

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MODİFİYE NANOKİLLERİN BİYOBOZUNUR GIDA
AMBALAJLARINDA KULLANIMI

Kerem İLASLAN

DOKTORA TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK

Eş Danışman

Doç. Dr. M. Zeki DURAK

Temmuz, 2022

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MODİFİYE NANOKİLLERİN BİYOBOZUNUR GIDA
AMBALAJLARINDA KULLANIMI**

Kerem İLASLAN tarafından hazırlanan tez çalışması 06.07.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Doç. Dr. M. Zeki DURAK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Muhammet ARICI, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Salih KARASU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üye. Celale KIRKIN, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üye. Furkan DEMİRGÜL, Üye
Doğuş Üniversitesi

Danışmanım Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK sorumluluğunda tarafımca hazırlanan “Modifiye Nanokillerin Biyobozunur Gıda Ambalajlarında Kullanımı” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Kerem İLASLAN

İmza



Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FDK-2019-3584 numaralı projesi ile desteklenmiştir.



*Sevgili aileme,
biricik eşime ve
kızıma...*

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın konusunun belirlenmesinde ve her aşamasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan değerli Danışman Hocam Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK'e ve Eş-danışman Hocam Doç. Dr. M. Zeki DURAK'a;

Tez İzleme Komitesi'nde tez çalışmama katkı veren değerli Hocam Dr. Öğr. Üyesi Celale KIRKIN GÖZÜKIRMIZI'ya;

Laboratuvar çalışmalarında bana destek veren Arş. Gör. Perihan Kübra AKMAN'a, Arş. Gör. Fatih BOZKURT'a, Arş. Gör. Muhammed ÖZGÖLET'e ve Yıldız Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü personeli ve lisansüstü öğrencilerine;

Çalışmalarım için bana laboratuvar imkânlarını açan ve süreç boyunca desteklerini eksik etmeyen Özyeğin Üniversitesi'ne ve değerli Hocalarına;

Laboratuvar çalışmalarında birlikte zaman geçirdiğimiz arkadaşlarıma;

Çalışma süresince maddi ve manevi desteklerini eksik etmeyen annem, babam, eşim ve kızım başta olmak üzere sevgili aileme;

FDK-2019-3584 no'lu proje ile tezimi destekleyen Yıldız Teknik Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na;

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Kerem İLASLAN

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	ix
KISALTMA LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xii
TABLO LİSTESİ	xiv
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.1.1 Nanoteknolojinin Gıda Ambalajlamasında Kullanımı.....	2
1.1.2 Nanokillerin Özellikleri	3
1.1.3 Katyonik Sürfaktanlar.....	9
1.1.4 Polimer-Kil Nanokompozitlerinde (PKN) Nanokillerin Sahip Olduğu İşlevler	10
1.1.5 Nanokillerin Organomodifikasyonu ve PKN Üretimindeki Rolü ...	12
1.1.6 PKN'lerin Gıda Muhafazasında Kullanımı	14
1.1.7 Gümüş İyonlarının PKN Üretiminde Kullanılması	17
1.1.8 Polikaprolakton (PCL)	20
1.2 Tezin Amacı.....	23
1.3 Hipotez	23
2 MATERYAL VE YÖNTEM	25
2.1 Materyal	25
2.2 Modifiye Nanokillerin Hazırlanması	25
2.2.1 Nanokillerin Organomodifikasyonu.....	27
2.2.2 Nanokillerin Gümüş Nitrat ile Etkileştirilmesi.....	28
2.3 Modifiye Nanokillerin Karakterizasyonu	29
2.3.1 Zeta Potansiyel ve Partikül Boyutu Ölçümü.....	29
2.3.2 Nanokil Örneklerinin Su İle Temas Açılarının (Contact Angle) Ölçümü.....	30
2.3.3 X-Işını Difraksiyonu (XRD) Analizi	31

