[55] European Committee for Standardization, *EN 1186-1: Materials and articles in contact with foodstuffs - Plastics - Part 1: Guide to the selection of conditions and test methods for overall migration*. Brussels: CEN, 2006.

[56] European Committee for Standardization, *EN 13130-1: Materials and articles in contact with foodstuffs - Plastics substances subject to limitation - Part 1: Guide to test methods for the specific migration of substances from plastics to foods and food simulants and the determination of substa*. Brussels: CEN, 2004.

[57] Tarım ve Orman Bakanlığı, *Türk gida kodeksi gida ile temas eden plastik madde ve malzemelerin bileşenlerinin migrasyon testinde kullanilan gida benzerleri listesi tebliği (Tebliğ no: 2019/43)*. Türkiye, 2019.

[58] G. Beldi, C. Senaldi, O. Pokorska, F. Larcher, P. Robouch, and E. Hoekstra, “Testing conditions for kitchenware articles in contact with foodstuffs,” Luxembourg, 2025. doi: 10.2760/4512810.

[59] European Committee for Standardization, *EN 1186-3: Materials and articles in contact with foodstuffs. Plastics. Part 3: Test methods for overall migration in evaporable simulants*. Brussels: CEN, 2022.

[60] European Committee for Standardization, *EN 1186-13: Materials and articles in contact with foodstuffs-Plastics-Part 13: Test methods for overall migration at high temperatures*. Brussels: CEN, 2002.

[61] C. Simoneau, *Guidelines on testing conditions for articles in contact with foodstuffs (with a focus on kitchenware) - EUR 23814 EN*, 1st ed. 2009.

[62] M. Ateş, "Nanoparçacıkların ölçme ve inceleme teknikleri," *Turkish J. Sci. Rev.*, vol. 11, no. 1, pp. 63–69, 2018, [Online]. Available: https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/608610

[63] Malvern, "Zetasizer nano series user manual," Malvern Instruments Ltd. Accessed: Oct. 01, 2024. [Online]. Available: https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Malvern Zetasizer ZS DLS user manual.pdf

[64] S. Sinha Ray, "Chapter 3: Structure and morphology characterization techniques," in *Clay-Containing Polymer Nanocomposites: From Fundamentals to Real Applications*, First edit., Oxford: Elsevier B.V., 2013, ch. Chapter 3, pp. 39–66. doi: 10.1016/b978-0-444-59437-2.00003-x.

[65] A. G. de Souza, N. M. A. dos Santos, R. F. da Silva Torin, and D. dos Santos Rosa, "Synergic antimicrobial properties of Carvacrol essential oil and montmorillonite in biodegradable starch films," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 164, pp. 1737–1747, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.226.

[66] J. W. Robinson, E. M. Skelly Frame, and G. M. Frame II, *Undergraduate instrumental analysis*, Sixth edit. New York: Marcel Dekker, 2005.

[67] S. Kromatografi and M. Laboratuvar, "X-ışınları difraksiyon laboratuvarı (XRDL)," Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkezi Laboratuvar. [Online]. Available: https://merlab.metu.edu.tr/tr/system/files/Belgeler/TanitimBrosurleri/XRDL.pdf

[68] Y. Wyser *et al.*, "Outlook and Challenges of Nanotechnologies for Food Packaging," *Packag. Technol. Sci.*, vol. 29, pp. 615–648, 2016, doi: 10.1002/pts.

[69] L. Xie, X.-Y. Lv, Z.-J. Han, J.-H. Ci, C.-Q. Fang, and P.-G. Ren, "Preparation and performance of high-barrier low density polyethylene/organic montmorillonite nanocomposite," *Polym. - Plast. Technol. Eng.*, vol. 51, no. 12, pp. 1251–1257, 2012, doi: 10.1080/03602559.2012.699131.

[70] J. Chanra, E. Budianto, and B. Soegijono, "Surface modification of montmorillonite by the use of organic cations via conventional ion exchange method," *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 509, no. 1, pp. 1–6, 2019, doi: 10.1088/1757-899X/509/1/012057.

[71] K. İlaslan, "Modifiye nanokillerin biyobozunur gıda ambalajlarında kullanımı," Yıldız Teknik Üniversitesi, 2022.

[72] Y. Xi, Z. Ding, H. He, and R. L. Frost, "Infrared spectroscopy of organoclays

synthesized with the surfactant octadecyltrimethylammonium bromide," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 61, no. 3, pp. 515–525, 2005, doi: 10.1016/j.saa.2004.05.001.

