

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇEMEN TOHUMU BAZLI NANOKİL KATKILI BİYOBOZUNUR
NANOKOMPOZİT FİLM ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

SALİHA MEMİŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. FATİH TÖRNÜK**

İSTANBUL, 2017

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇEMEN TOHUMU BAZLI NANOKİL KATKILI BİYOBOZUNUR
NANOKOMPOZİT FİLM ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

Saliha MEMİŞ tarafından hazırlanan tez çalışması 24.03.2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Salih KARASU
Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Mustafa YAMAN
İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi



Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2015-07-05-KAP01 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Tanıdığım günden bugüne kadar her daim yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen, çalışkanlığını, azmini ve insani değerlerini örnek aldığım ve ayrıca tez çalışmam boyunca göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen bölüm arkadaşlarıma, hocalarıma ve analizler sırasında bilgi ve becerisini paylaşan, daima çözüm odaklı olan Uzm. Fatih BOZKURT' a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında başta motivasyon olmak üzere her türlü yardım ve desteği veren ablam Saim MEMİŞ'e, abim Fatih MEMİŞ' e ve manevi kardeşim Dilay KAHRAMANOĞLU' na teşekkür ederim.

Hayatım boyunca attığım her adımda ve aldığım her kararda benden desteğini esirgemeyen, varlıklarıyla hayattaki en büyük şanslarım olan annem Zehra MEMİŞ ve babam İsmail MEMİŞ'e sevgi ve minnetlerimi sunarım.

Mart, 2017

Saliha MEMİŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ.....	vii
KISALTMA LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xiii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	4
1.2 Tezin Amacı	8
1.3 Hipotez	8
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER.....	9
2.1 Çemenotu	9
2.2 Killer	11
2.2.1 Montmorillonit (MMT)	12
2.2.2 Halloysit Nanotüpleri (HNT)	14
2.3 Gamlar.....	15
2.4 Polimer/Kil Nanokompozitleri	16
2.4.1 Solvent Polimerizasyon.....	17
2.4.2 In Situ Polimerizasyon	18
2.4.3 Eriterek Birleştirme.....	18
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE YÖNTEM	19
3.1 Materyal.....	19

3.2	Yöntem.....	19
3.2.1	Çemenotu Tohumundan Gam Elde Edilmesi.....	19
3.2.2	Çemenotu Tohumu Gaminin Karakterizasyonu	20
3.2.2.1	pH Değerinin Tespiti.....	20
3.2.2.2	Nem Miktarının Tespiti	20
3.2.2.3	Şeker Kompozisyonunun Tespiti.....	20
3.2.2.4	Su Tutma Kapasitesinin Tespiti	21
3.2.2.5	Suda Çözünürlük	21
3.2.3	Çemenotu Gamından Film Üretimi	21
3.2.4	Filmlerin Karakterizasyonu	23
3.2.4.1	Nem İçeriği	23
3.2.4.2	Film Kalınlığı	23
3.2.4.3	Optik Özellikler.....	23
3.2.4.4	Antioksidan Aktivitesi (AOA)	24
3.2.4.5	Antimikrobiyal Aktivite.....	24
3.2.4.6	Fourier Dönüştürücü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi.....	25
3.2.4.7	Su Buharı Geçirgenliği (SBG)	25
3.2.4.8	Oksijen Geçirgenliği.....	26
3.2.4.9	Mekanik Özellikler.....	26
3.2.4.10	SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi).....	27
3.2.4.11	DSC (Diferansiyel Tarama Kalorimetresi).....	27
3.2.4.12	İstatistiksel Analiz.....	27
BÖLÜM 4		
BULGULAR VE TARTIŞMA.....		28
4.1	Çemenotu Tohumu Gaminin Karakterizasyonu.....	28
4.2	Filmlerin Karakterizasyonu	29
4.2.1	Nem İçeriği.....	29
4.2.2	Film Kalınlığı.....	30
4.2.3	Optik Özellikler	31
4.2.4	Antioksidan Aktivite (AOA)	33
4.2.5	Antimikrobiyal Aktivite	34
4.2.6	Fourier Dönüştürücü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi	36
4.2.7	Su Buharı Geçirgenliği.....	38
4.2.8	Oksijen Geçirgenliği	39
4.2.9	Mekanik Özellikler	40
4.2.10	SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi).....	42
4.2.11	DSC (Diferansiyel Tarama Kalorimetresi)	44
SONUÇLAR VE ÖNERİLER		46
KAYNAKLAR.....		48
ÖZGEÇMİŞ.....		55

SİMGE LİSTESİ

a^*	Kırmızı ve yeşil renk değeri
A_{kontrol}	Kontrol absorbans değeri
$A_{\text{örnek}}$	Örnek absorbans değeri
b^*	Sarı ve mavi renk değeri
ΔE^*	Toplam renk farkı
L^*	Beyaz ve siyah renk değeri
P	İstatistikte anlamlılık seviyesi
T_e	Erime sıcaklığı

KISALTMA LİSTESİ

AOA	Antioksidan Aktivite
BG	Brea Gam
ÇG	Çemenotu Gamı
DDPH	2,2 difenil-1-pikrilhidrazin
DSC	Diferansiyel Tarama Kalorimetresi
EB	Kopma Anındaki Uzama
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GG	Guar Gam
HNT	Halloysit Nanotüpleri
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
MMT	Montmorillonit
NM	Nanomer I.44 P
RID	Reaktif İndex Dedektörü
SBG	Su Buharı Geçirgenliği
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TS	Çekme Dayanımı

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1 Biyobozunur ambalaj üretiminde kullanılan doğal polimerler	2
Şekil 1.2 Dolgu maddelerinin oluşturduğu kıvrımlı yol	4
Şekil 2.1 Çemenotu Tohumu (Fenugreek seed)	9
Şekil 2.2 Killerin tabakalı yapısı	13
Şekil 2.3 Katmanlı silikatların polimer matrisinde dağılımları	14
Şekil 2.4 Halloysit nanotüplerinin SEM görüntüsü	14
Şekil 3.1 Toz haline getirilmiş çemenotu tohum gamı	20
Şekil 3.2 Film çözeltisinin hazırlanması	22
Şekil 3.3 Kurutma amacıyla cam kaplara dökülmüş film çözeltisi (solda) ve kurutulmuş film örneği (sağda)	22
Şekil 3.4 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin su buharı geçirgenlik analizi	25
Şekil 3.5 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin oksijen geçirgenliği analizi	26
Şekil 4.1 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin antioksidan aktiviteleri (AOA)	33
Şekil 4.2 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin agar plak üzerindeki antimikrobiyal etkisi	35
Şekil 4.3 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin FTIR spektrumları	37
Şekil 4.4 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin SEM görüntüleri	43
Şekil 4.5 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin DSC termogramı	45

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Çemenotu Tohumu Kimyasal Kompozisyonu (A) ve Mineral Kompozisyonu (B).....	10
Çizelge 4.1 Çemenotu tohumundan elde edilen gamın karakterizasyonu	28
Çizelge 4.2 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin nem içeriği değerleri	29
Çizelge 4.3 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin kalınlık değerleri	30
Çizelge 4.4 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin L^* , a^* , b^* ve ΔE değerleri.....	32
Çizelge 4.5 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin antimikrobiyal aktivite değerleri.....	34
Çizelge 4.6 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin su buharı geçirgenliği değerleri.....	38
Çizelge 4.7 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin peroksit değerleri.....	39
Çizelge 4.8 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin çekme dayanımı ve kopma anındaki uzama değerleri.....	41
Çizelge 4.9 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin DSC değerleri.....	44

ÇEMEN TOHUMU BAZLI NANOKİL KATKILI BİYOBOZUNUR NANOKOMPOZİT FİLM ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Saliha MEMİŞ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK

Bu çalışmada, çemenotu tohumlarından elde edilen çemenotu gamının farklı konsantrasyonlardaki (0, 2.5, 5.0 ve 7.5 g kil/100 g çemenotu gamı) nanokillerle (Na^+ montmorillonit [MMT], halloysit [HNT] and Nanomer® I.44 P [NM]) birleştirilmesiyle nanokompozit filmler elde edilmiştir. Elde edilen filmlerin, ambalaj materyali olarak kullanım potansiyelini belirlemek amacıyla kalınlık, nem içeriği, renk özellikleri, su buharı geçirgenliği, oksijen geçirgenliği, antimikrobiyal, çekme dayanımı (TS), uzama katsayısı (EB), antioksidan aktivitesi (AOA), diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC), fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve taramalı elektron mikroskobu analizi (SEM) gerçekleştirilmiştir. Artan nanokil miktarı biyolojik olarak parçalanabilir filmlerin mekanik (çekme dayanımı ve uzama katsayısı), oksijen bariyeri ve termal özelliklerini önemli ölçüde geliştirmiştir. Çemenotu gamı/kil nanokompozitlerinden elde edilen filmler agar difüzyon testleriyle, kil tipi ve konsantrasyondan bağımsız olarak *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* olmak üzere gıda kaynaklı patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal etki göstermiştir. Çemenotu gamının hidrofilik özelliği ve hidrofilik bentonitin (MMT) polimer matrisiyle uyumluluğundan dolayı MMT kilinin diğer killere göre polimer matrisi içinde daha iyi dağılmış olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar özellikle çemenotu gamı ve MMT ile üretilen nanokompozit filmlerin gıda ambalajlama uygulamalarında kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Çemenotu tohumu gamı, nanokil, biyobozunur film



ABSTRACT

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF FENUGREEK SEED GUM-BASED BIODEGRADABLE NANOCOMPOSITE FILM DOPED WITH NANOCLAY

Saliha MEMİŞ

Department of Food Engineering

MSc. Thesis

Adviser: Assist. Prof. Dr. Fatih TÖRNÜK

In the present work, fenugreek seed gum FSG/clay nanocomposite films containing nanoclays (Na⁺ montmorillonite [MMT], halloysite [HNT] and Nanomer® I.44 P [NM]) at different amounts (0, 2.5, 5.0 and 7.5 g clay/100 g FSG) were prepared by solution casting method and characterized. Water vapor permeability, oxygen permeability, antimicrobial activity, antioxidant activity, tensile strength (TS), elongation at break (EB), DSC, FTIR and SEM properties of the obtained films were analyzed in order to determine their use potential as packaging material. The increased amount of nanoclay has significantly ($P<0.05$) improved the mechanical (tensile strength and elongation at break), oxygen barrier and thermal properties of the biodegradable films. Films produced from FSG showed strong antimicrobial activity against foodborne pathogens, including *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*, regardless of clay type and concentration, as measured by agar diffusion tests. It was observed that the MMT clay was dispersed better in the polymer matrix than the other clays because of its compatibility with the hydrophilic character of the FSG. The results confirmed that nanocomposite films produced with FSG and MMT could have potential to be used in food packaging applications.

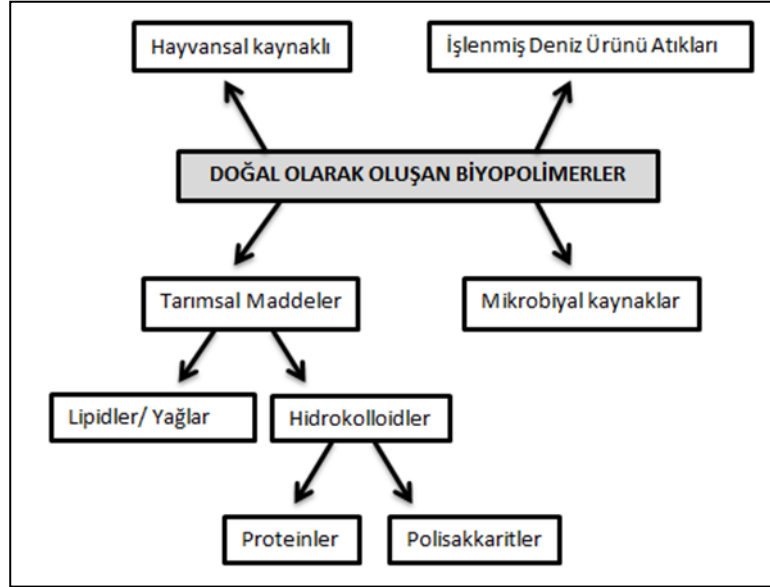
Keywords: Fenugreek seed gum, nanoclay, biodegradable film



GİRİŞ

Günümüzde gıda güvenliğinin sağlanması, gıdalardaki bozulmaların yavaşlatılması amacıyla farklı muhafaza ve ambalaj teknikleri kullanılmaktadır. Ambalajlama malzemesi olarak polietilen tereftalat (PET), polivinilklorür (PVC), polietilen (PE), polipropilen (PP), polistiren (PS) ve poliamid (PA) gibi petrokimya bazlı plastiklerin kullanımı; yumuşaklık, hafiflik, şeffaflık, çekme mukavemeti, ısı yapışkanlık, aroma ve gaz geçirgenlik direnci gibi istenen özelliklerin birçoğunu sunduklarından dolayı devam etmiştir. Ancak ambalajlamada kullanılan plastik materyallerin önemli bir kısmı petrokimyasallardan elde edilmekte olup bunların biyolojik olarak bozunabilir olmamaları nedeniyle ciddi bir ekolojik problem söz konusudur. Plastik endüstrisinin petrole bağımlı olması ve petrol fiyatlarının ekonomi üzerindeki olumsuz etkisi de alternatif hammaddelerinin kullanımını giderek daha da önemli hale getirmiştir [1,2].

Biyobozunur ambalajların üretiminde hayvansal kaynaklı (jelatin, kollajen), tarımsal kaynaklı (lipidler/yağlar; bal mumu ve serbest yağ asitleri, protein bazlı hidrokolloidler; mısır, soya ve buğday, polisakkarit bazlı hidrokolloidler; selüloz, nişasta, lif, pektin ve gamlar) mikrobiyal kaynaklı (pullulan ve polilaktik asit) ve deniz ürünü atıkları (kitin, kitosan) gibi hammaddeler kullanılmaktadır. Ucuz olması ve kolayca temin edilebilmesinden dolayı en çok kullanılan madde nişastadır. Termoplastik özellikte ambalaj üretimi sırasında gliserol ve sorbitol gibi plastikleştiriciler kullanılmaktadır [3]. Şekil 1.1.'de gıda ambalajlamada kullanılan biyopolimerlerin sınıflandırılması görülmektedir.



Şekil 1.1 Biyobozunur ambalaj üretiminde kullanılan doğal polimerler

Mikrobiyal kaynaklı polimer olan polilaktik asit, laktik asitin polimerleşmesiyle oluşur. Ambalaj üretiminde birçok avantaj sağlamasına rağmen diğer polimer malzemelerine göre daha pahalı olması kullanımını kısıtlamaktadır. Selüloz, doğada bol miktarda bulunan maddelerden biri olup selülozun bariyer özelliğinin zayıf olmasından dolayı ambalaj üretiminde kullanımı zordur [2].

Petrol türevi polimerlerin tüketicilere ve çevreye verdikleri zararlar nedeniyle son zamanlarda doğal polimerlerden elde edilen ambalajlara önem verilmektedir. Bu konudaki önemli gelişmelerden birisi de nanoteknoloji ve bu teknolojiyle hazırlanan biyopolimer bazlı nanokompozit filmlerdir. Biyopolimerlerden üretilen ambalaj malzemeleri çevre dostu olmasının yanı sıra, gıdaların güvenliğini ve kalitesini korurken, biyolojik olarak parçalanma sonrasında gübre özelliği göstererek tarım ürünlerinin verimini artırmaktadır [4].

Biyobozunur hammaddelerden üretilen filmlerin en büyük eksikliği, petrol esaslı materyallerle karşılaştırıldığında daha zayıf bariyer ve mekanik özelliklere sahip olmalarıdır. Bu eksiklik birçok gıda paketleme uygulamasında biyopolimer kullanımını engellemektedir. Nanoteknoloji, ambalaj malzemesinin yapısını molekül düzeyinde değiştirme imkanını sağlayarak, gıda ambalajında arzu edilen fonksiyonları birarada sunmaktadır. Polimerlere uygun maddelerin (nano parçacıklar gibi) ilavesi ile ambalaj

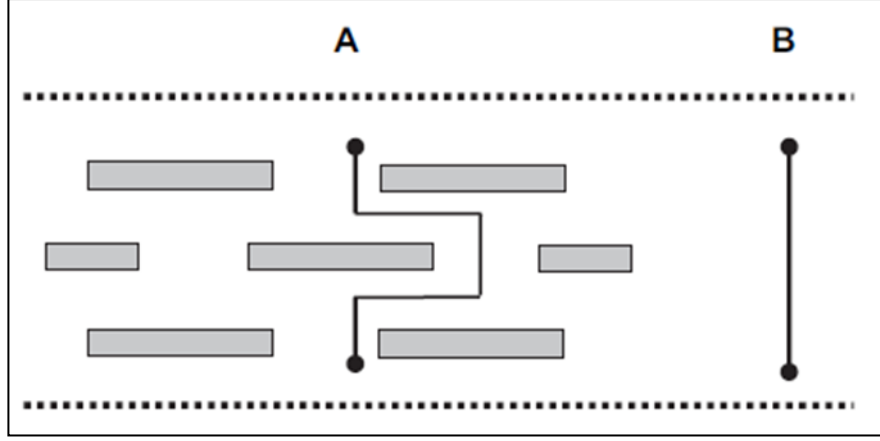
materyallerinin ışık, ısı, gaz geçirgenliği ve mekaniksel özellikleri geliştirilebilmektedir [5].

Polimer nanokompozitlerin gelişimi, malzemelerin termal, mekanik, gaz ve organik buhar bariyer özelliklerini iyileştirilmesine yönelik en umut verici teknolojiler arasında öne çıkmaktadır. Nanokompozit filmlerin elde edilmesinde kullanılan doğal kaynaklardan elde edilen biyopolimerler biyobozunur, yenilebilir, çevre dostu ve antikanserojen olduklarından dolayı petro-kimyasal bazlı ambalaj materyallerinin yerine geçebilecek iyi bir alternatif olarak görülmektedir [6].