2.3.4	Zayıflatılmış Toplam Yansıma- Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (ATR-FTIR) Spektroskopisi Analizi	31
2.3.5	İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) Analizi	31
2.3.6	Gümüş Modifiye Nanokillerdeki (GMN) Gümüş İyonlarının <i>in vitro</i> Salım Analizi	32
2.3.7	Renk Özellikleri.....	32
2.3.8	GMN'lerin Yüzey Morfolojilerinin TEM ve SEM ile İncelenmesi...	33
2.3.9	Nanokillerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	33
2.3.10	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC) Testleri	35
2.4	Polimer-Kil Nanokompozitlerin (PKN) Üretimi	35
2.5	PKN'lerin Karakterizasyonu	36
2.5.1	PKN'lerin Film Kalınlıkları	36
2.5.2	PKN'lerin Mekanik Özellikleri.....	37
2.5.3	PKN'lerin Renk Özellikleri	37
2.5.4	PKN'lerin Su Buharı Geçirgenliği	37
2.5.5	PKN'lerin Oksijen Geçirgenliği.....	38
2.5.6	Taramalı Diferansiyel Kalorimetri (DSC) Analizi	39
2.5.7	ATR-FTIR Spektroskopisi Analizi	39
2.5.8	Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) Görüntüleri.....	40
2.5.9	PKN'lerin Antibakteriyel Aktiviteleri	40
2.6	Gıda Denemeleri.....	41
2.6.1	Sığır Kıyması	41
2.6.2	Ekmek	42
2.6.3	İstatistiksel Analizler	45
3	BULGULAR VE TARTIŞMA	46
3.1	Modifiye Nanokillerin Karakterizasyonu	46
3.1.1	Nanokillerin Zeta Potansiyeli ve Partikül Boyutu	46
3.1.2	Nanokillerin Hidrofilik/Hidrofobik Özellikleri	50
3.1.3	Nanokillerin XRD Desenleri	50
3.1.4	Nanokillerin Yapısal Özellikleri	53
3.1.5	Modifiye Nanokillerin Ağır Metal/Ag İçeriği.....	54
3.1.6	Modifiye Nanokillerin <i>in vitro</i> Ag Salımı.....	55
3.1.7	Nanokillerin Renk Değerleri	57

3.1.8	Modifiye Nanokillerin Yüzey Morfolojileri	58
3.1.9	Nanokillerin Antimikrobiyal Etkisi.....	61
3.1.10	Modifiye Nanokillerin MIC ve MBC Değerleri.....	63
3.2	PKN'lerin Karakterizasyonu	65
3.2.1	PKN'lerin Film Kalınlığı	65
3.2.2	PKN'lerin Mekanik Özellikleri.....	65
3.2.3	PKN'lerin Renk Değerleri	67
3.2.4	PKN'lerin Su Buharı Geçirgenliği	70
3.2.5	PKN'lerin Oksijen Geçirgenliği.....	71
3.2.6	PKN'lerin Termal Özellikleri	73
3.2.7	PKN'lerin Yapısal Özellikleri	77
3.2.8	PKN'lerin Yüzey Yapısal Özellikleri.....	79
3.2.9	PKN'lerin Antimikrobiyal Özellikleri.....	80
3.3	PKN'lerin Gıda ile Denemeleri.....	81
3.3.1	PKN'lerin Sığır Kıymasının Raf Ömrüne Etkisi	82
3.3.2	PKN'lerin Ekmeğin Raf Ömrüne Etkisi	86
4	SONUÇ VE ÖNERİLER	91
	KAYNAKÇA	96
	TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	114

SİMGE LİSTESİ

Å	Angström
R ²	Coefficient of determination - belirleme katsayısı
Ag ⁺	Gümüş iyonu
J	Joule
kg	Kilogram
kV	Kilovolt
L*	Lightness - parlaklık
MPa	Megapaskal
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mW	Miliwatt
M	Molar
nm	Nanometre
N	Normal
°C	Santigrad derece
cm	Santimetre
ΔE	Toplam renk farkı