[73] S. Karaca, A. Gürses, and M. Ejder Korucu, "Investigation of the orientation of CTA+ ions in the interlayer of CTAB pillared montmorillonite," *J. Chem.*, vol. 2013, pp. 1–10, 2013, doi: 10.1155/2013/274838.

[74] S. Maisanaba, A. I. Prieto, S. Pichardo, M. Jordá-Beneyto, S. Aucejo, and Á. Jos, "Cytotoxicity and mutagenicity assessment of organomodified clays potentially used in food packaging," *Toxicol. Vitr.*, vol. 29, pp. 1222–1230, 2015, doi: 10.1016/j.tiv.2015.03.010.

[75] S. Kayacan Çakmakoğlu, "Proteolitik aktivitesi yüksek yoğurt bakterileri ile probiyotik kültür kombinasyonlarından biyoaktif peptid üretimi ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi," Yıldız Teknik Üniversitesi, 2024.

[76] F. A. Aouada, L. H. C. Mattoso, and E. Longo, "New strategies in the preparation of exfoliated thermoplastic starch-montmorillonite nanocomposites," *Ind. Crops Prod.*, vol. 34, no. 3, pp. 1502–1508, 2011, doi: 10.1016/j.indcrop.2011.05.003.

[77] H. Suryanto, S. Jenuardy, D. Kustono, R. A. Dharmabintara, J. Maulana, and U. Yanuhar, "The Influence of ultrasonic wave treatment on the mechanical properties of nanoclay-reinforced starch biocomposite," *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 515, no. 1, pp. 0–7, 2019, doi: 10.1088/1757-899X/515/1/012021.

[78] Council of Europe, *Resolution AP (92)2 on control of aids to polymerisation (technological coadjuvants) for plastics materials and articles intended to come into contact with foodstuffs*. 1992, pp. 1–5. doi: 10.20595/jjbf.19.0_3.

[79] J.-W. Rhim, "Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films," *Lwt*, vol. 37, no. 3, pp. 323–330, 2004, doi: 10.1016/j.lwt.2003.09.008.

[80] G. Kutlu, "Ruşeym yağının nanoenkapsülasyonu ve gıdalarda kullanım olanaklarının artırılması," Yıldız Teknik Üniversitesi, 2021.

[81] A. Cano-Vicent *et al.*, "In vivo and in vitro biocompatible alginate film crosslinked with Ca2+ and Co2+ manifests antiviral, antibacterial and anticancer activity," *Eur. Polym. J.*, vol. 197, no. February, pp. 1–10, 2023, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2023.112377.

[82] E. M. Zactiti and T. G. Kieckbusch, "Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: Effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking degree," *J. Food Eng.*, vol. 77, no. 3, pp. 462–467, 2006, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.07.015.

[83] X. Su and B. Chen, "Transparent, UV-proof and mechanically strong montmorillonite/alginate/Ca2+ nanocomposite hydrogel films with solvent sensitivity," *Appl. Clay Sci.*, vol. 165, no. April, pp. 223–233, 2018, doi: 10.1016/j.clay.2018.07.044.

[84] W. Janik *et al.*, "Modulation of physicochemical properties and antimicrobial activity of sodium alginate films through the use of chestnut extract and plasticizers," *Sci. Rep.*, vol. 13, no. 1, pp. 1–13, 2023, doi:

10.1038/s41598-023-38794-3.

[85] A. S. Giz *et al.*, "A detailed investigation of the effect of calcium crosslinking and glycerol plasticizing on the physical properties of alginate films," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 148, pp. 49–55, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.103.

[86] H. Tibolla, A. Czaikoski, F. M. Pelissari, F. C. Menegalli, and R. L. Cunha, "Starch-based nanocomposites with cellulose nanofibers obtained from chemical and mechanical treatments," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 161, pp. 132–146, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.05.194.

[87] American Society for Testing and Materials, "ASTM D882: Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting," *ASTM Int.*, pp. 1–12, 2018, doi: 10.1520/D0882-18.

[88] C. M. O. Müller, J. B. Laurindo, and F. Yamashita, "Effect of nanoclay incorporation method on mechanical and water vapor barrier properties of starch-based films," *Ind. Crops Prod.*, vol. 33, no. 3, pp. 605–610, 2011, doi: 10.1016/j.indcrop.2010.12.021.

[89] HunterLab, "The basics of color perception and measurement." Accessed: Jul. 01, 2025. [Online]. Available: https://www.hunterlab.com/media/documents/basics-of-color-theory.pdf

[90] K. Y. Perera, A. K. Jaiswal, and S. Jaiswal, "Extending cheese shelf-life using eco-friendly sodium alginate-gelatin films reinforced with nanoclay," *Food Biosci.*, vol. 56, no. September, p. 103304, 2023, doi: 10.1016/j.fbio.2023.103304.