Kompozit malzemeler, bir fazın sürekli faz ve diğer fazın dispersiyon fazı olduğu iki ya da daha fazla faz içeren ürünlerdir. Genellikle sürekli faz bir polimerdir, dispers faz ise dolgu maddesi veya takviye edici bir maddeden oluşmaktadır. Nanokompozitler 100 nm'den daha düşük bir boyuta sahip en az bir organik ya da inorganik dolguya sahip tek bir polimer ya da bir polimer karışımı içermektedirler. SiO_2 , TiO_2 , KMnO_4 , kil, nanofibrillenmiş selüloz, karbon nanotüpler vb. nanopartiküllerin biyopolimer ve sentetik polimerlere dahil edilmesinin mekanik ve bariyer özelliklerini geliştirebileceği bildirilmiştir [5].

Yapılan çalışmalara göre polimerlerin bariyer, optik ve mekanik özellikleri ile, termal kararlılıkları nanomalzemeler kullanılarak geliştirilebilir. Nanoparçacıkların polimer matriksine dağılımı, ortaya çıkan kompozitin özelliklerini belirleyen en önemli faktörlerden biridir [7].

Gaz geçirgenliği yüksek olan polimer matriksine, yüksek yüzey alanına sahip dolgu maddelerinin eklenmesiyle geçirgen moleküller tarafından aşılması gereken daha uzun bir difüzyon yolu oluşur ve böylece polimerin gaz bariyeri özellikleri geliştirilir. Şekil 1.2'de dolgu maddesi ilavesinin polimerin geçirgenliği üzerindeki etkisi şematik olarak gösterilmektedir [6].



Şekil 1.2 Dolgu maddelerinin oluşturduğu kıvrımlı yol

1.1 Literatür Özeti

Zhu vd. [8] tarafından montmorillonit/polipropilen nanokompozitlerin hazırlanması için modifiye MMT ve polietilen glikol eklenmiş polipropilen (PP-g-PEG) kullanılmıştır. Geçirimli Elektron Mikroskop (TEM) sonuçları, PP-g-PEG'nin PEG bölümlerinin MMT içinde dağılarak, ara katmanlarını genişlettiğini ve silikatların PP matrisinde homojen olarak dağılmış olduğu bildirilmiştir. MMT/PP-g-PEG/PP nanokompozitler, üstün reolojik davranışlar ve mekanik özellikler sergilemişlerdir. Bu işlemle MMT/ PP-g-PEG/ PP nanokompozitlerin erime viskozitesi önemli ölçüde azaltılmış ve mekanik özellikleri geliştirilmiştir. MMT/PP-g-PEG/PP nanokompozitlerin kopma anındaki mukavemeti ve uzaması sırasıyla % 148 ve% 43 oranında artmıştır. Ayrıca, çekme dayanımı da geliştirilmiştir.

Casariego vd. [9] tarafından yapılan çalışmada kitosan ve nanokil karışımı kil partiküllerinin film matrisinde dağılımıyla hazırlanmış ve elde edilen filmlerin suda çözünürlüğü, su buharı ve oksijen geçirgenliği, optik, mekanik ve kimyasal özellikleri karakterize edilmiştir. Termal özellikler, diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC), termogravimetrik analizler ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri alınmıştır. Filmlerin su buharı geçirgenliği, kilin polimer matrisine dâhil edilmesi ile önemli ölçüde iyileşmiştir, buna karşın suda çözünürlük kil konsantrasyonu arttıkça (sabit bir kitosan konsantrasyonu için) azalmıştır. Kitosan/kil filmlerinin gerilme mukavemeti, artan kitosan ve kil konsantrasyonları ile önemli ölçüde artarken uzama değerleri, yüksek kitosan konsantrasyonlarında azalmıştır.

Saurabha vd. [10] tarafından yapılan çalışmada guar gum esaslı nanokompozit filmler, modifiye edilmiş (kloisit 20A) ve modifiye edilmemiş (nanofil 116) nanokiller kullanılarak hazırlanmıştır. Nanokil katkının filmlerin mekanik mukavemet, su buharı bariyer özelliği ve opaklığına etkisi değerlendirilmiştir. Nanokompozitler, X-ışını saçılması, FTIR ve SEM kullanılarak karakterize edilmiştir. Mekanik mukavemet nanokil konsantrasyona bağlı olarak artmış ve su buharı geçiş hızında azalma gözlenmiştir. Nanofil 116 (% 2.5 w / w guar gam) ve kloisit 20A (% 10 w / w guar gam) içeren filmlerin, kontrol ile karşılaştırıldığında sırasıyla %102 ve %41 daha yüksek gerilme mukavemeti gösterdiği tespit edilmiştir. Kloisit 20A filmlerinin nanofil 116 filmlerle karşılaştırıldığında daha düşük çekme dayanımı sergilediği, bu durumun ise guar gam ile olan uyumsuzluğundan kaynaklandığı belirtilmiştir.

Slavutsky vd. [11] tarafından yapılan çalışmada Brea ağacından elde edilen gam (BG) kullanılarak MMT kili ile zenginleştirilmiş filmler elde edilmiş ve kil konsantrasyonunun filmlerin fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. FTIR spektrumları, MMT ve BG molekülleri arasında güçlü bir etkileşimin meydana geldiği gösterilmiştir. Filmlerin optik özellikleri, nanokil yoğunluğuna bağlı olarak çözünürlük, su ve gaz geçirgenlikleri MMT içeriği arttıkça azalmıştır. BG ve BG / MMT filmlerinin su buharı geçirgenlikleri analiz edilmiş, sonuçlar nanokil ilavesinin su buharı geçirgenliğinde azalma sağladığını göstermiştir. Nanokil ilavesi, Young modülünde ve çekme dayanımında bir artış ve filmin kopma anında uzamasında bir azalış meydana getirmiştir. Ayrıca, MMT'nin % 5 oranında eklenmesi, BG esaslı filmlerin suya direnci, su ve gaz bariyeri özelliklerini geliştirmiş aynı zamanda filmlerin mekanik özelliklerini de iyileştirmiştir. Gaz geçirgenlik ölçümlerinde ise MMT ilavesinin BG filminin CO₂ ve O₂ geçirgenliğini azalttığı belirlenmiştir.

Qi vd. [12] tarafından Camelina (ketencik) gamından üretilen filmin (CG) film oluşturma, film görünümü, morfolojik, mekanik, su/ışık bariyeri ve termal özellikleri değerlendirilmiştir. %4 oranında nanokil ilavesi ile, filmin çekme dayanımı 43.2 MPa'dan 54.6 MPa'ya yükselmiştir. Artan nanokil oranı (%6 ve %10) zayıf dispersiyon sonucu film matriksinde nanokil kümeleşmelerinin ortaya çıkması nedeniyle sınırlı mekanik mukavemet artışına neden olmuştur. Yapılan bu çalışmada CG / nanokil filmin kompakt (sıkı) yapısının suyun difüzyonunu engellediği, bu yolla su buharı

geçirgenliğinin azaldığı tespit edilmiştir. Öte yandan, CG filminin morötesi (UV) ışık geçirgenliği, % 10 oranındaki nanokil ilavesi ile % 40 oranında azaldığı sonucuna varılmıştır.

Rhim vd. [13] tarafından Kloisit Na⁺, Kloisit 30B, and Kloisit 20A gibi farklı nanokil türleri ile kuvvetlendirilmiş agar bazlı nanokompozit filmler hazırlanmış ve bu örneklerin çekme mukavemeti, su buharı geçirgenliği ve antimikrobiyal özellikleri test edilmiştir. Kontrol agar filminin çekme dayanımı, kopma anındaki uzama ve su buharı geçirgenliği sırasıyla. 29.7±1.7 MPa, % 45.3±9.6 ve (2.22±0.19)×10⁻⁹g·m/m²·s·Pa olarak bulunmuştur. Tüm film özelliklerinin test edilmesiyle Kloisit Na⁺ kilinin agar matrisi ile en uyumlu kil olduğu belirlenmiştir. Nanokompozit filmlerin su buharı geçirgenliği nanokil ilavesi ile % 24 azalırken, % 5 Kloisit Na⁺ ile hazırlanan nanokompozit film çekme dayanımı % 18 artmıştır. Ayrıca test edilen agar / kil nanokompozit filmler arasında sadece agar / Kloisit 30B kullanılarak hazırlanan nanokompozit filmin, *Listeria monocytogenes*'e karşı bakteriyostatik bir işlev gösterdiği belirlenmiştir.

Guar gam (GG) filmlerinin fizikokimyasal özelliklerine nanokil (nanofil-116), balmumu, tween-80 ve gliserol ilavesinin etkisi yanıt yüzeyi metodu (Response Surface Methodology) kullanılarak incelenmiştir. Arı balmumu, su geçirgenliği ve çekme dayanımında azalma olurken nanokil ilavesiyle su buharı geçirgenliğinde azalma, çekme dayanımında artış gözlenmiştir. Çeşitli katkı maddelerinin farklı konsantrasyonları daha iyi özellikler sergileyen filmler hazırlamak üzere optimize edilmiştir. Bu yöntemle, geliştirilmiş mekanik ve bariyer özelliklere sahip guar gum esaslı filmlerin hazırlanması başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir [14].

Yapılan diğer bir çalışmada ise nanokil partikülleri jelatin matrisine dahil edilmiş ve farklı kil seviyelerine sahip jelatin-kil nanokompozitlerinin üretimi başarıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, filmlerin gerilme mukavemetinin kil içeriği ile doğru orantılı olduğu ; kil ilavesinin, filmlerin uzamasında ve su buharı geçirgenliğinde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir [15].

Organik modifiye montmorillonit, etilen vinil asetat kopolimeri (EVA), düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) ve yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) ile çift vidalı bir ekstrüzyon presinde birleştirmiştir. Organokilin farklı polietilen türleri üzerindeki

etkileri üretilen organokil-polietilen nanokompozit filmlerin çekme özellikleri ve oksijen geçirgenliği tespitiyle araştırılmıştır. Kil ilavesiyle kil / EVA nanokompozitinin mekanik ve oksijen bariyer özelliklerinin arttığı belirlenmiştir. Öte yandan, EVA'nın gerilme modülü ve oksijen bariyeri özelliklerinin % 5 kil ilavesiyle iki katına çıktığı sonucuna varılmıştır. Maleik anhidrid aşılınmış polietilen (MAPE), LDPE ve HDPE bazlı nanokompozitlerin bir araya getirilmesi amacıyla kullanılmıştır. Bununla birlikte, MAPE'in, özellikle HDPE için, PE'lerin oksijen bariyerini zayıflattığı belirlenmiştir. Ağırlıkça % 5 kil eklendiğinde, LDPE / MAPE sistemi için oksijen bariyeri % 30, gerilme modülü % 37 oranında artmıştır. Öte yandan elde edilen bulgulara göre, kil/ HDPE nanokompozitin geniş etki alanı ve zayıf bağ yapısı nedeniyle filmlerin özelliklerine katkıda bulunmadığı tespit edilmiştir [16].

Suprakas ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise Polilaktid (PLA) / organik olarak modifiye edilmiş katmanlı silikat (OMLS) nanokompozitlerin hazırlanması, karakterizasyonu, materyal özellikleri ve biyolojik olarak parçalanabilirliği araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, nanokompozitlerin, saf PLA'ya kıyasla mekanik özellikleri, ısı bozulma sıcaklığı ve O₂ geçirgenliğinde belirgin iyileşme gözlemlenmiştir [17].

Sharma vd. tarafından yapılan bir çalışmada, polipropilen / modifiye kil kullanılarak nanokompozit oluşturulmuştur. Modifiye kil ilavesinin nanokompozitlerin, fiziksel, mekanik, termal ve morfolojik özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, gerilme mukavemetinde % 95, gerilme modülünde ise % 152 artış gözlenmiştir. İnert atmosferde yapılan TGA analizi, termal bozunma sıcaklığında 87 ° C artış meydana getirdiği belirlenmiştir. Ayrıca DSC eğrisi, matristeki kil mevcudiyetinden dolayı erime noktasını 4 ° C arttırmıştır [18].

1.2 Tezin Amacı

Polisakkaritler gibi doğal kaynaklardan elde edilen filmlerin kullanım alanlarının artırılmasına yönelik çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Petrol türevi materyallerin sağlık ve çevre üzerindeki olumsuz etkilerinin bu yollarla bertaraf edilmesi amaçlanmaktadır. Bu tezin amacı, ülkemizde doğal ve endemik olarak yetişmekte olan çemenotu tohumlarından elde edilen gamların film oluşturma özelliklerinin belirlenmesi ve petrol türevi film materyallerine kıyasla sahip oldukları düşük mekanik ve bariyer özellikleri gibi karakteristiklerinin 4 farklı kil kullanılarak geliştirilmesidir.

1.3 Hipotez

Bitkisel kaynaklı gamlardan üretilen biyobozunur ambalajların düşük mekanik ve bariyer özelliklere sahip oldukları ve nanokil ilavesinin biyobozunur ambalajların özelliklerini geliştirdiği bilinmektedir. Çemenotu tohumlarından elde edilen gamla üretilen filmlerin zayıf bariyer ve mekanik özelliklere sahip olacağı ve bu özelliklerin farklı nanokillerin ilavesiyle iyileştirilebileceği düşünülmektedir. Çemenotu tohumunun ülkemizde yetişiyor olması ve nanokillerin düşük maliyetli olması ekonomik açıdan avantaj sağlamaktadır.

GENEL BİLGİLER

2.1 Çemenotu

Çemenotu tohumu (*Trigonella foenumgraecum L.*), Akdeniz Bölgesi ve Asya' da yaygın olarak yetiştirilen en eski bitkilerdendir. Çemenotu bitkisinin tohumları ve vejetatif kısımları dünyanın birçok ülkesinde çeşitli amaçlar için özellikle de tıp, gıda, eczacılık, kozmetik gibi alanlarda çokça kullanılmaktadır [19].

Çemen tohumu, dış görünüş olarak 3-5 mm uzunlukta olup, sert köşeli, üzeri ince pürtüklü, esmer kırmızı veya sarımsı esmer renklidir. Tohumların öğütülmüş hali 3-Hydroxy-4,5-Dimethyl-2(5H)-Furanon bileşiminden kaynaklanan kuvvetli ve özel bir kokuya sahiptir [20]. Çemenotu tohumu Şekil 2.1' de gösterilmektedir.



Şekil 2.1 Çemenotu Tohumu (Fenugreek seed)

Çemenotu tohum içeriğinde önemli miktarda protein, yağ ve karbonhidrat bulunmaktadır. Tohum bileşiminde yaklaşık %20-30 protein bulunurken, amino asit olarak valin, fenilalanin, lizin, glisin, aspartik asit, glutamik asit, serin, lösin ve insülin uyarıcı amino asit olan 4-hidroksisölösün bulunmaktadır. Tohumda % 5-10 oranında yağ asidi, yağ aside bileşiminde ise ağırlıklı olarak linoleik, linolenik, oleik ve palmitik asitler bulunmaktadır. Tohum içeriğinde %15 galaktomannan ve çözünür lifle birlikte toplamda %45-65 oranında karbonhidrat bulunmaktadır. Makro besinlerin dışında çemenotu tohumunda kalsiyum, fosfor, demir, çinko, manganez mineralleri, flavonoid, kumarin, saponin, alkoitler ile vitamin A, B ve C bulunur [21].

Çizelge 2.1. Çemenotu Tohumu Kimyasal Kompozisyonu (A) ve Mineral Kompozisyonu (B) [22]

Çemenotu Tohumu Kimyasal Kompozisyonu	%
Nem	4,3
Ham Protein	27,3
Ham Yağ	6,7
Ham Lif	6,7
Kül	3,8

(A)

Mineral Kompozisyonu	(mg/ 100 g)
Na	49
K	1306
Fe	22,5
Ca	158
P	415
Mn	1550
Zn	9,9
Cu	331

(B)

Çemenotu tohumları un haline getirilerek, çeşitli baharatlardan oluşan Türkiye'de çemen olarak bilinen yarı katı kıvıllı renkli macunun üretimi için kullanılır. Çemen, pastırma gibi geleneksel et ürünlerinin üretiminde yenilebilir kaplama malzemesi olarak kullanılmaktadır. Çemen, geleneksel ürünlere özel görünüm, renk, koku, tat ve lezzet sağlamanın yanı sıra ürünlerin mikrobiyolojik kontaminasyonunu önlemektedir [23].

Çemenotu tohumu deri enfeksiyonları, kas ağrısı, lenf iltihabı, gut hastalığı, kan zehirlenmesi, barsak tembelliği, solunum sistemi rahatsızlıkları, karaciğer ve böbrek rahatsızlıkları gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca iştah acı, annelerde süt miktarını artırıcı ve bağırsıklığı güçlendirici özelliğe sahiptir [24,25].

Yapılan alışmalar emenotunun şeker hastalarının kan şekerini düzenlediğini, kan kolesterolünü düşürmede de destek olarak kullanılabileceğini göstermiştir [26].

emen tohumunun tedavi edici özelliğinin içerdiği steroidal saponinlerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Tohumların embriyosunda diosgenin adı verilen saponozitin bulunmasıyla emenotu bitkisinin kullanımı tüm dünyada yaygınlaşmıştır. Diosgenin, kortikosteroidlerin sentezinde yararlanılan değerli bir bileşiktir. Son yıllarda bitki tohumundan ekstrakte edilebilen karbonhidrat ve saponinler gibi bileşenler üzerine yapılan araştırmalara ilgi artmıştır [27].

Tohum endospermide bulunan depo polisakkariti, guar ve tara gamına benzer şekilde fakat daha yüksek oranlarda bulunan galaktomannandır. Galaktomannanlar birçok gıda ürününü koyulaştırma ve stabilize etme kabiliyetlerine dayanan gıda endstisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [28].

emenotu tohumunun protein oranının düşük olması nedeniyle emen gamı suyun yüzey gerilimini azaltmakta, yüzey aktivitesini ise artırmaktadır [29].

2.2 Killer

Toprağın en küçük bileşeni olan killer, mineral içeren malzemeler olarak bilinmektedir. Kimyasal ve yapısal karakteristik özellikleri, killerin güçlü bir malzeme olmasını sağlamaktadır. Killerin en önemli özellikleri olarak; geniş yüzey alanına ve yüzey yüklerine sahip olmaları, iyon değiştirebilme kapasiteleri, tanecik büyüklükleri ve adsorpsiyon yetenekleri sayılabilir. Kil mineralleri boyutları 2 m'nin altında olan, toprakta gerçekleşen değişimler sonucu oluşan, belirli kristal bir yapıya sahip olan ve kile karakteristik özelliğini veren bileşenler olarak da tanımlanmaktadır. Kil mineralleri yapısal olarak tetrahedral (düzgün dörtyüzlü) ve oktahedral (düzgün sekizyüzlü) olmak üzere iki birimden oluşmaktadır [30].

Oktahedral yapıda  oksijen ya da hidroksilden oluşan iki tabaka arasına yerleşmiş katyonlar bulunurken, tetrahedral yapıda etrafında dört adet oksijen atomu ortasında ise silisyum atomu bulunmaktadır. Kil minerallerinin çoğunda düzlemler, bir kitabın sayfaları gibi birbirinin üstünde bulunur ve aralarında galeri adı verilen boşluklar bulunmaktadır. Düzlemler birbirlerine Van der Waals bağlarıyla bağlıdır.

Düzlemler birbirlerine yüzey-yüzey şeklinde tutunduklarında ise kristal örgüyü oluştururlar. Düzlemler, bir düzgün dörtyüzlü, bir düzgün sekizyüzlü birim sıra ile sıralanırsa 1:1 tabakalı (kaolonit grubu); iki düzgün dörtyüzlü, bir düzgün sekizyüzlü şeklinde sıralanırsa 2:1 tabakalı (smektit grubu) olarak adlandırılırlar [31].

Minerolojik özelliklerine göre killeri şu şekilde sınıflandırılabilir:

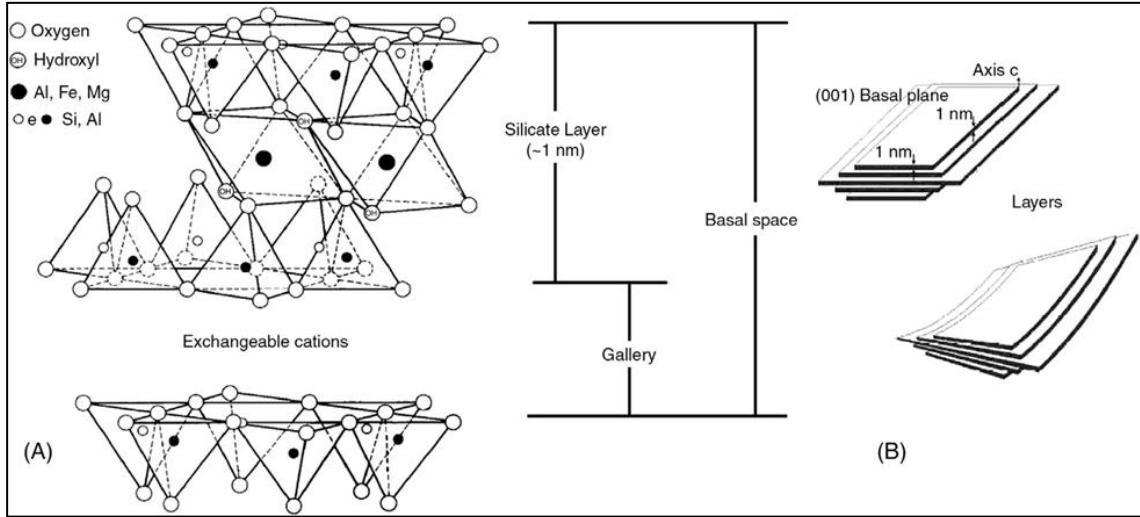
- Kaolin Grubu (Halloysit bu grupta)
- Smektit (Montmorillonit) Grubu
- Mika Grubu
- Klorit Grubu
- İllit Grubu
- Attapulgit Grubu

2.2.1 Montmorillonit (MMT)

Montmorillonit tipi killeri; doğada yaygın olarak bulunmaları, düşük maliyetleri, yüksek performansları, kolay işlenebilir olmaları, kolloidal özellik göstermeleri, partiküllerinin yüklü olması, boyutlarının küçük ve yüzey alanlarının büyük olmasından dolayı en çok kullanılan malzemelerdir. MMT kilinin tabaka kalınlığı 1 nm, tabaka uzunluğu ise yaklaşık 100-500 nm'dir. Killerin şekil ve boyutları ticari kullanımları açısından önemlidir. Kilin boyutu küçüldükçe, oluşturdukları karışım daha viskoz olur ve bu kullanımları açısından avantajdır. Ticari kullanımda MMT minerali bentonit olarak adlandırılmaktadır. Kimyasal formülleri $Al_2Si_4O_{10}(OH)_2$ olan MMT'ler, 2:1 tabakalı olup, iki düzgün dörtyüzlü tabaka arasına düzgün sekizyüzlü tabakanın üst üste gelmesiyle oluşmaktadırlar. MMT'lerin alumina (düzgün sekizyüzlü) yapısının merkezinde Al iyonu bulunurken, köşelerde oksijen atomları ve OH grupları bulunmakta; silika (düzgün dörtyüzlü) yapısının merkezinde Si iyonu bulunurken, köşelerde dört adet oksijen atomu bulunmaktadır. Her iki tabaka arasında kuvvetli iyonik bir bağ bulunmasına rağmen birbirlerini tekrarlayan tabakalar arasında zayıf Van Der Waals bağları bulunmaktadır. MMT kilinin tabaka yüzeyleri negatif yüklüdür ve bu yüzeyler yer değiştirebilir Na^+ ve Ca^{2+} iyonları ile kaplıdır (Şekil 2.2). MMT kili ara tabakalardaki

değiştirilebilir katyonların ikamesinden dolayı, organik modifikasyon ile geliştirilebilir veya modifiye edilebilir [32].

Kilin suyla karıştırılmasıyla tabaka yüzeyindeki iyonlar hidrate olarak tabakalı MMT yapısı genişler ve böylece kil yüzeyinde hidrofilik ortam oluşur.



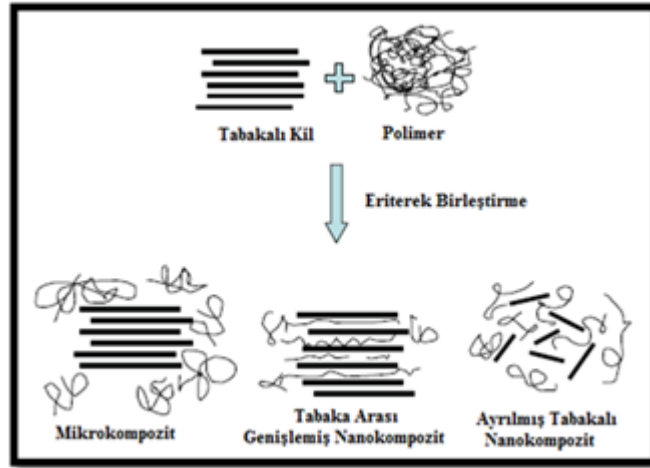
Şekil 2.2 Killerin tabakalı yapısı

Katmanlı silikatlar bir polimer matrisine dağıldıklarında üç farklı düzenleme elde edilir:

1.Klasik mikrokompzit (not-intercalated): Polimer, silikat tabakaları arasına girmiyorsa, interkalasyona uğramamış mikro kompozit elde edilir. Geleneksel polimer-dolgu kompozitlerinin ötesinde, iki farklı kompozit türü elde edilebilir.

2.Ara yapı (intercalated): Ara katman aralığının arttırarak kil tabakalarının ayrılması.

3.Ayrılmış tabakalı nanokompzit (Exfoliated): Kil tabakalarının tam olarak ayrılmasıyla rastgele dağılımın elde edilmesidir. Bu ideal nanokompzit düzenidir ancak sentez ve / veya işlem sırasında elde etmek daha zordur [31,33]. Şekil 2.3'te katmanlı silikatların polimer matrisine dağılımının üç farklı düzenlemesi gösterilmektedir.

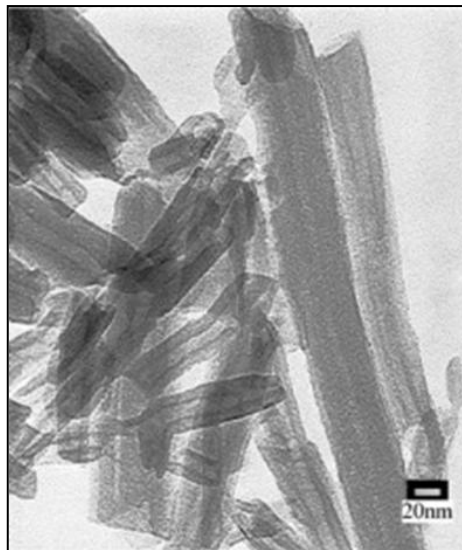


Şekil 2.3 Katmanlı silikatların polimer matrisinde dağılımları

2.2.2 Halloysit Nanotüpleri (HNT)

Halloysit nanotüpleri, $[Al_2(OH)_4Si_2O_5(2H_2O)]$ kimyasal formülüne sahip olan çapları 100 nanometre'den küçük, uzunluğu 500 nanometre ile 1.2 mikron arasında değişen kaolin grubunda yer alan Al, Si ve H'den oluşan iki tabakalı (1:1) alüminasilikat kildir (Şekil 3.4). HNT'lerin iç yüzeylerinde hidroksil grupları, dış yüzeylerde ise Si grupları vardır. Dış yüzeyler pH 6-7'de negatif bir yük (zeta potansiyeli) olan SiO_2 içerirken, iç silindir pozitif bir yük olan Al_2O_3 içerir [34].

HNT'ler geniş kullanım alanına sahip karbon nanotüpleri (KNT) için alternatif olabilirler. Toksik olan KNT'lerin aksine HNT'ler ucuz, bol miktarda bulunan, çevre dostu, mekanik olarak güçlü ve biyolojik olarak uyumludurlar [35].



Şekil 2.4 Halloysit nanotüplerinin SEM görüntüsü

2.3 Gamlar

İlk olarak bitkilerden doğal olarak sızan yapışkanimsi maddeler için kullanılan gam isimlendirmesi, günümüzde suda çözülebilir, kıvam artırıcı ve jelleştirici ajanlar için kullanılmaktadır [37].

Gamlar yüksek molekül ağırlığına sahip ve suda çözünen polisakkaritlerdir. Polisakkaritler, dallı veya dalsız bir zincir oluşturmak üzere glikozit bağlarıyla birbirine bağlanmış çoklu monosakkarit birimleri içeren kompleks polimerlerdir [38].

Biyolojik kökenli olan polisakkaritlere doğal polisakkaritler denir. Doğal polisakkaritler; toksik olmaması, biyolojik olarak bozunabilir olması, temin edilmesinin kolay olması ve düşük maliyetli olması gibi birçok avantaja sahiptir. Polisakkaritler canlı organizmalarda yapı ya da depo maddesi olarak kullanılırlar. Gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde kullanılan doğal polisakkaritlerin çoğu insanlar için güvenli kabul edilir. Doğal polisakkaritlerin endüstriyel uygulamaları son yıllarda koyulaştırıcı, süspansiyona alma maddesi, nemlendirici, emülsifiye edici ve yumuşatıcı maddelerin yanı sıra yara iyileştirici maddeler olarak çok yönlü rolleri nedeniyle muazzam ölçüde genişlemiştir. Az miktarlarda kullanıldıklarında bile viskozitede önemli artışlar meydana getiren zamklar da doğal polisakkaritlerdir. Biyolojik kökenli oldukları için zamk molekülleri fiziksel ve yapısal özellikler (doğrusal zincir uzunluğu, dallanma özellikleri, molekül ağırlığı, monosakkarit kompozisyonu, monosakkaritlerin dizilimi, konformasyonu, konfigürasyonu ve glikozit bağlarının pozisyonu, çözünürlük ve reolojik özellikleri) açısından çeşitlilik gösterirler. Yapılarında, davranışlarını etkileyen proteinler gibi maddeler de içerirler. Genellikle yağlar veya hidrokarbonlar, eter ya da alkoller gibi organik çözücüler içinde çözünmezler. Hidrolizleri sonucu arabinoz, galaktoz, ksiloz, ramnoz, dekstroz, mannoz, üronik asitler vb. kombinasyonu verebilirler. Doğal gamlar, bitkilerden veya mikrobik kaynaklardan üretilen hidrofilik polisakkaritlerdir [39].

Gamlar kaynağa bağlı olarak, bitki selülozunun parçalanmasıyla elde edilenler (selüloz, pektin, nişasta), tohumların embriyolarından elde edilenler (guar, keçiyoynuzu ve tara gamı), mikrobiyal kaynaklardan elde edilenler (ksantan, gellan gamı), bitki eksüdalarından elde edilen salgılar (gam arabik, gam karaya ve geven) ve kimyasal ve enzimatik şekilde modifiye edilen gamlar şeklinde sınıflandırılırlar [38].

Genel olarak bazı hidrokolloidlerin galaktomannan esaslı bir yapıya sahip olması, bu durumun başlıca şekerlerin galaktoz ve mannoz olduğu anlamına gelir. Guar, keçiboynuzu, tara ve çemen gamı iyi bilinen galaktomannan esaslı hidrokolloidlerdir ve bunlar endüstriyel ölçekte kullanılırlar. Bunlar, tohum endosperminden elde edilen, α - (1-6) ile bağlantılı tek d-galaktoz dalları olan β - (1-4) -d-mannan omurgasına dayanan doğal polisakkaritlerdir. Galaktomannanların en önemli özelliği, yüksek su bağlama kapasitesi ve nispeten yüksek seyreltimlerde çok viskoz çözeltilerin oluşmasıdır. Diğer hidrokolloidler gibi galaktomannanlar organik çözücüler içinde çözünmezler. Etil alkol gibi su ile karışabilen solventlerin eklenmesiyle sulu solüsyondan çöktürülürler [40].

Yüksek oranda galaktoz içeriğine sahip guar gamı soğuk suda şişer ve çözünür, keçi boynuzu sakızının çözünmesi için ısıtmaya ihtiyacı vardır, tara gamının çözünürlüğü ise her iki gamın çözünürlüğünün arasındadır. Çemen gamı, galaktoz bakımından zengindir ve bu nedenle en yüksek suda çözünürlüğe sahiptir [41].

2.4 Polimer/Kil Nanokompozitleri

Nanokompozit malzemeler, bir polimerik matriksten ve nanometre ölçeğinde dağıntı inorganik parçacıklardan oluşan iki fazlı sistemlerdir. En yaygın inorganik parçacıklar, katmanlı silikatlardır. Katmanlı silikatların iki özelliği, nanokompozitlerin oluşturulmasında önemli rol oynamaktadır. Birincisi, silikat tabakalarının tek tek tabakalara dağılabilme yeteneği ve ikincisi, organik ve inorganik katyonlarla iyon değişim reaksiyonlarıyla yüzey kimyasının değiştirmesidir [42].

Polimer ve katmanlı silikatların basitçe karıştırılması her zaman bir nanokompozit oluşumuyla sonuçlanmaz. Bu durum polimer ile inorganik bileşen arasındaki zayıf etkileşimlere bağlıdır. Bu etkileşimler daha güçlü hale gelirse, inorganik faz organik matrikste nanometre ölçeğinde dağılabilir. Kil tabakalarının yüzeyi, genellikle hidratlanmış Na^+ veya K^+ iyonları içerir ve sadece hidrofilik polimerler ile uyumludur. Bundan dolayı hidrofobik polimerlerle kolaylıkla homojen dispersiyon meydana getirmezler. Kil tabakalarını, biyolojik olarak parçalanabilir polimer matriksleri ile karışabilir hale getirmek için, normalde hidrofilik silikat yüzeyini organofilik bir yüzey haline getirmek gerekir. Bu, çeşitli ikame edicileri içeren birincil, ikincil, üçüncül ve

kuaterner alkilamonyum katyonları veya fosfonyum katyonları içeren katyonik sürfaktanlar ile iyon değişim reaksiyonlarıyla başarılabılır [43].

Organokiller; killerle organik bileşiklerin interaksyonu ile elde edilirler ve polimer/kil nanokompozit uygulamalarında önemlidirler. Organofilizasyon, kil tabakalarının ayrılması için anahtar aşamadır. Killerin organofilizasyonu ile organik polimerler ile uyumluluğu iyileştirilir. Kil yüzeyi modifikasyonları hidratlı katyonların organik katyonlarla değiştirilmesi, kilin yüzey enerjisinin azaltılması ve katmanlar arasındaki mesafenin arttırılması ile gerçekleştirilir. Bu amaçla kil alkali katyonlarla suda şişirilir ve yüzey katyonları diğer iyonlarla veya yüklü moleküllerle kolayca yer değiştirir. Böylece inorganik ana maddenin yüzey enerjisi düşer ve nanokompozitin su absorpsiyonu azalır [44].

Optimize edilmiş özelliklere sahip nanokompozitleri elde etmek için, kil tabakaları dispersiyon haline getirilmeli ve polimer matriksine uygun şekilde dağıtılmalıdır.

Polimer nanokompozitleri 3 yöntemle hazırlanabilir [45]:

1. Solvent polimerizasyon
2. In situ polimerizasyon
3. Eriterek birleştirme

2.4.1 Solvent Polimerizasyon

Polimerin veya ön polimerin çözünebildiği ve silikat tabakalarının şişebildiği bir çözücü sistemini temel alır. Katmanlı silikat önce su, kloroform veya toluen gibi bir çözücü içerisinde şişirilir (disperse olur).

Polimer ve katmanlı silikat çözeltileri karıştırıldığında, polimer zincirleri ve silikat ara tabakası içerisinde yer değiştirecektir. Çözücünün uzaklaştırılmasıyla, polimer katmanlı silikat-nanokompozit oluşur. Bu yöntem, polimer esaslı kil katmanlı tabakalar ile ince filmlerin üretimini kolaylaştırır.