[91] U. Boro, A. Priyadarsini, and V. S. Moholkar, "Synthesis and characterization of poly(lactic acid)/clove essential oil/alkali-treated halloysite nanotubes composite films for food packaging applications," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 216, pp. 927–939, 2022, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.07.209.

[92] M. Alboofetileh, M. Rezaei, H. Hosseini, and M. Abdollahi, "Effect of montmorillonite clay and biopolymer concentration on the physical and mechanical properties of alginate nanocomposite films," *J. Food Eng.*, vol. 117, no. 1, pp. 26–33, 2013, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.042.

[93] American Society for Testing and Materials, "ASTM E96/E96M: Standard test methods for gravimetric determination of water vapor transmission," *ASTM Int.*, pp. 1–16, 2024, doi: DOI: 10.1520/E0096_E0096M-22AE01.

[94] A. Kurt and T. Kahyaoglu, "Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan," *Carbohydr. Polym.*, vol. 104, no. 1, pp. 50–58, 2014, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.01.003.

[95] Türk Standartları Enstitüsü, *TS EN ISO 3960: Hayvansal ve bitkisel katı ve sıvı yağlar - Peroksit değeri tayini - İyodometrik (görsel) son nokta tayini*. Ankara, 2017.

[96] S. Memiş, "Çemen tohumu bazlı nanokil katkılı biyobozunur nanokompozit film üretimi ve karakterizasyonu," Yıldız Teknik Üniversitesi, 2017.

[97] American Society for Testing and Materials, "ASTM D570-22: Standard test method for water absorption of plastics," *ASTM Int.*, 2022, doi:

10.1520/D0570-22.

[98] Z. W. Abdullah and Y. Dong, “Biodegradable and water resistant poly(vinyl) alcohol (PVA)/starch (ST)/glycerol (GL)/halloysite nanotube (HNT) nanocomposite films for sustainable food packaging,” *Front. Mater.*, vol. 6, no. 58, pp. 1–17, 2019, doi: 10.3389/fmats.2019.00058.

[99] N. K. Khorrami, M. Radi, S. Amiri, and D. J. McClements, “Fabrication and characterization of alginate-based films functionalized with nanostructured lipid carriers,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 182, pp. 373–384, 2021, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.03.159.

[100] M. A. Busolo and J. M. Lagaron, “Oxygen scavenging polyolefin nanocomposite films containing an iron modified kaolinite of interest in active food packaging applications,” *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 16, pp. 211–217, 2012, doi: 10.1016/j.ifset.2012.06.008.

[101] S. Maisanaba, S. Pichardo, M. Jordá-Beneyto, S. Aucejo, A. M. Cameán, and Á. Jos, “Cytotoxicity and mutagenicity studies on migration extracts from nanocomposites with potential use in food packaging,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 66, pp. 366–372, 2014, doi: 10.1016/j.fct.2014.02.011.

[102] M. Farhoodi, S. M. Mousavi, R. Sotudeh-Gharebagh, and A. Emam-Djomeh, Zahra Oromiehie, “Migration of aluminum and silicon from PET/clay nanocomposite bottles into acidic food simulant,” *Packag. Technol. Sci.*, vol. 27, pp. 161–168, 2014, doi: 10.1002/pts.2017.

[103] M. Mauricio-Iglesias, S. Peyron, V. Guillard, and N. Gontard, “Wheat gluten nanocomposite films as food-contact materials: Migration tests and impact of a novel food stabilization technology (high pressure),” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 116, no. 5, pp. 2526–2535, 2010, doi: doi:10.1002/app.31647.

[104] M. Avella, J. J. De Vlieger, M. E. Errico, S. Fischer, P. Vacca, and M. G. Volpe, “Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications,” *Food Chem.*, vol. 93, no. 3, pp. 467–474, 2005, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.10.024.

[105] Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, “İşletme içi metot - Gıda ile temas eden plastik madde ve malzemelerde Ba, Co, Cu, Fe, Li, Mn, Zn, Al, Ni analizi standart çalışma yöntemi (ALB-TL-54),” 2022.

[106] Nordic Committee on Food Analysis, “Trace Elements - As, Cd, Hg, Pb and other elements. Determination by ICP-MS after pressure digestion.,” no. 186, 2007.

[107] K. Yahya, W. Hamdi, and N. Hamdi, “Chapter 3: Organoclay nano-adsorbent: Preparation, characterization and applications,” in *Nanoclay recent advances, new perspectives and applications*, W. Oueslati, Ed., London: IntechOpen, 2022, pp. 49–73. doi: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.105903.

[108] Z. Yang, W. Wang, G. Wang, and X. Tai, “Optimization of low-energy Pickering nanoemulsion stabilized with montmorillonite and nonionic surfactants,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 585, p. 124098, 2020, doi: 10.1016/j.colsurfa.2019.124098.

[109] J. Rodriguez-Loya, M. Lerma, and J. L. Gardea-Torresdey, “Dynamic light

scattering and its application to control nanoparticle aggregation in colloidal systems: A review," *Micromachines*, vol. 15, no. 1, 2024, doi: 10.3390/mi15010024.

[110] A. Moslemizadeh, S. Khezerloo-ye Aghdam, K. Shahbazi, H. Khezerloo-ye Aghdam, and F. Alboghobeish, "Assessment of swelling inhibitive effect of CTAB adsorption on montmorillonite in aqueous phase," *Appl. Clay Sci.*, vol. 127–128, pp. 111–122, 2016, doi: 10.1016/j.clay.2016.04.014.

[111] N. Güngör, A. Alemdar, O. Atici, and I. O. Ece, "The effect of SDS surfactant on the flow and zeta potential of bentonite suspensions," *Mater. Lett.*, vol. 51, no. 3, pp. 250–254, 2001, doi: 10.1016/S0167-577X(01)00299-3.

[112] C. Roldan-Cruz, E. J. Vernon-Carter, and J. Alvarez-Ramirez, "Assessing the stability of Tween 80-based O/W emulsions with cyclic voltammetry and electrical impedance spectroscopy," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 511, pp. 145–152, 2016, doi: 10.1016/j.colsurfa.2016.09.074.

[113] A. Bhattarai, S. K. Shah, and K. Limbu, "Conductance of sodium dodecylsulfate in presence and absence of Na2SO4 and ZnSO4 in aqueous media at room temperature," *Sci. World*, vol. 12, no. 12, pp. 41–43, 2014, doi: 10.3126/sw.v12i12.13568.

[114] S. Durand-Vidal, O. Bernard, Z. Medoš, and M. Bešter-Rogač, "Theoretical interpretation of conductivity data below and above the CMC: The case of alkaline ion decanoate solutions," *J. Mol. Liq.*, vol. 309, p. 112968, 2020, doi: 10.1016/j.molliq.2020.112968.

[115] Y. Li, L. Zeng, Y. Zhou, T. Wang, and Y. Zhang, "Preparation and characterization of montmorillonite intercalation compounds with quaternary ammonium surfactant: adsorption effect of zearalenone," *J. Nanomater.*, vol. 2014, pp. 1–7, 2014, doi: 10.1155/2014/167402.

[116] K.-H. S. Kung and K. F. Hayes, "Fourier transform infrared spectroscopic study of the adsorption of cetyltrimethylammonium bromide and cetylpyridinium chloride on silica," *Langmuir*, vol. 9, no. 1, pp. 263–267, 1993, doi: 10.1021/la00025a050.

[117] A. U. Kura, S. H. Hussein-Al-Ali, M. Z. Hussein, and S. Fakurazi, "Preparation of Tween 80-Zn/Al-levodopa-layered double hydroxides nanocomposite for drug delivery system," *Sci. World J.*, vol. 2014, pp. 1–10, 2014, doi: 10.1155/2014/104246.

[118] L. Liu, L. Shen, W. Li, F. Min, and F. Lu, "Study on the aggregation behavior of kaolinite particles in the presence of cationic, anionic and non-ionic surfactants," *PLoS One*, vol. 13, no. 9, pp. 1–15, 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0204037.

[119] M. F. Zawrah, R. M. Khattab, E. M. Saad, and R. A. Gado, "Effect of surfactant types and their concentration on the structural characteristics of nanoclay," *Spectrochim. Acta-Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 122, pp. 616–623, 2014, doi: 10.1016/j.saa.2013.11.076.

[120] C. Bai *et al.*, "Preparation and properties of amphiphilic hydrophobically associative polymer/ montmorillonite nanocomposites," *R. Soc. Open Sci.*,

vol. 7, no. 5, p. 200199, 2020, doi: 10.1098/rsos.200199.

[121] E. Finocchio, I. Baccini, C. Cristiani, G. Dotelli, P. Gallo Stampino, and L. Zampori, “Hybrid organo-inorganic clay with nonionic interlayers. Mid- and near-IR spectroscopic studies,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 115, no. 26, pp. 7484–7493, 2011, doi: 10.1021/jp200845e.