2.4.2 In Situ Polimerizasyon

Bu yöntemde katmanlı silikat, sıvı monomer veya monomer çözeltisi içinde şişirilir, böylece polimer oluşumu ara levhalar arasında oluşabilir. Polimerizasyon; ısı ya da radyasyon ile, uygun bir başlatıcının difüzyonuyla, katalizörle ya da şişme aşamasından önce ara katmanın katyon değişimiyle sabitlenmiş bir organik başlatıcıyla başlatılabilir. Bu yöntem ile tabakaları genişlemiş polimer-kil nanokompozitleri (PKN) elde edilir.

2.4.3 Eriterek Birleştirme

Son yıllarda, eriterek birleştirme tekniği PKN-nanokompozitlerin hazırlanması için standart haline gelmiştir. Bu yöntem, termoplastik PKN'lerin üretiminde yaygın kullanılan bir yöntemdir.

Bu teknikte solvante ihtiyaç yoktur ve tabakalı silikat polimer matriksiyle eriyik halinde iken karıştırılır. Polimer organokil ile ekstrüzyon veya enjeksiyon kalıplama gibi bir yöntemle yüksek sıcaklıklarda karıştırılır. Polimer zincirleri ya tabakaları açılmış ya da dağılmış PKN'leri meydana getirir. Polimer zincirlerinin silikat galerilerine penetrasyon derecesine bağlı olarak nanokompozit elde edilebilir. İn situ polimerizasyon ya da solvent polimerizasyona uygun olmayan polimerler bu şekilde işlenebilirler [46].

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmada gam eldesi amacıyla kullanılan çemenotu tohumları Doğan Baharat Ltd.'den (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir. Gliserol Merck'den (Almanya), Na⁺ montmorillonit (MMT, yüzey alanı 250 m²/g), halloysite (HNT, yüzey alanı 64 m²/g, 30-70 nm± 1-3 µm nanotüp) ve Nanomer® I.44 P (NM) olarak adlandırılan nanokiller ise Sigma 'dan (Almanya) satın alınmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Çemenotu Tohumundan Gam Elde Edilmesi

Tohumlardan gam ekstraksiyonunda CUI ve ark. (1994) tarafından keten tohumu üzerinde optimize edilen koşullar baz alınmıştır [47]. Ekstraksiyonda 13:1 (saf su: tohum) oranı kullanılmıştır. Cam şişelere koyulan saf su 85 °C± 1'ye ayarlanmış çalkalamalı su banyosuna yerleştirilmiş, sıcaklık 85°C'ye ulaştığında içerisine öğütülmüş çemenotu tohumları eklenmiştir. pH sürekli kontrol edilmiş, NaOH ve HCl kullanılarak 7.0'da sabit tutulmuştur. Ekstraksiyon tamamlanınca (yaklaşık 3.5 saat) tohum ve su karışımı 5.000 rpm' de 10 dk santrifüj edilmiş, santrifüj sonunda üst faz alınarak %95' lik etanol ile çöktürülmüştür. Elde edilen çökelti etüvde 40°C' de kurutulmuş ve öğütücü yardımıyla toz hale getirilmiştir. Şekil 3.1' de toz hale getirilmiş çemenotu tohumu gösterilmektedir.



Şekil 3.1 Toz haline getirilmiş çemenotu tohum gamı

3.2.2 Çemenotu Tohumu Gaminin Karakterizasyonu

3.2.2.1 pH Değerinin Tespiti

pH değerleri standart tampon çözeltileri ile pH metre (Thermo Scientific Orion Star A111, Indonesia) kalibre edildikten sonra örneğe direkt daldırılarak ölçülmüştür.

3.2.2.2 Nem Miktarının Tespiti

Kuru madde tespiti gravimetrik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir [48].

3.2.2.3 Şeker Kompozisyonunun Tespiti

Gamin şeker kompozisyonu, reaktif index detektörüne (RID) sahip Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile belirlenmiştir [35]. 10 mg gam örneği, 1 ml 2M trifloroasetik asit ile karıştırılarak 120 °C' de 3 saat süreyle hidrolize edilmiştir. Fazla asit uçurulduktan sonra 1' e 3 oranında saf su eklenmiştir. Hidrolize edilmiş ürün, 50 mg NaBH₄ ile indirgenmiş ve 0.45 µm filtre ile süzildükten sonra 0.02 ml örnek, şeker kolonuna sahip HPLC' ye enjekte edilmiştir. Hareketli faz olarak asetonitril: su (80: 20) karışımı kullanılmış ve hareketli fazın akış hızı 2 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı 30 °C' ye ayarlanmıştır. Monosakkaritler, mannoz, ramnoz, galaktoz, ksiloz, arabinoz ve glikoz şekerlerinin alıkonma zamanlarıyla karşılaştırılarak belirlenmiştir. Bu şekerler için oluşturulacak kalibrasyon grafikleriyle de gamda bulunan şeker miktarları hesaplanmıştır [49].

3.2.2.4 Su Tutma Kapasitesinin Tespiti

1 gram gam örneği, 10 mL saf su içerisinde konularak 2 dakika vorteks ile karıştırılmış, daha sonra 3.000 rpm’ de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Serbest su miktarı belirlenerek, 100 g gam tarafından absorbe edilen su miktarı hesaplanmıştır [50].

3.2.2.5 Suda Çözünürlük

% 0,1’lik gam çözeltisi 25 °C’de, 30 dk boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılmış ve işlem sonunda çözelti 6.000 rpm’de 30 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üst faz alınarak, 105 °C’de 12 saat boyunca kurutulmuş ve üst faz konsantrasyonu belirlenmiştir. Çözünürlük değeri, belirlenen üst faz konsantrasyon değerinin başlangıçtaki konsantrasyon değerine oranlanmasıyla hesaplanmıştır [51].

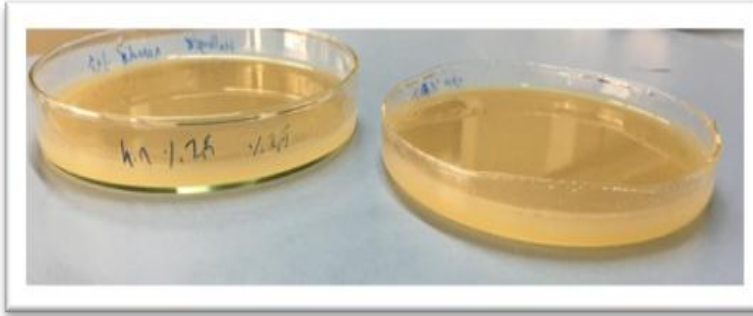
3.2.3 Çemenotu Gamından Film Üretimi

Gliserol üzerine eklenen saf suyla hazırlanan gliserol çözeltisi (1,5% v:v, 30 mL), manyetik karıştırıcı kullanılarak 65 °C ‘ye ulaşana kadar karıştırılmıştır, çözeltiye çemenotu gamı eklenerek (1,5% w:v) aynı sıcaklıkta homojen gam çözeltisi elde edilene kadar (yaklaşık 2.5 saat) karıştırılmaya devam edilmiştir. Gam miktarının 3 farklı konsantrasyonunda (0% (kontrol), 2.5%, 5% ve 7.5% w:v, 10 mL) killer tartılarak üzerleri saf suyla tamamlanmış ve oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda (yaklaşık 2.5 saat) karıştırılmıştır. Film çözeltisinin manyetik karıştırıcı yardımıyla hazırlanışı Şekil 3.2’ de gösterilmiştir.



Şekil 3.2 Film çözeltisinin hazırlanması

Gam çözeltisi homojen hale geldikten sonra, saf su-kil karışımı üzerine eklenerek karıştırmaya (yaklaşık 1.5-2 saat) devam edilmiştir. Elde edilen homojen çözelti, cam petri kaplarına dökülerek 45 °C'de 12 saat boyunca etüvde kurutulmuştur. Kurutulan filmler analizlerde kullanılmak üzere oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Elde edilen filmler Şekil 3.3'de gösterilmektedir.



Şekil 3.3 Kurutma amacıyla cam kaplara dökülmüş film çözeltisi (solda) ve kurutulmuş film örneği (sağda)

3.2.4 Filmlerin Karakterizasyonu

3.2.4.1 Nem İçeriği

Filmlerin nem içeriği gravimetrik olarak analiz edilmiştir. Bu amaçla, belirli ağırlıktaki film örnekleri (2-3g) 105 °C' lik etüvde 12 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutma sonrasında, filmlerin nemleri yüzde nem içeriği cinsinden hesaplanmıştır [52].

3.2.4.2 Film Kalınlığı

Üretilen filmlerin kalınlıkları, dijital bir mikrometre (Mitutoyo, IP65 COOLANT PROOF, Japonya) kullanılarak, 0,001 mm hassasiyet ile ölçülmüştür.

3.2.4.3 Optik zellikler

Üretilen filmlerin renk özellikleri, renk ölçüm cihazı (CR-400 Konica, Minolta, Tokyo, Japonya) kullanarak belirlenmiştir. Ölçümlerden önce, beyaz kalibrasyon tablasıyla cihazın kalibrasyonu yapılmıştır. Filmlerin lmleri beyaz kalibrasyon tablası üzerinde gerçekleştirilmiştir ve Hunter L^* , a^* ve b^* değerleri kaydedilmiştir. Her film örneğinin 5 farklı noktasından ölçüm yapılmıştır.

Söz konusu parametrelerden L^* değer (0-100) siyah ve beyaz arasındaki renkleri, a^* değer (+: kırmızı, -: yeşil) yeşil ve kırmızı arasındaki ve b^* değer (+: sarı, -: mavi) ise sarı ile mavi arasındaki renkleri tanımlamak için kullanılmaktadır. Toplam renk farklılığının hesaplanmasında ise aşağıdaki denklem kullanılmıştır.

$$\Delta E^* = [(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2]^{0.5} \quad (3.1)$$

$$\Delta L: L_{\text{standart}} - L_{\text{rnek}}$$

$$\Delta a: a_{\text{standart}} - a_{\text{rnek}}$$

$$\Delta b: b_{\text{standart}} - b_{\text{örnek}} \text{ olarak tanımlanmaktadır.}$$

3.2.4.4 Antioksidan Aktivitesi (AOA)

Filmlerin AOA değerleri, Byun ve ark. [53] tarafından belirlenen yönteme göre 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radikalini yakalama testi ve Sanchez-Moreno 'nin kullandıkları yöntem [54] modifiye edilerek tespit edilmiştir. İlk olarak 0,1 g film rneği kk parçalar halinde kesilmiş ve üzerine 2 mL metanol eklenmiştir. Elde edilen karışım, 3 dk vortekste (Stuart, BioCote, İngiltere) karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 3 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra tekrar 3 dk vortekslenmiş ve santrifüj cihazında (Thermo Scientific, Multifuge X3 FR, Almanya) 2.300 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant DPPH radikali yakalama testinde kullanılmıştır. Bu amaçla, elde edilen metanol ekstraktından 0,1 mL alınmıştır ve 4,9 mL alınan 0,1 mM'lık DPPH solüsyonuna eklenmiştir. Elde edilen karışım 30 dk boyunca karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Her bir örnek 3 paralelli çalışılmıştır. Kontrol olarak örnek yerine metanol konulmuştur ve spektrofotometrede (Shimadzu, UV 1800, Japonya) 517 nm dalgaboyunda ölçüm yapılmıştır. AOA eşitlik 3.2' ye göre hesaplanmıştır :

$$AOA (\%) = \left(\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{rnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100 \quad (3.2)$$

A_{kontrol} : Kontrol absorbans değeri (metanol)

$A_{\text{rnek}}$: Kil içeren filmlerin absorbans değeri

3.2.4.5 Antimikrobiyal Aktivite

Escherichia coli O157: H7 ATCC 33150, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 ve *Bacillus cereus* FMC19 gibi gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı filmlerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi için agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Analizlerden önce, kriyolarla muhafaza edilen suşlar 37 ° C'de 24 saat süreyle iki defa Nutrient Broth'da (Merck, Almanya) aktive edilmiştir. Aktifleştirilmiş her bir bakteri kültüründen 0,1 mL alınarak Nutrient Agar (Merck, Almanya) besiyerine ekimleri yapılmıştır. Kare şeklinde (1x1 cm²) kesilen filmler, strelizasyonun sağlaması amacıyla UV (EximLab, in) cihazında 10 dk boyunca bekletilmiş, ardından ekimleri yapılmış olan petrilerin orta kısımlarına steril bir pens

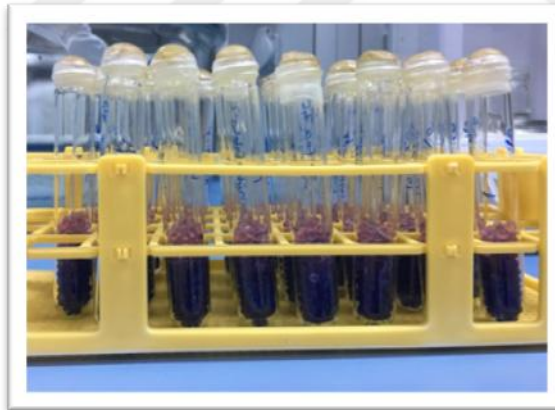
yardımıyla yerleştirilmiştir. Petri plakaları 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiş ve film numunelerinin etrafında oluşan şeffaf zonlar hassas bir şekilde ölçülmüştür.

3.2.4.6 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

Film örneklerindeki moleküler bağların karakterizasyonu amacıyla FTIR analizi yapılmıştır. Filmlerin FTIR spektrumları, FTIR spektroskopisi (Bruker Tensor 27, Bremen, Almanya) kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler 400–4000 cm⁻¹ dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.7 Su Buharı Geçirgenliği (SBG)

Filmlerin su buharı geçirgenliği (SBG) standart test metodu izlenerek gravimetrik olarak tespit edilmiştir [55]. Cam tüplerin iç kısımlarında % 0 RH (nispi nem) elde etmek için silika jel kullanılmıştır. Olası suyun giderilmesi için, silika jelleri içeren cam tüpler 24 saat boyunca 105°C'de ısıtılmıştır. Film numuneleri, 14 mm çaplı cam tüplere parafin yardımıyla kapatılmıştır. Su buharı geçirgenlik analizi Şekil 3.4' de gösterilmektedir.



Şekil 3.4 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin su buharı geçirgenlik analizi

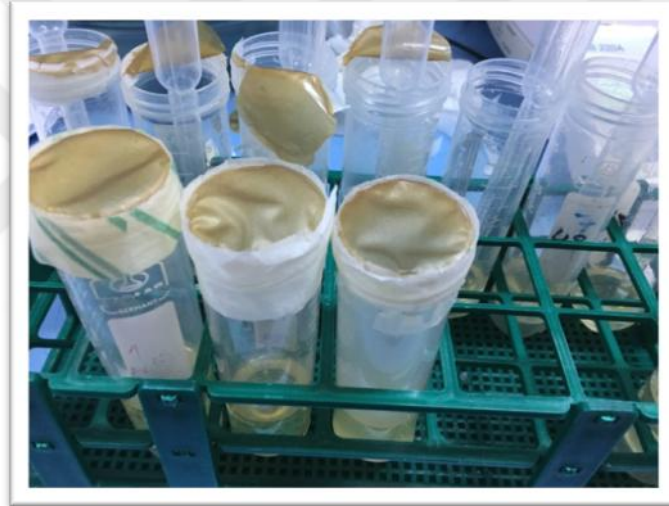
Ağız kısımları filmlerle kapatılmış cam tüpler, damıtılmış su (% 100 RH) içeren bir desikatöre yerleştirilmiştir ve 25 °C' de 24 saat tutulmuştur. Cam tüplerin ağırlıkları 0, 3, 6, 9, 12, 18 ve 24. saatte kaydedilmiştir. Örneklerin SBG değerleri eşitlik 3.3 ile hesaplanmıştır:

$$SBG = \frac{w}{t} \times \frac{x}{\Delta P \times A} \quad (3.3)$$

w / t , kararlı durumda sistem tarafından emilen su doğrusal regresyon ($R^2 > 0.99$) ile hesaplanmıştır. Nem transferine maruz kalan bir film alanı ($1.539 \times 10^{-4} \text{ m}^2$), x ortalama numune kalınlığı ve ΔP filmin 25 ° C'de (kPa) kısmi basınç farklılığıdır.

3.2.4.8 Oksijen Geçirgenliği

Filmlerin oksijen geçirgenlikleri Kurt ve Kahyaoğlu [56] tarafından kullanılan standart test metodu esas alınarak gerçekleştirilmiştir. 50 mL'lik eppendorf tüpleri, 15 mL ayçiçeği yağı ile doldurulmuş ve tüplerin ağız kısımları filmlerle kapatılarak parafilm ve bantla yapıştırılmış, sıcaklığı ayarlanmış etüvde (60 °C) 9 gün boyunca depolanmıştır. Ayçiçek yağı örneklerinin peroksit değeri, sodyum tiyosülfat titrasyonu ile belirlenmiştir. Analiz üç paralelli gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.5 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin oksijen geçirgenliği analizi

3.2.4.9 Mekanik Özellikler

Biyobozunur filmlerin çekme dayanımı (TS, tensile strength) ve kopma anındaki uzama (EB, elongation at break) özellikleri, ASTM-D882 kodlu standart metoda göre tekstür analiz cihazı (TA.HD Plus Stable Micro Systems Texture Analyser, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir [56]. Bu işlemde 5 kg'lık yük hücresi kullanılmıştır. Filmler (6 cm x 1 cm) kesilerek çekme probunun uçlarına tutturulmuştur. Prob uçları arası başlangıç uzaklığı 20 mm olarak ayarlanmış ve film örneği 10 mm/s hızda gerilmiştir.

Ölçümler oda sıcaklığında ($25\pm1^{\circ}\text{C}$) gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerde ortalama 4 film parçası test edilmiş ve ölçümlerin aritmetik ortalamaları alınmıştır.

3.2.4.10 SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi)

Nanokompozit filmlerin yüzey morfolojileri ve killerin polimer matriksi içinde dağılımı taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM Quanta FEG 250, FEI, USA) kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.4.11 DSC (Diferansiyel Tarama Kalorimetresi)

Üretilen filmlerin camsı geçiş sıcaklığı, erime noktası gibi termal özellikleri DSC cihazı (DSC Q20, TA Instruments, Inc., USA) kullanılarak belirlenmiştir. Film örnekleri (5-10 mg) alüminyum kaplı DSC kapları içerisine konulmuş, azot atmosferinde 40°C 'den 400°C 'ye kadar $10^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ ısıtma oranı ile ısıtılmıştır. Örneğe verilen enerji (mW), sıcaklık ve zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilmiştir.