[122] S. Maisanaba *et al.*, “Toxic effects of a modified montmorillonite clay on the human intestinal cell line Caco-2,” *J. Appl. Toxicol.*, vol. 34, no. 6, pp. 714–725, 2014, doi: 10.1002/jat.2945.

[123] A. G. Sabzevari, H. Sabahi, and M. Nikbakht, “Montmorillonite, a natural biocompatible nanosheet with intrinsic antitumor activity,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 190, p. 110884, 2020, doi: 10.1016/j.colsurfb.2020.110884.

[124] S. Lordan, J. E. Kennedy, and C. L. Higginbotham, “Cytotoxic effects induced by unmodified and organically modified nanoclays in the human hepatic HepG2 cell line,” *J. Appl. Toxicol.*, vol. 31, no. 1, pp. 27–35, 2011, doi: 10.1002/jat.1564.

[125] Z. Du and J. Li, “Clarifying the misuse of EC50, IC50, and LC50 in cytotoxicity study of water disinfection byproducts: A critical analysis and perspective,” *Hyg. Environ. Heal. Adv.*, vol. 15, p. 100124, 2025, doi: 10.1016/j.heha.2025.100124.

[126] S. Maisanaba *et al.*, “In vitro toxicological assessment of clays for their use in food packaging applications,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 57, pp. 266–275, 2013, doi: 10.1016/j.fct.2013.03.043.

[127] J. Houtman *et al.*, “Toxicity assessment of organomodified clays used in food contact materials on human target cell lines,” *Appl. Clay Sci.*, vol. 90, pp. 150–158, 2014, doi: 10.1016/j.clay.2014.01.009.

[128] A. K. Sharma, B. Schmidt, H. Frandsen, N. R. Jacobsen, E. H. Larsen, and M.-L. Binderup, “Genotoxicity of unmodified and organo-modified montmorillonite,” *Mutat. Res. - Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, vol. 700, no., pp. 18–25, 2010, doi: 10.1016/j.mrgentox.2010.04.021.

[129] N. K. Verma, E. Moore, W. Blau, Y. Volkov, and P. R. Babu, “Cytotoxicity evaluation of nanoclays in human epithelial cell line A549 using high content screening and real-time impedance analysis,” *J. Nanoparticle Res.*, vol. 14, no. 1137, pp. 1–11, 2012, doi: 10.1007/s11051-012-1137-5.

[130] M. Connolly *et al.*, “The influence of organic modification on the cytotoxicity of clay particles to keratinocytes , hepatocytes and macrophages; an investigation towards the safe use of polymer-clay nanocomposite packaging,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 126, no. February, pp. 178–191, 2019, doi: 10.1016/j.fct.2019.02.015.

[131] O. S. Sutormin *et al.*, “Toxicity of different types of surfactants via cellular and enzymatic assay systems,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 24, no. 515, pp. 1–10, 2023, doi: 10.3390/ijms24010515.

[132] A. M. Nafchi, R. Nassiri, S. Sheibani, F. Ariffin, and A. A. Karim, “Preparation and characterization of bionanocomposite films filled with nanorod-rich zinc oxide,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 96, no. 1, pp. 233–239,

2013, doi: 10.1016/j.carbpol.2013.03.055.

[133] E. Stasi *et al.*, "Biodegradable carbon-based ashes/maize starch composite films for agricultural applications," *Polymers (Basel).*, vol. 12, no. 524, pp. 1–16, 2020, doi: 10.3390/polym12030524.

[134] H. Liu, D. Chaudhary, S. I. Yusa, and M. O. Tadé, "Glycerol/starch/Na+-montmorillonite nanocomposites: A XRD, FTIR, DSC and 1H NMR study," *Carbohydr. Polym.*, vol. 83, no. 4, pp. 1591–1597, 2011, doi: 10.1016/j.carbpol.2010.10.018.

[135] P. Singh, G. Kaur, A. Singh, and P. Kaur, "Starch based bio-nanocomposite films reinforced with montmorillonite and lemongrass oil nanoemulsion: development, characterization and biodegradability," *J. Food Meas. Charact.*, vol. 17, no. 1, pp. 527–545, 2023, doi: 10.1007/s11694-022-01635-4.

[136] A. M. Slavutsky, M. A. Bertuzzi, M. Armada, M. G. García, and N. A. Ochoa, "Preparation and characterization of montmorillonite/brea gum nanocomposites films," *Food Hydrocoll.*, vol. 35, pp. 270–278, 2014, doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.06.008.