3.2.4.12 İstatistiksel Analiz

Analizlerle elde edilen veriler arasındaki anlamlı farklar, Windows tabanlı SAS 8.2 istatistiksel analiz yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir (SAS Institute, Cary, North Carolina, Amerika). Ortalamalar arasındaki önemli fark %95 anlamlılık düzeyindeki Tukey çoklu karşılaştırma testi ile doğrulanmıştır. Tüm analizler üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

BÖLÜM 4

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Çemenotu Tohumu Gaminin Karakterizasyonu

Çemenotu tohumlarından elde edilen çemenotu gamının pH'sı, nem miktarı, şeker kompozisyonu, su tutma kapasitesi ve suda çözünürlüğü analiz edilerek karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Yapılan karakterizasyon işlemleri sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Çemenotu tohumundan elde edilen gamın karakterizasyonu [57]

Parametre	Sonuç
pH	7,26±0,16
Nem (%)	9,47±0,47
Şeker kompozisyonu (%)	
Glikoz	3,30±0,06
Galaktoz	9,55±0,86
Mannoz	11,63±0,05
Su tutma kapasitesi (ml/100g)	562,92±191,09
Suda çözünürlük (%)	41,85±2,44

Çizelge 4.1' de görüldüğü gibi çemenotu gamının pH değeri 7,26 olarak bulunmuştur. Franco ve ark. [57] yaptıkları çalışmada mesquite gamı ve arabik gamın pH değerleri sırasıyla 4.54 ve 4.32 bulduklarını bildirmişlerdir.

Yapılan analiz sonucunda çemenotu gamının ortalama nem değeri ise % 9,47 bulunmuştur. Nour ve Magboul [21] çemenotu tohumunun neminin % 4,3 olduğunu bildirmişlerdir. Çemenotu tohumuna göre çemenotu gamının nem değerinin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Şeker analizinde glikoz, galaktoz, mannoz miktarları belirlenmiş ve çemenotu gamı içerisinde en fazla mannoz şekerinin bulunduğu, mannozu galaktoz ve glukozun takip ettiği belirlenmiştir.

Çemenotu gamının su tutma kapasitesi oldukça yüksek bulunmuş, suda çözünürlük değeri ise % 41,85 olarak bulunmuştur.

Galaktozun daha yüksek oranlarda bulunmasıyla, galaktomannan polimerlerin yüksek derecede çözünürlükleri sayesinde iyi bir koyulaştırıcı ve dengeleyici olarak kullanılabileceği bildirilmiştir [58].

4.2 Filmlerin Karakterizasyonu

4.2.1 Nem İçeriği

Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin nem içeriği değerleri Çizelge 4.2’ de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin nem içeriği değerleri

Film Örneği	Nem İçeriği (%)
ÇG-Kontrol	58,63±2,03 ^a
ÇG-MMT 2.5	54,24±1,30 ^{bac}
ÇG-MMT 5.0	52,49±0,83 ^{bc}
ÇG-MMT 7.5	51,82±1,03 ^{bc}
ÇG-HNT 2.5	53,60±1,79 ^{bac}
ÇG-HNT 5.0	51,51±0,17 ^{bc}
ÇG-HNT 7.5	50,16±0,36 ^c
ÇG-NM 2.5	56,17±0,67 ^{ba}
ÇG-NM 5.0	54,78±0,23 ^{bac}
ÇG-NM 7.5	53,58±0,15 ^{bac}

*:Ortalama±standart sapma a-ı: Farklı harfler, aynı sütundaki veriler arası istatistiksel farkın önemli olduğunu gösterirken (P<0,05), aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını göstermektedir (P>0,05).

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 2.5 : % 2,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

Film numunelerinin nem içeriği Çizelge 4.2' de görüldüğü gibi, % 50,16-58,63 aralığında değişmektedir. En yüksek nem içeriği ($P<0.05$) kil ilave edilmemiş ÇG- Kontrol filmine aitken, kil ilavesi nanokompozit filmlerin nem içeriğinde önemli ($P<0.05$) azalmaya neden olmuştur. Nanokilin gliserol içerisinde dağılma sürecinde hidroksil gruplarının su ile etkileşime girmesi ve böylece filmlerin nem içeriğinin azaldığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda nano dolguların ilavesinin nem içeriğini önemli ölçüde azalttığı ve elde edilen sonuçların çalışmalarla uygun olduğu gözlemlenmiştir [59]. Bununla birlikte, çemenotu gamı bazlı filmlerin nem değerleri önceki çalışmalara göre daha yüksek bulunmuştur [56]. Bu sonuç çemenotu gamının hidrofilikliğiyle ilgili bilgi vermektedir.

4.2.2 Film Kalınlığı

Farklı konsantrasyonlardaki nanokil katkısıyla üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin kalınlık değerleri Çizelge 4.3' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin kalınlık değerleri

Film Örneği	Kalınlık (μm)
ÇG- Kontrol	82,40 $\pm$ 3,14 ^a
ÇG-MMT2.5	86,40 $\pm$ 9,48 ^a
ÇG-MMT5.0	84,60 $\pm$ 4,80 ^a
ÇG-MMT7.5	83,67 $\pm$ 5,71 ^a
ÇG-HNT2.5	75,80 $\pm$ 3,19 ^a
ÇG-HNT5.0	78,83 $\pm$ 4,52 ^a
ÇG-HNT7.5	82,50 $\pm$ 8,87 ^a
ÇG-NM2.5	76,80 $\pm$ 9,24 ^a
ÇG-NM5.0	83,29 $\pm$ 4,27 ^a
ÇG-NM7.5	82,20 $\pm$ 6,11 ^a

*:Ortalama $\pm$ standart sapma a-ı: Farklı harfler, aynı sütundaki veriler arası istatistiksel farkın önemli olduğunu gösterirken ($P<0,05$), aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM2.5: % 2,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

Çizelge 4.3' te görüldüğü gibi, filmlerin kalınlık değerleri 75,80 μm ve 86,40 μm arasında değişmektedir. Takviye ajanının türüne ve miktarına bağlı olarak filmler arasında kalınlık bakımından önemli bir fark ($P > 0.05$) tespit edilmemiştir. Saurabh ve ark. [10] guar gamdan elde edilen filmlerin kalınlığını $15,2 \pm 2,3 \mu\text{m}$ olarak bulmuş, nanokil ilavesinin film kalınlığı üzerinde anlamlı ($P < 0.05$) etkisini gözlemlememiştir. Ayrıca Sadegh-Hassani ve Mohammadi Nafchi [60] nişasta bazlı nanokompozit filmlerin ortalama kalınlığının halloysit nanopartiküllerin eklenmesiyle değişmediğini bildirmiştir. Kitosan bazlı filmlere MMT'nin farklı oranlarını (%0.5-1.5) ilave eden Abdollahi, Rezaei ve Farzi [61] tarafından benzer sonuçlar elde edilmiştir. Seyedi ve ark. [62] farklı seviyelerde gliserol içeren *Lepidium perfoliatum* tohum gamından hazırlanan filmlerin kalınlıklarının 69-71 μm arasında olduğunu bulmuşlardır. Khazaei ve ark. [63] tarafından yapılan çalışmada artan gliserol konsantrasyonunun, fesleğen tohum gamı bazlı filmlerin kalınlaşmasına neden olduğu bildirilmiştir. Rhim ve ark. [64] kitosan bazlı nanokompozit film ve kitosan filmi arasında kalınlık açısından anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmiştir. Marvdashti ve ark. [65] *Alyssum homolocarpum* tohum gamı ve polivinil alkol kullanarak ürettikleri biyobozunur filmlerin ortalama kalınlıklarını 0,098 mm bulmuş, gam ve polivinil alkol oranlarının değişmesinin kalınlık üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

4.2.3 Optik Özellikler

Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin L^* , a^* , b^* ve ΔE değerleri Çizelge 4.4' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin L^* , a^* , b^* ve ΔE değerleri *

Film Örneği	L^*	a^*	b^*	ΔE
ÇG- Kontrol	71,26±0,44 ^{cb}	8,62±0,11 ^{bac}	25,62±0,51 ^{bac}	32,92±0,47 ^a
ÇG-MMT 2.5	71,13±0,48 ^c	9,00±0,10 ^{ba}	26,60±0,50 ^a	33,81±0,59 ^a
ÇG-MMT 5.0	70,09±0,99 ^c	9,09±0,45 ^a	26,51±1,25 ^a	34,39±1,62 ^a
ÇG-MMT 7.5	70,30±0,14 ^c	9,04±0,31 ^{ba}	25,95±0,31 ^{ba}	33,97±0,24 ^a
ÇG-HNT 2.5	71,53±0,33 ^{cb}	8,70±0,20 ^{bac}	25,89±0,66 ^{bac}	32,97±0,54 ^a
ÇG-HNT 5.0	70,78±0,43 ^c	8,48±0,18 ^{bac}	25,78±0,34 ^{bac}	33,33±0,36 ^a
ÇG-HNT 7.5	70,87±0,55 ^c	8,45±0,18 ^{bc}	24,18±0,40 ^c	32,06±0,48 ^a
ÇG-NM 2.5	74,59±0,12 ^a	7,79±0,06 ^d	24,28±0,88 ^{bc}	29,75±0,65 ^a
ÇG-NM 5.0	70,64±0,51 ^c	8,80±0,20 ^{bac}	25,94±0,36 ^{bac}	33,58±0,40 ^a
ÇG-NM 7.5	72,71±0,76 ^b	8,22±0,20 ^{dc}	24,63±0,47 ^{bc}	31,21±0,76 ^a

*:Ortalama±standart sapma a-ı: Farklı harfler, aynı sütundaki veriler arası istatistiksel farkın önemli olduğunu gösterirken ($P<0,05$), aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM2.5 : % 2,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

Tüm film örneklerinin L^* değerlerinin 70,0'in üzerinde olduğu, en düşük L^* değerinin %5,0 MMT kilini içeren filmde ve en yüksek L^* değerinin % 2,5 NM kilini içeren filmde olduğu belirlenmiştir. Filmlerin L^* değerlerinin artması, renklerinin beyaza yaklaşması ve böylece film renginin daha açık renkte olması anlamına gelmektedir. Kırmızı ve yeşil arasındaki renk değerini veren a^* değerinin; en yüksek %5,0 MMT kilini içeren filmde, en düşük %2,5 NM kilini içeren filmde olduğu belirlenmiştir. Sarı ve mavi arasındaki renk değerini veren b^* değerinin, en yüksek %2,5 MMT kilini içeren filmde, en düşük %7,5 HNT kilini içeren filmde olduğu belirlenmiştir. ΔE değerleri arasında ise istatistiksel olarak önemli bir fark ($P>0,05$) bulunmamıştır. Sonuçlar, farklı nanokil seviyeleri ile güçlendirilmiş çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin genel olarak L^* , a^* , b^* ve ΔE değerlerinin birbirine yakın olduğunu göstermiştir.

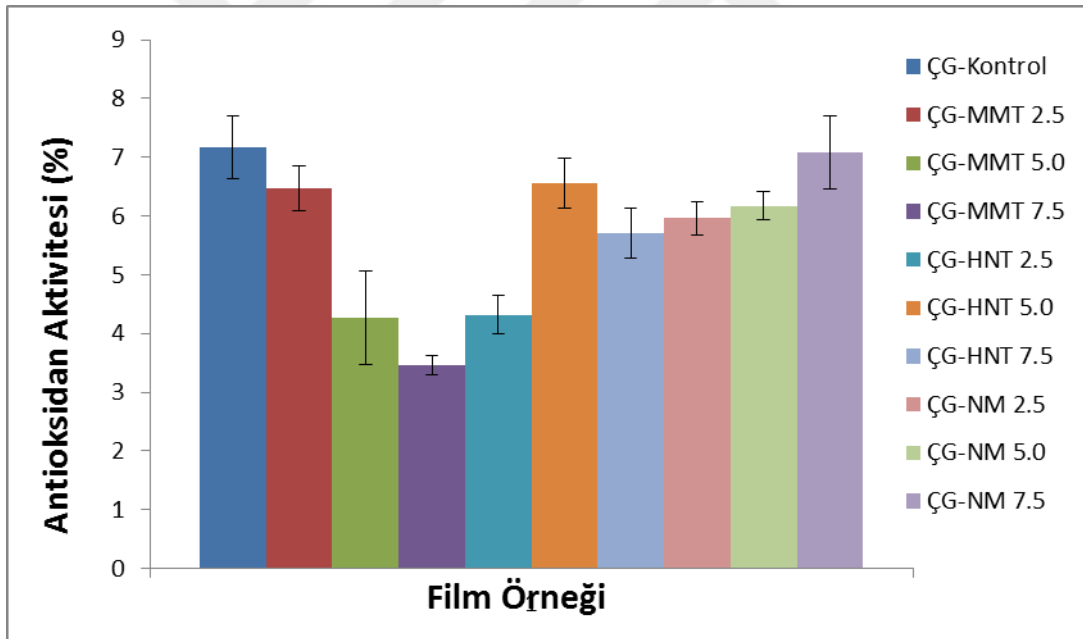
Slavutsky vd. [11] tarafından yapılan çalışmada, brea gam bazlı nanokompozit filmlerde MMT içeriğinin artmasıyla L^* değerinde azalış, a^* ve b^* değerlerinde ise artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Aynı şekilde Sothornvit ve ark. [66] yaptıkları çalışmada, peynir altı suyu proteini izolatu / kil kompozit filmlerine MMT kilinin eklenmesiyle L^*

değerlerinde bir düşüş, a^* ve b^* değerlerinde bir artışın meydana geldiğini bildirmiştir. Osés vd. tarafından yapılan çalışmada peynir altı suyu proteini izolatu ve mesquite gamından elde edilen yenilebilir filmlerin L^* , a^* ve b^* değerleri ölçülmüştür. Mesquite gam içeriğinin artmasıyla L^* değerinde azalma, a^* ve b^* değerlerinde artış meydana gelmiş; sonuçlarda filmlerin daha kırmızımsı ve sarımsı hale geldiği belirtilmiştir [67].

4.2.4 Antioksidan Aktivite (AOA)

Bitkilerin antioksidan aktivitesinin, içinde bulunan fenolik ve flavonoid bileşikler gibi çeşitli biyokaktif bileşenlerden kaynaklandığı bilinmektedir [68,69].

Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin antioksidan aktivitesi DPPH metodu ile belirlenmiştir. Çemenotu gamı bazlı filmlerin serbest DPPH radikalini yakalama düzeyi yüzde olarak hesaplanıp Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin antioksidan aktiviteleri (AOA)

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 haloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 haloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 haloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 2.5 : % 2,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

Film örnekleri %3,45–7,16 arasında değişen düzeylerde AOA göstermiştir. Çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin AOA arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($P>0,05$) tespit edilmemiştir. Antioksidan aktivitesinin çemen bitkisinin polifenol içeriğiyle doğrudan ilişkili olduğu ve kabukta bitkinin diğer kısımlarına göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Buna göre, antioksidan aktivitesinin düşük bulunmasının sebebi, polifenollerin kabukla uzaklaştırılmış olabileceğidir.

4.2.5 Antimikrobiyal Aktivite

Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus*'a karşı gösterdiği antimikrobiyal etki inkübasyon sonunda Nutrient Agar (Merck, Almanya) üzerinde oluşan inhibisyon zon çaplarının (mm) ölçülmesiyle belirlenmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin ve kontrol örneğinin antimikrobiyal aktiviteleri Çizelge 4.5' de gösterilmektedir.

Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin antimikrobiyal aktivite değerleri*

Film Örneği	İnhibisyon Çapı (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>B. cereus</i>
ÇG- Kontrol	27,25±1,78 ^{bcC}	53,00±2,73 ^{bcA}	35,00±0,70 ^{baB}	33,00±0,00 ^{Bf}
ÇG-MMT 2.5	26,25±0,43 ^{cD}	51,00±1,00 ^{dcA}	35,50±0,05 ^{baC}	40,50±1,11 ^{Ab}
ÇG-MMT 5.0	31,50±0,05 ^{aD}	49,25±0,43 ^{dA}	34,25±0,43 ^{bc}	36,75±0,82 ^{dB}
ÇG-MMT 7.5	29,50±0,05 ^{baC}	50,50±1,11 ^{dcA}	35,50±1,11 ^{baB}	34,25±0,82 ^{efB}
ÇG-HNT 2.5	30,25±1,29 ^{baD}	54,50±0,50 ^{baA}	34,25±0,43 ^{bc}	39,50±0,86 ^{baB}
ÇG-HNT 5.0	32,25±0,43 ^{aD}	56,00±0,70 ^{baA}	35,00±0,00 ^{baC}	39,25±0,82 ^{baB}
ÇG-HNT 7.5	30,00±0,00 ^{baC}	57,25±1,29 ^{aA}	36,25±0,43 ^{aB}	36,25±0,43 ^{edB}
ÇG-NM 2.5	28,75±0,43 ^{baD}	50,50±1,50 ^{dcA}	34,00±0,07 ^{bc}	37,00±1,22 ^{dcB}
ÇG-NM 5.0	29,00±0,00 ^{baC}	50,25±0,82 ^{dcA}	35,25±0,43 ^{baB}	36,00±1,00 ^{edB}
ÇG-NM 7.5	30,75±3,34 ^{baC}	51,00±0,00 ^{dcA}	36,00±0,00 ^{aB}	37,50±0,50 ^{bdcB}

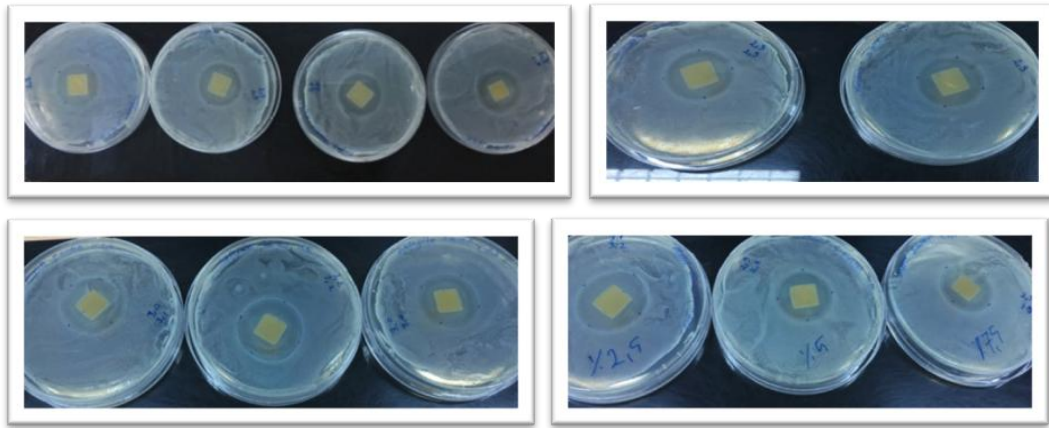
*:Ortalama±standart sapma a-ı: Farklı harfler, aynı sütundaki veriler arası istatistiksel farkın önemli olduğunu gösterirken ($P<0,05$), aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını göstermektedir ($P>0,05$).A-I: Farklı harfler, aynı satırdaki veriler arası istatistiksel farkın önemli olduğunu gösterirken ($P<0,05$), aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 haloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 haloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 haloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 2.5 : % 2,5 Nanomer® 1.44 P kili içeren

nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

Agar difüzyon yöntemiyle yapılan antimikrobiyal analizi sonuçları film numunelerinin antimikrobiyal aktivitelerinin nanokil türünden bağımsız ve değişken olduğu göstermiştir. Çemenotu gamı esaslı nanokompozit filmlerin antimikrobiyal aktivitesinin, gam eldesi sırasında tohumdan gama geçen antimikrobiyal etkili bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çemenotu tohumunun ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi literatürde bildirilmiştir. Bu çalışmada filmlere eklenen nanokillerin, filmlerin antimikrobiyal aktivitesine herhangi bir katkı sağlamadığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, nanokil ilavesinin kil türüne bağlı olarak biyolojik olarak parçalanabilir nanokompozit filmlerin antimikrobiyal aktivitesine katkıda bulunabileceği bildirilmiştir. Kloisit 30B gibi organik olarak modifiye edilmiş killerin antimikrobiyal aktivitesi olduğu gösterilmişken, modifiye edilmemiş killerin antimikrobiyal etkisi gözlemlenmemiştir.

Elde edilen verilere göre nanokil katkılı filmlere en duyarlı suş, *L. monocytogenes*, ardından sırasıyla *B. cereus*, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* olarak bulunmuştur. Rhim ve ark. [70] ile Martins ve ark. [71], Cloisite 30B nanokil ile güçlendirilmiş biyolojik olarak parçalanabilir filmlerin *L. monocytogenes*'e karşı daha belirgin antimikrobiyal aktivite sergilediğini bildirmişlerdir. Mikroorganizmaların agar plak üzerindeki inhibisyonları Şekil 4.2' de gösterilmiştir.



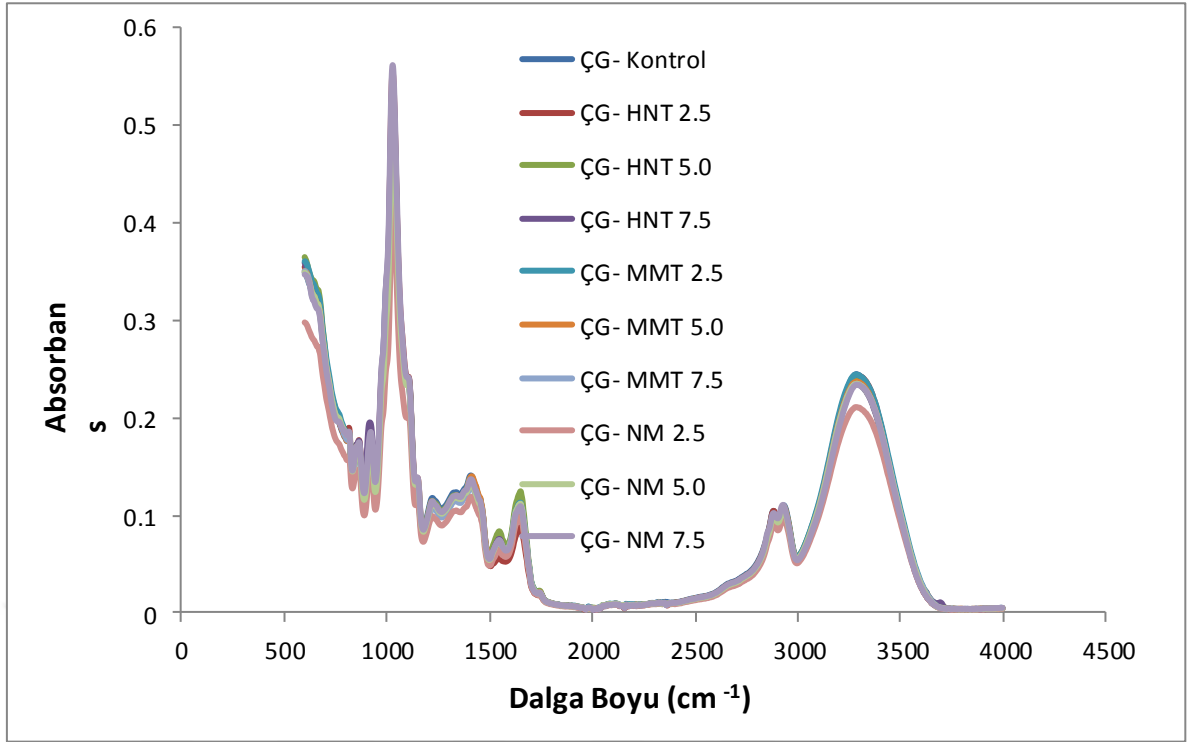
Şekil 4.2 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin agar plak üzerindeki antimikrobiyal etkisi

Pola ve ark. farklı konsantrasyonlarda kekik yağı ve organofilik MMT 30B içeren selüloz asetat bazlı aktif filmler üreterek, filmlerin fungusların büyümesine etkisini araştırmışlardır. Sonuçlar MMT30B kilinin test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisinin olmadığını göstermiştir [72]. Martins ve ark. yaptıkları çalışmada κ-karragenan (κ-araba), keçiyoynuzu gamı ve modifiye edilmiş Cloisite 30B (C30B) kilinden biyobozunur film üretmişler, elde edilen filmlerin *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Salmonella enterica*'ya karşı antimikrobiyal etkilerini değerlendirmişler ve filmlerin sadece *L. monocytogenes*'e karşı inhibitör etki gösterdiğini bildirmişlerdir [71].

Kanmani ve Rhim yaptıkları çalışmada jelatin/AgNP/Kloisit 30B kil filmlerinin patojenlere karşı antimikrobiyal etkilerini test etmiş, sadece jelatin içeren film patojenlere karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiş, AgNP'lerini içeren nanokompozit filmler Gram pozitif (*L. monocytogenes*) ve Gram-negatif (*E. coli*) bakterilere karşı yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. Cloisite 30B kilini içeren nanokompozit filmin ise yapısındaki alkil kuaterner amonyum tuz grubunun güçlü antimikrobiyal aktivitesinden dolayı sadece Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir [73].

4.2.6 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin moleküler karakterizasyonunu gerçekleştirmek amacıyla 400-4000 cm⁻¹ dalga boylarında arasında FTIR analizi yapılmıştır. Film örneklerine ait FTIR spektrumları Şekil 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.3 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin FTIR spektrumları

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 2.5 : % 2,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

800 - 1200 cm⁻¹ arasındaki bölge karbonhidratlar için parmak izi alanı olarak bilinir. Gam varlığı nedeniyle tüm film örnekleri 1050 cm⁻¹'de C-O-C bağlarının titreşiminden kaynaklı sivri bir pik oluşturmuştur. 1200 ve 1500 cm⁻¹ aralığındaki pikler, CCH, HCH, COH ve HCO gibi hidrojen atomlarından oluşan grupların titreşimlerine karşılık gelmektedir [74].

Proteinlerin 1600-1700 cm⁻¹ aralığında belirgin şekilde pik meydana getirdiği bildirilmiştir. 2800-3000 cm⁻¹ aralığında meydana gelen pikler gam içerisindeki asimetrik -CH₂- fonksiyonel gruplara, bu grupların çözünen ve çözünmeyen fraksiyonuna karşılık gelmektedir. 3000 ve 3500 cm⁻¹ aralığındaki piklerin O-H gruplarının titreşiminden meydana gelen pikler olduğu bildirilmiştir [75].

Gamın yapısında bulunan hidroksil ve bağlı suyun O-H gruplarının titreşiminden dolayı 3100-3500 cm⁻¹'e karşılık gelen geniş bir pik oluşmuştur [76,77].

4.2.7 Su Buharı Geçirgenliği

Gıda ile çevre atmosferi arasındaki nem transferini azaltmak için filmlerin su buharı geçirgenliği (SBG) mümkün olduğunca düşük olmalıdır. Geçirgenlik, polimer içeriğindeki suyun çözünürlüğüne ve difüzyonuna bağlıdır. Bu özellik film yapısı, plastikleştirici, ortamın bağıl nemi ve çevrenin sıcaklığı ile ilgilidir. Nanokil takviyeli nanokompozit filmlerin su buharı geçirgenliği değerleri Çizelge 4.6' de gösterilmektedir.

Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin su buharı geçirgenliği değerleri *

Film Örneği	SBG (g mm h ⁻¹ m ⁻² kPa ⁻¹)
ÇG- Kontrol	0,144±0,002 ^{ba}
ÇG-MMT 2.5	0,160±0,018 ^{ba}
ÇG-MMT 5.0	0,155±0,009 ^{ba}
ÇG-MMT 7.5	0,137±0,020 ^b
ÇG-HNT 2.5	0,139±0,005 ^b
ÇG-HNT 5.0	0,160±0,000 ^{ba}
ÇG-HNT 7.5	0,198±0,022 ^a
ÇG-NM 2.5	0,179±0,019 ^{ba}
ÇG-NM 5.0	0,160±0,012 ^{ba}
ÇG-NM 7.5	0,158±0,018 ^{ba}

*:Ortalama±standart sapma a-ı: Farklı harfler, aynı sütundaki veriler arası istatistiksel farkın önemli olduğunu gösterirken (P<0,05), aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını göstermektedir (P>0,05).

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 2.5 : % 2,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

Çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin farklı nanokiller ile güçlendirilmesi, nanokil konsantrasyonuna bağlı olarak su buharı geçirgenliğinde önemli azalmalara (P>0.05) neden olmamıştır. Yapılan çalışmalarda nanokil bileşiminin oluşturduğu kıvrımlı yolun etkisi ile su buharı geçirgenliğinin azalmasını sağladığı bildirilmiştir. Wang ve ark. yaptıkları çalışmada nişasta ve gliserolden elde edilen filmlere eklenen modifiye edilmiş ve modifiye edilmemiş MMT ile benzer sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. SBG'deki düşüşün MMT'nin nişasta ile kuvvetli etkileşiminden ve oluşturduğu kıvrımlı yolun etkili olduğu bildirilmiştir [78].

Rhim tarafından yapılan çalışmada agar bazlı filmlerin SBG değeri $2,22 \pm 0,19 \text{ g m} / \text{m}^2 \text{ s}$ Pa iken %20 oranında kil ilavesiyle bu değer $1,07 \pm 0,05 \text{ g m} / \text{m}^2 \text{ s}$ Pa'ya kadar önemli ölçüde azalmıştır [79]. Yapılan bir çalışmada $1 \text{ }\mu\text{m}$ kalınlığındaki polietilentereftalat (PET), yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) ve düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) polimerlerinin 38°C ve %90 RH' da su buharı geçirgenlikleri belirlenmiş ve sırasıyla 800, 145 ve $560 \text{ g/m}^2\cdot\text{gün}$ olarak bulunmuştur [80].

4.2.8 Oksijen Geçirgenliği

Nanokil takviyeli nanokompozit filmlerin oksijen bariyer özellikleri (peroksit değerinden etkilenen haliyle) Çizelge 4.7' da gösterilmektedir.

Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin peroksit değerleri *

Film Örneği	Peroksit Değeri (meq/kg)
ÇG- Kontrol	$36,37 \pm 6,88^a$
ÇG-MMT2.5	$15,40 \pm 1,33^{dc}$
ÇG-MMT5.0	$18,57 \pm 2,29^{dc}$
ÇG-MMT7.5	$28,49 \pm 3,25^{ba}$
ÇG-HNT2.5	$15,09 \pm 0,21^{dc}$
ÇG-HNT5.0	$13,89 \pm 0,55^d$
ÇG-HNT7.5	$23,27 \pm 2,80^{bc}$
ÇG-NM2.5	$16,90 \pm 3,56^{dc}$
ÇG-NM5.0	$15,49 \pm 1,87^{dc}$
ÇG-NM7.5	$16,61 \pm 1,58^{dc}$

*:Ortalama±standart sapma a-ı: Farklı harfler, aynı sütundaki veriler arası istatistiksel farkın önemli olduğunu gösterirken ($P < 0,05$), aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını göstermektedir ($P > 0,05$).

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 2.5 : % 2,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

Daha yüksek peroksit değerleri, film numunelerinin daha yüksek oksijen geçirgenliğine sahip olduğu anlamına gelmektedir. Nanokompozit filmlerin peroksit değerleri, film numuneleri ile kaplanmış eppendorf tüplerine doldurulmuş ayçiçek yağlarının depolanmasıyla $2,9 \text{ meq} / \text{kg'dan}$ $13,89\text{-}36,37 \text{ meq} / \text{kg'a}$ kadar değişmiştir.

ÇG filmlerinin farklı nanokiller ile güçlendirilmesi, nanokil konsantrasyonuna bağlı olarak oksijen geçirgenliğinde anlamlı ($P<0.05$) azalmalara neden olmuştur. HNT ve MMT'nin en yüksek konsantrasyonları, oksijen geçirgenliğini olumsuz etkilerken, farklı konsantrasyonlarda NM içeren numuneler arasında anlamlı ($P>0.05$) fark gözlemlenmemiştir. Tüm film örnekleri için, nanokil konsantrasyonları % 5'e kadar oksijen geçirgenliğinde arzu edilen bir azalma sağlanmış ve nanokillerin ilave edilmesi, filmlerin daha yoğun ve daha kompakt bir yapıya sahip olmasını sağlamıştır.

Kurt ve Kahyaoğlu [56] yaptıkları çalışmada, salep galaktomannan, keçiyoynuzu zamkı ve guar sakızı bazlı biyolojik olarak parçalanabilir filmlerle kaplanan tüplerde muhafaza edilen yağın peroksit sayısının 91.20 ve 95.04 meq / kg arasında değişmekte olduğunu bulmuştur. Yapılan çalışmada 1 µm kalınlığındaki PET, HDPE ve LDPE polimerlerinin 23°C ve %0 RH' da oksijen geçirgenlikleri belirlenmiş ve sırasıyla 1600, 53000 ve 178000 cm³/m².gün olarak bulunmuştur [80]. Yapılan bir diğer çalışmada petrol esaslı polimer olan 20 µm kalınlığındaki PET, 20 µm kalınlığındaki HDPE ve 50 µm kalınlığındaki LDPE filmlerin oksijen geçirgenlikleri belirlenmiş ve sırasıyla 153,3, 15841,4 ve 3560,4 cm³/m².gün olarak bulunmuştur [81].

4.2.9 Mekanik Özellikler

Filmlerin mekanik özellikleri çekme dayanımı (tensile strength, TS) ve kopma anındaki uzama (elongation at break, EB) parametrelerinin ölçülmesiyle belirlenmiştir. Çekme testi sırasında filmde oluşan maksimum gerilme çekme dayanımı ile ifade edilirken, ambalajın uzama özelliği, kopma anındaki uzama ile ifade edilmiştir [82]. Çizelge 4.8' de örneklerin TS ve EB değerleri görülmektedir.

Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin çekme dayanımı ve kopma anındaki uzama değerleri *

Örnek	Çekme Dayanımı (MPa)	Kopma Anındaki Uzama (%)
Kontrol	3,03 ± 0,25 ^G	91,15 ± 11,94 ^A
ÇG-MMT2.5	5,42 ± 0,73 ^F	70,35 ± 12,04 ^{CD}
ÇG-MMT5.0	6,38 ± 0,40 ^{DE}	65,23 ± 15,87 ^D
ÇG-MMT7.5	6,20 ± 0,34 ^E	71,58 ± 9,26 ^{BCD}
ÇG-HNT2.5	6,90 ± 0,62 ^{CDE}	62,13 ± 0,74 ^D
ÇG-HNT5.0	8,26 ± 0,84 ^A	86,91 ± 4,15 ^{AB}
ÇG-HNT7.5	8,16 ± 0,43 ^{AB}	82,08 ± 7,16 ^{ABCD}
ÇG-NM2.5	7,22 ± 0,51 ^C	83,08 ± 9,79 ^{ABC}
ÇG-NM5.0	6,97 ± 0,95 ^{CD}	84,44 ± 8,49 ^{ABC}
ÇG-NM7.5	7,38 ± 0,12 ^{BC}	78,29 ± 10,77 ^{ABCD}

*:Ortalama±standart sapma A-I: Farklı harfler, aynı sütundaki veriler arası istatistiksel farkın önemli olduğunu gösterirken (P<0,05), aynı harfler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını göstermektedir (P>0,05).