[137] R. Sothornvit, J. W. Rhim, and S. I. Hong, "Effect of nano-clay type on the physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/clay composite films," *J. Food Eng.*, vol. 91, no. 3, pp. 468–473, 2009, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2008.09.026.

[138] S. Shojaee-Aliabadi *et al.*, "Characterization of nanobiocomposite kappa-carrageenan film with Zataria multiflora essential oil and nanoclay," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 69, pp. 282–289, 2014, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.05.015.

[139] M. H. Lee, S. Y. Kim, and H. J. Park, "Effect of halloysite nanoclay on the physical, mechanical, and antioxidant properties of chitosan films incorporated with clove essential oil," *Food Hydrocoll.*, vol. 84, pp. 58–67, 2018, doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.05.048.

[140] A. Akbal, "Alglerden selüloz eldesinin ve gıda alanında kullanılabilirliğinin analitik yöntemlerle araştırılması," Uludağ Üniversitesi, 2025.

[141] D. Skowrońska and K. Wilpiszewska, "The effect of montmorillonites on the physicochemical properties of potato starch films plasticized with deep eutectic solvent," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, no. 16008, pp. 1–12, 2022, doi: 10.3390/ijms232416008.

[142] H. Almasi, B. Ghanbarzadeh, and A. A. Entezami, "Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 46, no. 1, pp. 1–5, 2010, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2009.10.001.

[143] R. D. Maksimov, A. Lagzdins, N. Lilichenko, and E. Plume, "Mechanical properties and water vapor permeability of starch/montmorillonite nanocomposites," *Polym. Eng. Sci.*, vol. 49, no. 12, pp. 2421–2429, 2009, doi: 10.1002/pen.21491.

[144] N. Wang, X. Zhang, N. Han, and S. Bai, "Effect of citric acid and processing on the performance of thermoplastic starch/montmorillonite

nanocomposites," *Carbohydr. Polym.*, vol. 76, no. 1, pp. 68–73, 2009, doi: 10.1016/j.carbpol.2008.09.021.

[145] S. Memiş, F. Tornuk, F. Bozkurt, and M. Z. Durak, "Production and characterization of a new biodegradable fenugreek seed gum based active nanocomposite film reinforced with nanoclays," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 103, pp. 669–675, 2017, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.05.090.

[146] A. Khezrian and Y. Shahbazi, "Application of nanocompostie chitosan and carboxymethyl cellulose films containing natural preservative compounds in minced camel's meat," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 106, pp. 1146–1158, 2018, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.08.117.

[147] L. E. Nielsen, "Models for the permeability of filled polymer systems," *J. Macromol. Sci. Part A - Chem.*, vol. 1, no. 5, pp. 929–942, 1967, doi: http://dx.doi.org/10.1080/10601326708053745.

[148] F. Sadegh-Hassani and A. Mohammadi Nafchi, "Preparation and characterization of bionanocomposite films based on potato starch/halloysite nanoclay," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 67, pp. 458–462, 2014, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.04.009.

[149] V. P. Cyras, L. B. Manfredi, M. T. Ton-That, and A. Vázquez, "Physical and mechanical properties of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposite films," *Carbohydr. Polym.*, vol. 73, no. 1, pp. 55–63, 2008, doi: 10.1016/j.carbpol.2007.11.014.

[150] J. K. Pandey and R. P. Singh, "Green nanocomposites from renewable resources: Effect of plasticizer on the structure and material properties of clay-filled starch," *Starch/Staerke*, vol. 57, no. 1, pp. 8–15, 2005, doi: 10.1002/star.200400313.

[151] S. Tunç and O. Duman, "Preparation and characterization of biodegradable methyl cellulose/montmorillonite nanocomposite films," *Appl. Clay Sci.*, vol. 48, no. 3, pp. 414–424, 2010, doi: 10.1016/j.clay.2010.01.016.

[152] S. Jafarzadeh, A. Salehabadi, A. Mohammadi Nafchi, N. Oladzadabbasabadi, and S. M. Jafari, "Cheese packaging by edible coatings and biodegradable nanocomposites; improvement in shelf life, physicochemical and sensory properties," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 116, no. May, pp. 218–231, 2021, doi: 10.1016/j.tifs.2021.07.021.

[153] L. Guo and C. Li, "Preparation of organically modified montmorillonite reinforced gelatin/cassava starch film and its application in broccoli florets preservation," *Food Packag. Shelf Life*, vol. 52, no. September, p. 101604, 2025, doi: 10.1016/j.fpsl.2025.101604.