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 2.5 : % 2,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

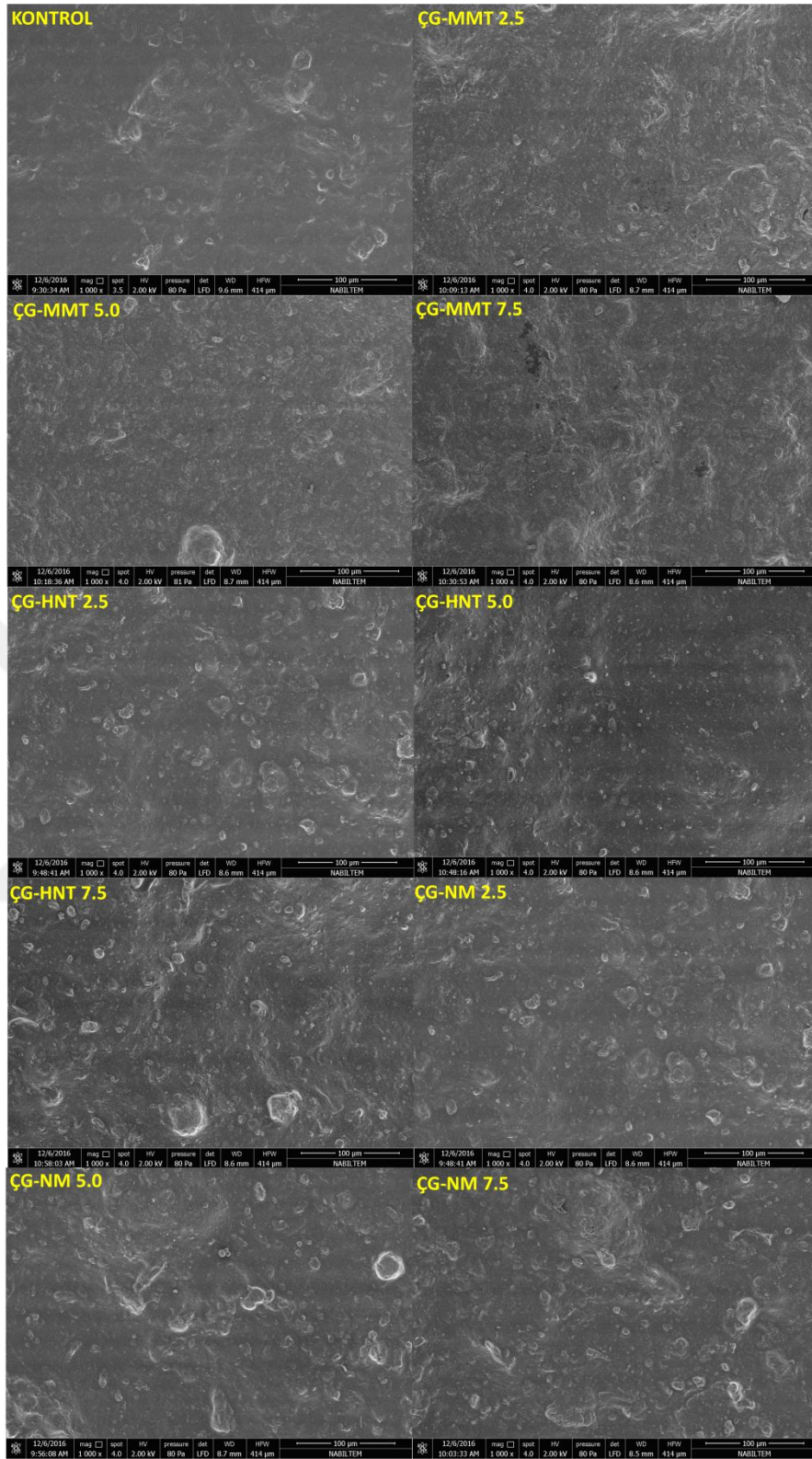
Çizelge 4.8’ de görüldüğü gibi çekme dayanımı ve kopma anındaki uzama değerleri belirlenmiştir. Kontrol filminin çekme dayanım değeri 3,03 MPa iken, nanokil ilavesi diğer tüm nanokompozit filmler için çekme dayanımında anlamlı (P<0.05) bir artış meydana getirmiştir. Kil ilaveli filmlerde, en yüksek çekme dayanımı değerine %5,0 oranında HNT içeren filmin, en düşük çekme dayanımı değerine ise %2,5 oranında MMT içeren filmin sahip olduğu belirlenmiştir. MMT ve HNT killlerinde en yüksek çekme dayanımı değerinin %5,0 oranındaki filmlerde olduğu belirlenmiştir. %5,0’ten daha yüksek nanokil konsantrasyonlarında killerin zayıf dağılımları, kümeleşmeleri ve yüksek yüzey enerjilerinden dolayı filmlerin çekme dayanımında iyileşme sağlanmadığı görülmektedir [12,83,84].

Nanokompozit filmlerin kopma anındaki uzama değerleri % 62,13-91,15 arasında bulunmuştur. Kontrol filmi en yüksek (P<0.05) EB değerine sahipken, en düşük EB değerine %2,5 oranında MMT kilini içeren film sahiptir. Nanokil ilavesi filmlerin EB değerlerinde azalışa neden olmuştur.

Yapılan bir çalışmada petrol esaslı polimer olan polipropilenin çekme dayanımı ve kopma anındaki değerleri belirlenmiş ve çekme dayanımı 964 MPa, kopma anındaki uzama değeri ise %39.5 bulunmuştur [85].

4.2.10 SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi)

Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin yüzey morfolojisi, Şekil 4.4'de gösterildiği gibi SEM analiziyle incelenmiştir. SEM mikrograflarıyla film yapısındaki nanokilin dağılımı belirlenmiştir. Film yüzeylerinin SEM görüntüleri, kontrol filminin diğer nanokompozit filmlerden daha pürüzsüz yüzeye sahip olduğunu göstermektedir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak yüzey pürüzlülüğünün artması polimer ile kil arasındaki bağların zayıf olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda çemenotu gamının hidrofilik özelliği ve MMT'nin polimer matrisiyle uyumlu olmasından dolayı MMT kilinin diğer killere göre polimer matrisi içinde daha iyi dağılmış olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, MMT'nin tüm konsantrasyonlarında ayrılmış tabakalı nanokompozit oluşturmuş olabileceği anlamına gelmektedir. HNT ve NM konsantrasyonları arttıkça kil kümeleşmelerinin meydana geldiği gözlemlenmiştir. Rhim tarafından yapılan çalışmada agar polimeri içerisine eklenen Cloisite Na⁺ kilinin %5'ten düşük konsantrasyonlarında dağılımın daha iyi gerçekleştiği bildirilmiştir [13]. Elde edilen sonuçlar Kumar ve ark. [86], Alboofetileh ve ark. [87], Saurabh ve ark. [10], Rhim' in [13] sonuçlarıyla uyumlu olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.4 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin SEM görüntüleri

4.2.11 DSC (Diferansiyel Tarama Kalorimetresi)

Farklı nanokiller ile güçlendirilmiş çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin ısı davranışı, Çizelge 4.9' de ve Şekil 4.5' de gösterildiği gibi DSC analizi ölçülmüştür. Şekil 4.5' de gösterildiği gibi DSC grafiklerinde tüm film örnekleri için iki endotermik pik belirlenmiştir. Yaklaşık 100- 134 °C'de tespit edilen ilk pik buharlaşan çözücüye aittir. Çözücü buharlaştırma sıcaklığı (T_1), nanokil ilavesiyle önemli derecede artmıştır. 257- 291 °C aralığındaki pikler, çemenotu gamı esaslı filmlerin erimesine aittir. Kontrol filminin erime sıcaklığı (T_e) yaklaşık 270 °C iken, nanokil oranı artması filmlerin T_e değerlerinde belirgin bir artışa neden olmuştur.

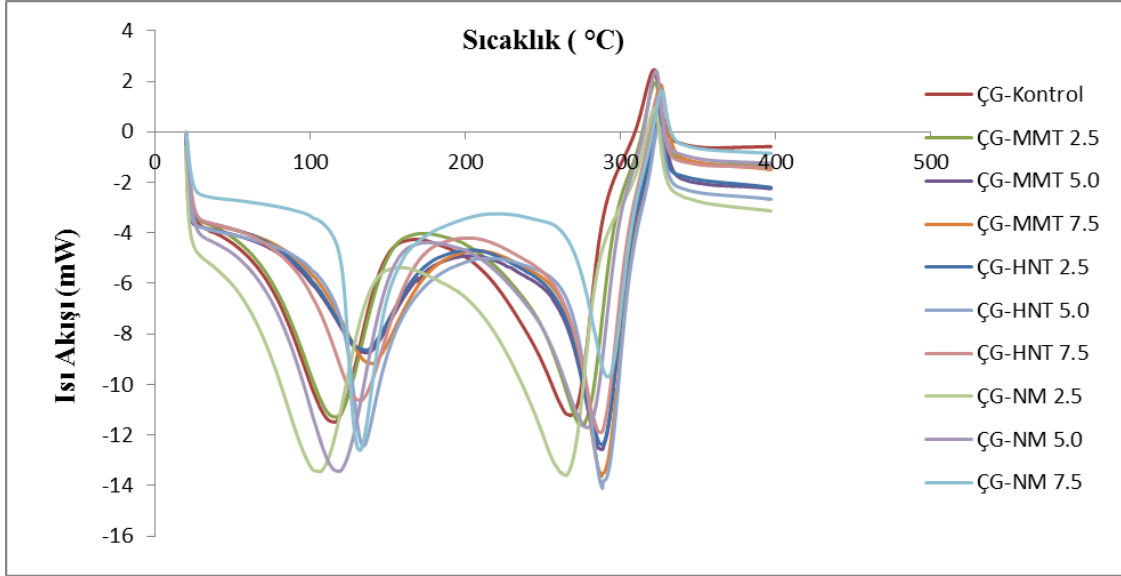
Çizelge 4.9. Farklı konsantrasyonlardaki nanokillerden üretilen çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin DSC değerleri

Örnek	T_1 (°C)	T_e (°C)	ΔH_m (J/g)	İlk bozunma sıcaklığı (°C)
ÇG- Kontrol	114,88	270,20	400,80	321,61
ÇG-MMT2.5	116,86	276,67	413,10	322,68
ÇG-MMT5.0	119,66	282,58	360,10	324,81
ÇG-MMT7.5	134,72	291,42	310,80	326,58
ÇG-HNT2.5	127,15	286,74	329,00	323,03
ÇG-HNT5.0	133,82	290,92	336,60	324,45
ÇG-HNT7.5	130,59	288,53	321,90	323,74
ÇG-NM2.5	106,17	265,78	470,70	322,32
ÇG-NM5.0	118,43	280,80	370,30	322,68
ÇG-NM7.5	131,99	290,74	323,20	325,16

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 2.5 : % 2,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

Seyedi ve ark. [62] farklı seviyelerde gliserol ile plastikleştirilen *Lepidium perfoliatum* gam esaslı filmlerin T_e değerlerinin 103,00 °C'den 156,25 °C'ye kadar değiştiğini bildirmiştir. Fesleğen tohumu gamı esaslı filmlerin T_e seviyeleri 164,3 ile 165,3 °C arasında olup, çemenotu gamı esaslı filmlerden daha düşüktür [63]. Alması ve ark.'nın yaptıkları çalışmada biyolojik olarak parçalanabilir filmlere nanokil katılmasının, T_e değerlerinin yükselmesine neden olduğunu bildirmiştir [88].

Kontrol filminin ilk bozunma sıcaklığı 321,68 °C iken, nanokillerin ilavesiyle diğer filmlerin ilk bozunma sıcaklıkları biraz daha yüksek bulunmuştur. Benzer sonuçlar, Xu ve ark. tarafından da bildirilmiştir [83].



Şekil 4.5 Farklı konsantrasyonlarda nanokil içeren çemenotu gamı bazlı nanokompozit filmlerin DSC termogramı

ÇG-Kontrol: Çemenotu gamından elde edilen kontrol filmi, ÇG-MMT 2.5: % 2,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 5.0 : % 5,0 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-MMT 7.5 : % 7,5 Na⁺ montmorillonit kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 2.5 : %2,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 5.0 : % 5,0 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-HNT 7.5 : % 7,5 halloysite kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 2.5 : % 2,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 5.0 : % 5,0 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film, ÇG-NM 7.5 : % 7,5 Nanomer® I.44 P kili içeren nanokompozit film

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Gerçekleştirilen bu çalışmada çemenotu tohumlarından elde edilen gamların film oluşturma özellikleri belirlenmiş ve farklı konsantrasyonlardaki (%2,5, %5 %7,5) 3 farklı kil kullanılarak filmlerin sahip oldukları düşük mekanik ve bariyer özelliklerine etkisi incelenmiştir. Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Çemenotu tohumları öğütülerek belirtilen sıcaklıklarda ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş, elde edilen üst faz alkol ile çöktürülerek, etüvde kurutulmuştur. Küçük parçalar halinde kullanılan gamların çözelti içerisinde çözünmediği ve homojen dağılmadığı bu nedenle elde edilen filmlerinde homojen olmadığı gözlenmiştir. Bu olumsuzluğu gidermek amacıyla kurutulan gam parçaları öğütülmüş, toz hale getirilerek kullanılmıştır.
- Filmlerin homojen bir şekilde kurumasını sağlamak amacıyla cam kaplar ve fansız etüv kullanılmıştır.
- Filmlerin nem içeriğinin kil konsantrasyonunun artmasıyla azaldığı gözlenmiştir. Üretilen filmlerin nem içeriğinin düşük olması, filmlerin ambalaj malzemesi olarak kullanılabilme potansiyelini olumlu etkileyeceği düşünülmektedir.
- Filmlerin antioksidan aktiviteleri arasında önemli bir farkın olmaması, antioksidan özellikteki maddelerin ekstraksiyon sırasında uzaklaştırılmış olması ya da film üretimi sırasında uygulanan fiziksel işlemler sırasında kayba uğramış olabileceği düşünülmektedir.

- Elde edilen nanokompozit filmler, test edilen Gram (+) veya Gram (-) bakteriler üzerinde yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir.
- Nanokil bileşiminin oluşturduğu kıvrımlı yolun etkisiyle filmlerin oksijen geçirgenliklerinde azalmalar meydana gelmiştir. Su buharı geçirgenliğinde konsantrasyonun anlamlı bir etkisi yokken, oksijen geçirgenliğinde konsantrasyon artışına bağlı olarak geçirgenlikte azalma meydana gelmiştir.
- Yapılan mekanik test sonucunda nanokillerin ilavesinin filmlerin mekanik özelliklerini olumlu etkilediği, ancak %5' ten daha yüksek konsantrasyonlarda bu etkinin olumsuz olduğu gözlenmiştir.
- SEM analizi sonucunda SEM mikrografları incelenmiş, konsantrasyon artışına bağlı olarak killerin kümeleşmesiyle yüzey pürüzlülüğünde artış meydana geldiği görülmüştür. Aynı zamanda çemenotu gamının hidrofilik özelliği ve MMT'nin polimer matrisiyle uyumlu olmasından dolayı MMT kilinin diğer killere göre polimer matrisi içinde daha iyi dağılmış olduğu gözlemlenmiştir.
- Yapılan DSC analizi sonucunda, nanokil ilavesinin filmlerin erime noktasını yükselttiği belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda bu çalışma sonuçları ile ilgili olarak birkaç öneri yapılabilir:

- Üretilen filmlerin hangi gıdalarda kullanılabileceğine dair araştırmalar ve gıda denemeleri yapılabilir.
- Üretilen filmlere, çemenotu gamına ek olarak farklı polimerlerin eklenmesiyle bariyer ve mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi desteklenebilir.
- Filmlerin farklı bakteri, küf ve maya çeşitleri üzerindeki etkileri araştırılarak, filmler antimikrobiyal etkili ambalaj üretimi açısından değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

- [1] Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S. ve Rosa, M. D., (2008). "Biodegradable Polymers for Food Packaging: A Review", Trends in Food Science & Technology, 19: 634-643.
- [2] Tharanathan, R.H., (2003). "Biodegradable Films and Composite Coatings: Past, Present and Future", Trends in Food Science & Technology, 14(3): 71-78.
- [3] Guilbert, S., Gontard, N. ve Gorris, L. G. M., (1996). "Prolongation of the Shelf-life of Perishable Food Products Using Biodegradable Films and Coatings", Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 29: 10–17.
- [4] Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., Rosa, M.D., (2008). "Biodegradable Polymers for Food Packaging: A Review", Trends in Food Science & Technology, 19(12): 634–643.
- [5] Mihindukulasuriya, S.D.F., Lim, L.T., (2014). "Nanotechnology Development in Food Packaging: A review", Trends in Food Science & Technology, 40(2): 149–167.
- [6] Süfer, Ö. ve Karakaya, S., (2011). "Gıda Endüstrisi ve Nanoteknoloji: Durum Tespiti ve Gelecek", Akademik Gıda, 9(6): 81-88.
- [7] Arora, A. ve Padua, G.W., (2009). "Review: Nanocomposites in Food Packaging", Journal of Food Science, 75(1): 43-49.
- [8] Zhu, S., Chen, J., Li, H., Cao, Y., Yang, Y. ve Feng, Z., (2014). "Preparation and Properties of Montmorillonite/Poly(Ethylene Glycol) Grafted Polypropylene/Polypropylene Nanocomposites ", Applied Clay Science, 87: 303–310.
- [9] Casariego, A., Souza, B.W.S., Cerqueira, M.A., Teixeira, J.A., Cruz, L., Diaz, R. ve Vicente, A.A., (2009). "Chitosan/Clay Films' Properties as Affected by Biopolymer and Clay Micro/Nanoparticles' Concentrations ", Food Hydrocolloids, 23(7): 1895–1902.
- [10] Saurabha, C.K., Gupta, S., Bahadurb, J., Mazumderb, S. ve Variyara, P.S., (2015). " Mechanical and Barrier Properties of Guar Gum Based Nanocomposite Films", Carbohydrate Polymers, 124: 77–84.