[154] K. Wilpiszewska, A. K. Antosik, and T. Spychaj, "Novel hydrophilic carboxymethyl starch/montmorillonite nanocomposite films," *Carbohydr. Polym.*, vol. 128, pp. 82–89, 2015, doi: 10.1016/j.carbpol.2015.04.023.

[155] A. Heydari, I. Alemzadeh, and M. Vossoughi, "Functional properties of biodegradable corn starch nanocomposites for food packaging applications," *Mater. Des.*, vol. 50, pp. 954–961, 2013, doi: 10.1016/j.matdes.2013.03.084.

[156] N. F. Magalhães and C. T. Andrade, "Thermoplastic corn starch/clay hybrids: Effect of clay type and content on physical properties," *Carbohydr.*

Polym., vol. 75, no. 4, pp. 712–718, 2009, doi: 10.1016/j.carbpol.2008.09.020.

[157] M. A. García, M. N. Martino, and N. E. Zaritzky, "Microstructural characterization of plasticized starch-based films," *Starch/Stärke*, vol. 52, no. 4, pp. 118–124, 2000, doi: 10.1002/1521-379X(200006)52:4<118::AID-STAR118>3.0.CO;2-0.

[158] D. Schlemmer, R. S. Angélica, and M. J. A. Sales, "Morphological and thermomechanical characterization of thermoplastic starch/montmorillonite nanocomposites," *Compos. Struct.*, vol. 92, no. 9, pp. 2066–2070, 2010, doi: 10.1016/j.compstruct.2009.10.034.

[159] P. Kampeerapappun, D. Aht-ong, D. Pentrakoon, and K. Srikulkit, "Preparation of cassava starch/montmorillonite composite film," *Carbohydr. Polym.*, vol. 67, no. 2, pp. 155–163, 2007, doi: 10.1016/j.carbpol.2006.05.012.

[160] A. Cano, E. Fortunati, M. Cháfer, C. González-Martínez, A. Chiralt, and J. M. Kenny, "Effect of cellulose nanocrystals on the properties of pea starch–poly(vinyl alcohol) blend films," *J. Mater. Sci.*, vol. 50, no. 21, pp. 6979–6992, 2015, doi: 10.1007/s10853-015-9249-9.

[161] Y. Huang, S. Chen, X. Bing, C. Gao, T. Wang, and B. Yuan, "Nanosilver migrated into food-simulating solutions from commercially available food fresh containers," *Packag. Technol. Sci.*, vol. 24, pp. 3291–297, 2011, doi: 10.1002/pts.938.

[162] S. Koçer, "Kestane kabuğu pigmentlerinin ekstraksiyonu, enkapsülasyonu ve bazi özelliklerinin belirlenmesi," Uludağ Üniversitesi, 2023. [Online]. Available: https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/

[163] Ö. Öney and S. Samanlı, "Kütahya/Altıntaş grafitlerinin kaba flotasyon parametrelerinin box-behnken deney tasarımı kullanılarak optimizasyonu ve modellenmesi," *Dokuz Eylul Univ. Eng. J. Sci. Eng.*, vol. 19, no. 56, pp. 201–211, 2017, doi: 10.21205/deufmd. 2017195651.

[164] M. Erşan and Ü. Açıkel, "R. delemar 'ın asit fosfataz üretimi ve Zn(II) biyobirikiminin cevap yüzey yöntemi kullanarak optimize edilmesi," *Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Derg.*, vol. 29, no. 2, pp. 321–329, 2014, doi: 10.17341/gummfd.95280.

[165] F. Tezcan, E. Günister, G. Özen, and F. B. Erim, "Biocomposite films based on alginate and organically modified clay," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 50, no. 4, pp. 1165–1168, 2012, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.01.006.

[166] J. Chen *et al.*, "Characterization of sodium alginate-based films incorporated with thymol for fresh-cut apple packaging," *Food Control*, vol. 126, p. 108063, 2021, doi: 10.1016/j.foodcont.2021.108063.

[167] M. T. Musa and N. Shaari, "The thermal stability and preliminary performance of sodium alginate and polyvinyl alcohol-based membrane in DMFC: Montmorillonite as a filler," *Malaysian J. Anal. Sci.*, vol. 26, no. 3, pp. 589–599, 2022.

[168] D. Wu, C. Zhou, X. Fan, D. Mao, and Z. Bian, "Nonisothermal crystallization kinetics of poly(butylene terephthalate)/montmorillonite

nanocomposites," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 99, no. 6, pp. 3257–3265, 2006, doi: 10.1002/app.22782.

[169] S. Sinha Ray, "Chapter 9: Crystallization behavior, morphology, and kinetics," in *Clay-Containing Polymer Nanocomposites: From fundamentals to real applications*, First edit., Elsevier B.V., 2013, pp. 273–303. doi: https://doi.org/10.1016/C2011-0-07134-X.

[170] J.-W. Rhim, "Effect of clay contents on mechanical and water vapor barrier properties of agar-based nanocomposite films," *Carbohydr. Polym.*, vol. 86, no. 2, pp. 691–699, 2011, doi: 10.1016/j.carbpol.2011.05.010.

[171] Y. Li, C. Qiu, Y. Qi, and Y. Yan, "Water resistance improvement of sodium alginate and black wolfberry anthocyanins based films treated by CaCl2 for food packaging," *J. Oleo Sci.*, vol. 74, no. 3, pp. 275–285, 2025, doi: 10.5650/jos.ess24191.

[172] J. A. Prasetia, S. Wikarsa, and S. Asyarie, "Preparation, characterization and mechanical properties of Na+ alginate/Na+ bentonite nanocomposite film," *Int. J. Pharm. Teach. Pract.*, vol. 4, no. 2, pp. 681–688, 2013.

[173] C. G. da Silva Scudeler, T. de Lima Costa, W. R. Cortez-Vega, C. Prentice, and G. G. Fonseca, "Development and characterization of Nile tilapia (Oreochromis niloticus) protein isolate-based biopolymer films incorporated with essential oils and nanoclay," *Food Packag. Shelf Life*, vol. 25, no. November 2019, p. 100542, 2020, doi: 10.1016/j.fpsl.2020.100542.

[174] N. A. Azahari, N. Othman, and H. Ismail, "Biodegradation studies of polyvinyl alcohol/corn starch blend films in solid and solution media," *J. Phys. Sci.*, vol. 22, no. 2, pp. 15–31, 2011.

[175] Z. Abbasi, "Water resistance, weight loss and enzymatic degradation of blends starch/polyvinyl alcohol containing SiO2 nanoparticle," *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, vol. 43, no. 2, pp. 264–268, 2012, doi: 10.1016/j.jtice.2011.10.007.

[176] M. E. Taverna, C. A. Busatto, P. J. Saires, M. P. Bertero, U. A. Sedran, and D. A. Estenoz, "Bio-composite films based on alginate and rice husk tar microparticles loaded with eugenol for active packaging," *Waste and Biomass Valorization*, vol. 13, no. 6, pp. 3061–3070, 2022, doi: 10.1007/s12649-022-01679-z.

[177] Y. Zheng, X. Li, Y. Huang, H. Li, L. Chen, and X. Liu, "Two colorimetric films based on chitin whiskers and sodium alginate/gelatin incorporated with anthocyanins for monitoring food freshness," *Food Hydrocoll.*, vol. 127, no. October 2021, p. 107517, 2022, doi: 10.1016/j.foodhyd.2022.107517.

[178] M. Ščetar, A. P. Siročić, Z. Hrnjak-Murgić, and K. Galić, "Preparation and properties of low density polyethylene film modified by zeolite and nanoclay," *Polym. - Plast. Technol. Eng.*, vol. 52, no. 15, pp. 1611–1620, 2013, doi: 10.1080/03602559.2013.828234.

[179] E. Fortunati, M. Peltzer, I. Armentano, L. Torre, A. Jiménez, and J. M. Kenny, "Effects of modified cellulose nanocrystals on the barrier and migration properties of PLA nano-biocomposites," *Carbohydr. Polym.*, vol. 90, no. 2, pp. 948–956, 2012, doi: 10.1016/j.carbpol.2012.06.025.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirisi

1. S. Çavuş and M. Arıcı, "Development of sodium alginate-based film materials and investigation of the overall migration characteristics as potential food packaging," in *4th International Food Chemistry Congress,* Antalya, 8-11 May 2025 (Sözlü sunum).

Makale

1. S. Çavuş and M. Arıcı, "Synthesis and characterization of cationic and non-ionic surfactant added organomodified montmorillonite and the effect on migration characteristics for starch-based film materials," *J. Food Sci*., vol. 90, no.6, pp. 1-22, 2025, doi: 10.1111/1750-3841.70339.

Proje

1. S. Çavuş ve M. Arıcı, "Organokil ilaveli çeşitli polimer/kil nanokompozit ambalaj filmlerinin toplam ve spesifik migrasyon profillerinin incelenmesi," *TAGEM Projesi*, Proje No: TAGEM/HSGYAD/A/22/A3/P1/5256, Bursa, 2022-2025.