- [11] Slavutsky, A.M., Bertuzzi M.A., Armada, M., Garcia, M.G. ve Ochoa, N.A., (2014). "Preparation and Characterization of Montmorillonite/Brea Gum Nanocomposites Films", Food Hydrocolloids, 35: 270-278.
- [12] Qi, G., Li, N., Suna, X.S., Shia, Y. ve Wang, D., (2016). "Effects of Glycerol and Nanoclay on Physiochemical Properties of Camelina Gum-Based Films", Carbohydrate Polymers, 152: 747-754.
- [13] Rhim, J., Lee, S. ve Hong, S., (2011). "Preparation and Characterization of Agar/Clay Nanocomposite Films: The Effect of Clay Type", Journal of Food Science, 76(3): N40-N48.
- [14] Saurabh, C.K., Gupta, S., Variyar, P.S. ve Sharma, A., (2016). "Effect of Addition of Nanoclay, Beeswax, Tween-80 and Glycerol Onphysicochemical Properties of Guar Gum Films", Industrial Crops and Products, 89: 109-118.
- [15] Farahnaky, A., Dadfar, S.M.M. ve Shahbazi, M., (2014). "Physical and Mechanical Properties of Gelatin–Clay Nanocomposite", Journal of Food Engineering, 122: 78-83.
- [16] Zhong, Y., Janes, D., Zheng, Y., Hetzer, M. ve Kee, D.D., (2007). "Mechanical and Oxygen Barrier Properties of Organoclay-Polyethylene Nanocomposite Films", Polymer Engineering & Science, 47(7): 1101–1107.
- [17] Suprakas, S.R., Kazunobu, Y., Masami, O. ve Kazue, U. (2003). "Biodegradable Polylactide/Montmorillonite Nanocomposites", Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 3(6): 503-510.
- [18] Sharma, S.K. ve Nayak, S.K., (2009). "Surface Modified Clay/Polypropylene (PP) Nanocomposites: Effect on Physico-Mechanical, Thermal and Morphological Properties", Polymer Degradation and Stability, 94: 132–138
- [19] Baldemir, A. ve İlğün, S., (2015). "Geçmişte ve Günümüzde Çemenotunun Kullanım Alanları: *Trigonella Foenum-Graecum L.*", Lokman Hekim Journal, 5(1): 1-4.
- [20] Gökçe, Z., Efe, L., (2016). "Çemen (*Trigonella foenum-graecum L.*) Bitkisinin Kullanım Alanları ve Tıbbi Önemi", Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, Özel Sayı: 355-363.
- [21] Nour, A.A.M. ve Magboul, B.I., (1986). "Chemical and Amino Acid Composition of Fenugreek Seeds Grown in Sudan", Food Chemistry, 22(1): 1-5.
- [22] Beyzi, E., İlbaş, A. İ. ve Gürbüz, B., (2010). "Çemen (*Trigonella foenum graecum L.*) ve Genel Özellikleri", Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26(4): 316-322.
- [23] Isıklı, N.D., Karababa, E., (2005). "Rheological Characterization of Fenugreek Paste (Çemen)", Journal of Food Engineering, 69(2): 185–190.
- [24] Schryver, T., (2002). "Fenugreek", Total Health, 24(4): 42-44.
- [25] Brummer, Y., Cui, W. ve Wang, Q., (2003). "Extraction, Purification and Physicochemical Characterization of Fenugreek Gum", Food Hydrocolloids, 17(3): 229–236.

- [26] Madar, Z. ve Shomer, I., (1990). " Polysaccharide Composition of a Gel Derived From Fenugreek and Its Effect on Starch Digestion and Bile Acid Absorption in Rats", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38: 1535–1539.
- [27] Sauvaire, Y., Ribes, G., Baccou, J. C. ve Loubatieres-Mariani, M. M., (1991). " Implication of Steroid Saponins and Sapogenins in The Hypocholesterolemic Effect of Fenugreek", *Lipids*, 26(3): 191–197.
- [28] Stephen, A. M., ve Churns, S. C., (1995). *Food Polysaccharides and Their Application*, 377, Marcel Dekker, New York.
- [29] Garti, N., Madar, Z., Aserin, A. ve Sternheim, B., (1997). " Fenugreek Galactomannans as Food Emulsifiers", *Food Science and Technology*, 30(3): 305–311.
- [30] Malayoğlu, U. ve Akar, A. (1995). "Killerin Sınıflandırmasında ve Kullanım Alanlarının Saptanmasında Aranılan Kriterlerin İrdelenmesi", *Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu*, 21-22 Nisan 1995, İzmir, 125-133.
- [31] Tezcan, F., (2008). *Aljinat/Kil Biyopolimer Nanokompozit Filmlerin Eldesi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.*
- [32] Kolancılar, H., (2013)., "Topraktan Gelen Katalizör: Montmorillonit", *Trakya Univ J Nat Sci*, 14(1): 43-59.
- [33] Ray, S., Quek, S. Y., Easteal, A. ve Chen, X. D., (2006). "The Potential Use of Polymer-Clay Nanocomposites in Food Packaging", *International Journal of Food Engineering*, 2 (4): 1-11.
- [34] Kamble, R., Ghag, M., Gaikawad, S. ve B. K. Panda, B.K., (2012). "Review Article Halloysite Nanotubes and Applications: A Review", *Journal of Advanced Scientific Research*, 3(2): 25–29.
- [35] Joussein, E., Petit, S., Churchman, J., Theng, B., Righi, D. ve Delvaux, B., (2005). " Halloysite Clay Minerals- A Review", *Clay Minerals*, 40: 383-426.
- [36] Papoulis, D., Tsoilis-Katagas, P., Kalampounias, A. G. ve Tsikouras, B., (2009). " Progressive Formation of Halloysite from the Hydrothermal Alteration of Biotite and the Formation Mechanisms of Anatase in Altered Volcanic Rocks from Limnos Island, Northeast Aegean Sea, Greece", *Clays and Clay Minerals*, 57: 566-577.
- [37] Altuğ, T., (2006). *Gıda Katkı Maddeleri*, 2. Baskı, Meta Basım Matbaacılık İzmir.
- [38] Doğan, H., (2012). *Ekmek Teknolojisinde Yapıyı Etkileyen Hidrokolloidlerin Reolojik Ve Mikroskobik Yöntemlerle İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu.
- [39] Thombare, N., Jha, U., Mishra, S. ve Siddiquia, M. Z., (2016). "Guar Gum as a Promising Starting Material for Diverse Applications: A Review", *International Journal of Biological Macromolecules*, 88: 361–372.

- [40] Garti, N., Madar, Z., Aserin, A. ve Sternheim, B., (1997). "Fenugreek Galactomannans as Food Emulsifiers", LWT - Food Science and Technology, 30(3): 305-311.
- [41] Cengiz, E., Mahmut Dogan, M. ve Karaman, S., (2013). "Characterization of Rheological Interactions of Gleditsia Triacanthos Gum with Some Hydrocolloids: Effect of Hydration Temperature", Food Hydrocolloids, 32(2): 453-462.
- [42] Salam, H., Dong, Y. ve Davies, I., (2015). "Development of Biobased Polymer/Clay Nanocomposites: A Critical Review", Fillers and Reinforcements for Advanced Nanocomposites, 6: 101-132.
- [43] Choudalakis, G. ve Gotsis, A.D., (2009). "Permeability of Polymer/Clay Nanocomposites: A review", European Polymer Journal, 45(4): 967-984.
- [44] Krishnamoorti, R., Vai, R.A. ve Giannelis, E.P., (1996). "Structure and Dynamics of Polymer-Layered Silicate Nanocomposites", Chemistry of Metarials, 8 (8): 1728-1734.
- [45] Törnük, F., (2014). Biyoaktif Madde Yüklendi Nanokillerle Güçlendirilmiş Aktif Ambalaj Üretimi ve Gıda Ambalajlamada Kullanımı, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- [46] Vaia, R.A. ve Giannelis, E.P., (1997). " Lattice of Polymer Melt Intercalation in Organically Modified Layered Silicates", Macromolecules, 30(25): 7990-7999.
- [47] Cui, W., Mazza, G., Oomah, B.D. ve Biliaderis, C.G., (1994). "Optimization of an Aqueous Extraction Process for Flaxseed Gum by Response Surface Methodology", LWT - Food Science and Technology, 27(4): 363-369.
- [48] AOAC, (2000). Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, USA.
- [49] Benhura, M.A.N. ve Chidewe, C., (2002). "Some Properties of a Polysaccharide Preparation That is Isolated from the Fruit of Cordia Abyssinica", Food Chemistry, 76(3): 343-347.
- [50] Galla, N.R. ve Dubasi, G.R., (2010). "Chemical and Functional Characterization of Gum Karaya (*Sterculia urens* L.) Seed Meal", Food Hydrocolloids, 24(5): 479-485.
- [51] Dakia, P.A., Blecker, C., Robert, C., Wathelet, B. ve Paquot, M., (2008). "Composition and Physicochemical Properties of Locust Bean Gum Extracted from Whole Seeds by Acid or Water Dehulling Pre-treatment", Food Hydrocolloids, 22(5): 807-818.
- [52] AOAC, (2005). Official Methods of Analysis, Associations of Official Analytical Chemists, Washington, USA.
- [53] Byun, Y., Kim, Y.T. ve Whiteside, S., (2010). "Characterization of an Antioxidant Polylactic Acid (PLA) Film Prepared with α -Tocopherol, BHT and Polyethylene Glycol Using Film Cast Extruder", Journal of Food Engineering, 100(2): 239-244.

- [54] Sanchez-Moreno, C., (2002). "Methods Used to Evaluate The Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems", Food Science and Technology International, 8(3): 121-137.
- [55] ASTM, (2003). Annual book of ASTM standards, American Society for Testing and Materials, Pennsylvania.
- [56] Kahyaoğlu, T. ve Kurt, A., (2014). "Characterization of a New Biodegradable Edible Film Made from Salep Glucomannan", Carbohydrate Polymers, 104: 50-58.
- [57] López-Franco, Y.L., Córdova-Moreno, R.E., Goycoolea, F.M., Valdez, M.A., Juárez-Onofre, J. ve Lizardi-Mendoza, J., (2012). "Classification and Physicochemical Characterization of Mesquite Gum (*Prosopis spp.*)", Food Hydrocolloids, 26(1): 159–166.
- [58] Cerqueira, M., Bourbon, A., Pinheiro, A., Martins, J., Souza, B. ve Teixeira, J., (2011). "Galactomannans Use in the Development of Edible Films/Coatings for Food Applications", Trends in Food Science & Technology, 22(12): 662-671.
- [59] Nafchi, A. M., Nassiri, R., Sheibani, S., Ariffin, F. ve Karim, A. A., (2013). "Preparation and Characterization of Bionanocomposite Films Filled with Nanorod-Rich Zinc Oxide", Carbohydrate Polymers, 96(1): 233-239.
- [60] Sadegh-Hassani, F. ve Mohammadi Nafchi, A., (2014). "Preparation and Characterization of Bionanocomposite Films Based on Potato Starch/Halloysite Nanoclay", International Journal of Biological Macromolecules, 67: 458-462.
- [61] Abdollahi, M., Rezaei, M. ve Farzi, G., (2012). "A Novel Active Bionanocomposite Film Incorporating Rosemary Essential Oil and Nanoclay Into Chitosan", Journal of Food Engineering, 111(2): 343-350.
- [62] Seyedi, S., Koocheki, A., Mohebbi, M. ve Zahedi, Y., (2014). "*Lepidium perfoliatum* Seed Gum: A New Source of Carbohydrate to Make a Biodegradable Film", Carbohydrate Polymers, 101: 349-358.
- [63] Khazaei, N., Esmaili, M., Djomeh, Z. E., Ghasemlou, M. ve Jouki, M., (2014). "Characterization of New Biodegradable Edible Film Made from Basil Seed (*Ocimum basilicum* L.) Gum", Carbohydrate Polymers, 102: 199-206.
- [64] Rhim, J. W., Hong, S. I., Park, H. M. ve Ng, P. K., (2006). "Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(16): 5814–5822.
- [65] Marvdashti, L.M., Koocheki, A., Yavarmanesh, M., (2017). "*Alyssum homolocarpum* Seed Gum-Polyvinyl Alcohol Biodegradable Composite Film: Physicochemical, Mechanical, Thermal and Barrier Properties", Carbohydrate Polymers, 155: 280–293.
- [66] Sothornvit, R., Rhim, J.-W. ve Hong, S.-I., (2009). "Effect of Nano-Clay Type on the Physical and Antimicrobial Properties of Whey Protein Isolate/Clay Composite Films", Journal of Food Engineering, 91(3): 468-473.

- [67] Osés, J., Fabregat-Vázquez, M., Pedroza-Islas, R., Tomás, S. A., Cruz-Orea, A. ve I. Maté, J. I., (2009). "Development and Characterization of Composite Edible Films Based on Whey Protein Isolate and Mesquite Gum", *Journal of Food Engineering*, 92: 56–62.
- [68] Cook, N. C. ve Samman, S., (1996). "Flavonoids — Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects, and Dietary Sources", *Nutrition Biochemistry*, 7(2): 66–76.
- [69] Tung, Y., Wu, J., Kuo, Y. ve Chang S., (2007). "Antioxidant Activities of Natural Phenolic Compounds from Acacia Confusa Bark", *Bioresource Technology*, 98(5): 1120–1123.
- [70] Rhim, J.-W., Hong, S.-I. ve Ha, C.-S., (2009). "Tensile, Water Vapor Barrier and Antimicrobial Properties of PLA/Nanoclay Composite Films", *LWT - Food Science and Technology*, 42(2): 612-617.
- [71] Martins, J. T., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A. ve Vicente, A. A., (2013). "Biocomposite Films Based on κ -Carrageenan/Locust Bean Gum Blends and Clays: Physical and Antimicrobial Properties", *Food and Bioprocess Technology*, 6(8): 2081-2092.
- [72] Pola, C. C., Medeiros, E. A. A., Pereira, O. L., Souza, V. G. L., Otoni, C. G., Camilloto, G. P. ve Soares, N. F. F., (2016). "Cellulose Acetate Active Films Incorporated with Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oil and Organophilic Montmorillonite Clay Control the Growth of Phytopathogenic Fungi", *Food Packaging and Shelf Life*, 9: 69–78.
- [73] Kanmani, P. ve Rhim, J. W., (2014). "Physical, Mechanical and Antimicrobial Properties of Gelatin Based Active Nanocomposite Films Containing AgNPs and Nanoclay", *Food Hydrocolloids*, 35: 644-652.
- [74] Vanloot, P., Dupuy, N., Guiliano, M. ve Artaud, J., (2012). "Characterisation and Authentication of *A. senegal* and *A. seyal* Exudates by Infrared Spectroscopy and Chemometrics", *Food Chemistry*, 135(4): 2554–2560.
- [75] Synytsya, A., Čopíková, J., Matějka, P. ve Machovič, V., (2003). "Fourier Transform Raman and Infrared Spectroscopy of Pectins", *Carbohydrate Polymers*, 54(1): 97–106.
- [76] Ranjbar-Mohammadi, M., Hajir Bahrami, S. ve Joghataei, M., (2013). "Fabrication of Novel Nanofiber Scaffolds from Gum Tragacanth/Poly(Vinyl Alcohol) for Wound Dressing Application: in vitro Evaluation and Antibacterial Properties", *Materials Science and Engineering: C*, 33: 4935-4943.
- [77] Sherahi, M.H., Fathi, M., Zhandari, F., Hashemi, S. M.B. ve Afshin Rashidi, A., (2017). "Structural Characterization and Physicochemical Properties of *Descurainia sophia* Seed Gum", *Food Hydrocolloids*, 66: 82–89.
- [78] Wang, N., Zhang, X., Han, N. ve Bai, S., (2009). "Effect of Citric Acid and Processing on the Performance of Thermoplastic Starch/Montmorillonite Nanocomposites", *Carbohydrate Polymers*, 76(1): 68–73.

- [79] Rhim, J. W., (2011). "Effect of Clay Contents on Mechanical and Water Vapor Barrier Properties of Agar-Based Nanocomposite Films", *Carbohydrate Polymers*, 86(2): 691–699.
- [80] www.ambalaj.org.tr, 30 Mart 2017.
- [81] Öztürk, S., (2009). Farklı Ozon Konsantrasyonlarının ve Ozonlama Sürelerinin Plastik Filmlere Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze.
- [82] Feyzioğlu, G. C., (2016). *Satureja hortensis* L. Uçucu Yağı Yüklenmiş Kitosan Nanopartiküllerinin ve Kitosan Filmlerin Üretimi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [83] Xu, Y., Ren, X. ve Hanna, M. A., (2006). "Chitosan/Clay Nanocomposite Film Preparation and Characterization", *Journal of Applied Polymer Science*, 99(4): 1684-1691.
- [84] Jang, S. A., Lim, G. O., Song, K. B., 2010. "Use of Nano-Clay (Cloisite Na+) Improves Tensile Strength and Vapour Permeability in Agar Rich Red Algae (*Gelidium corneum*)–Gelatin Composite Films", *International Journal of Food Science & Technology*, 45(9): 1883-1888.
- [85] Deveci, S., (2012). Plastik Ekstrüzyon Ürünlerinde Gaz Geçiş Özelliklerinin İncelenmesi ve Geliştirilmesi, Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [86] Kumar, P., Sandeep, K. P., Alavi, S., Truong, V. D. ve Gorga, R. E., (2010). "Preparation and Characterization of Bio-nanocomposite Films Based on Soy Protein Isolate and Montmorillonite Using Melt Extrusion", *Journal of Food Engineering*, 100(3): 480–489.
- [87] Alboofetileh, M., Rezaei, M., Hosseini, H. ve Abdollahi, M., (2013). "Effect Of Montmorillonite Clay and Biopolymer Concentration on the Physical and Mechanical Properties of Alginate Nanocomposite Films", *Journal of Food Engineering*, 117(1): 26–33.
- [88] Almasi, H., Ghanbarzadeh, B. ve Entezami, A. A., (2010). "Physicochemical Properties of Starch–CMC–Nanoclay Biodegradable Films", *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(1): 1-5.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Saliha MEMİŞ
Doğum Tarihi ve Yeri : 1992-Ankara
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : salihamemis92@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y.Lisans	Gıda Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2017
Lisans	Gıda Mühendisliği	Erciyes Üniversitesi	2015
Lise	Fen Bilimleri	Necip Sarıbekir Lisesi	2009

YAYINLARI

Bildiri

1. Memiş, S. ve Törnük, F., (2016). “Çemen Tohumu Gamı Bazlı Nisin İçeren Biyobozunur Filmlerin Üretimi ve Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi”, Türkiye 12. Gıda Kongresi Bildiri Kitabı, 05-07 Ekim 2016, Edirne, 543.