KISALTMA LİSTESİ

ANOVA	Varyans analizi
ASTM	American Society for Testing and Materials
ATCC	American type culture collection - Amerikan tip kültür koleksiyonu
AFS	Atomic floresance spectrometer - atomik floresans spektrometresi
ATR-FTIR	Attenuated total reflectance - fourier transformation infrared - Zayıflatılmış toplam yansıma- fourier dönüşümlü kızılötesi
CMC	Critical Mycelle Concentration - kritik misel konsantrasyonu
CTAB	N-Setil-N, N, N-trimetilamonyum bromit
DRBC	Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol
DSC	Differential scanning calorimeter - taramalı diferansiyel kalorimetri
FAAS	Flame atomic absorption spectrometer - alevli atomik absorpsiyon spektrometresi
GFAAS	Graphite furnace atomic absorption spectrometer - grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi
GMN	Gümüş modifiye nanokil
HNT	Halloysit
ICP-MS	Inductively coupled plasma - mass spectrometer - indüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi
ICP-OES	Inductively coupled plasma - optical emission spectrometer - indüktif olarak eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi
IR	Infrared - kızılötesi
kob	Koloni oluşturan birim
LAB	Laktik asit bakterisi
LDPE	Low density polyethylene - düşük yoğunluklu polietilen
LLPDE	Linear low density polyethylene lineer - düşük yoğunluklu polietilen
LOD	Limit of Detection – tespit sınırı
LSD	Least significant difference - en küçük önem farkı
MBC	Minimum bactericidal concentration - minimum bakterisidal konsantrasyonu
MIC	Minimum inhibition concentration - minimum inhibisyon konsantrasyonu
MMT	Montmorillonit

MRS	De Man, Rogosa and Sharpe
NB	Nutrient Broth
NCS	Nanoformdaki kalsiyum silikat
OMN	Organomodifiye nanokil
ORS	Octopol reaction system - octopol reaksiyon sistemi
PA	Poliamid
PCA	Principle component analysis - temel bileşen analizi
PC Agar	Plate count agar
PCL	Polikaprolakton
PDAC	Poli diallil dimetil amonyum klorit
PDLLA	Poli-DL-laktik asit
PE	Polietilen
PKN	Polimer-kil nanokompozitleri
PLA	Polilaktik asit
PLGA	Poli laktik-ko-glikolik asit
PP	Polipropilen
PS	Polisitren
PVC	Polivinilklorit
ROS	Reactive oxygen species - reaktif oksijen türleri
rpm	Revolutions per minute – dakikadaki devir sayısı
SEM	Scanning electron microscopy - taramalı elektron mikroskobu
TK	Toplam koliform
TMAB	Toplam mezofilik aerobik bakteri
TPA	Two comprassion analysis - çift kompresyon testi
UV	Ultra viyole
WVP	Water vapor permeability – su buharı geçirgenliği
XRD	X-Ray Diffraction - X ışını difraksiyonu

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 Silikatların ana ve alt grupları [15,16]	5
Şekil 1.2 Halloysitin SEM görüntüsü [22]	7
Şekil 1.3 Halloysit nanotüpünün yapısı [23]	7
Şekil 1.4 Silikatların genel yapısı [27]	8
Şekil 1.5 N-Setil-N, N, N-trimetil amonyum bromitin (CTAB) moleküler yapısı..	9
Şekil 1.6 Diallil dimetil amonyum klorit (a) ve poli diallil dimetil amonyum kloritin (PDAC) (b) moleküler yapıları.....	9
Şekil 1.7 a) Gaz moleküllerinin polimer içerisinden geçişi b) PKN içerisinden geçiş yapan maddelerin izlediği yol [37]	12
Şekil 1.8 Nanokillerin bazal boşlukları: (a) modifiye edilmemiş nanokil, (b) tek katyonla modifiye edilmiş nanokil, (c) çift katyon ile modifiye edilmiş nanokil [41]	13
Şekil 1.9 Nanokillerin polimer matriks içerisindeki farklı dağılım şekilleri [42]	14
Şekil 1.10 Metalik tabanlı nanokompozitlerin aktif paketleme sistemlerinde geliştirilmesinde kullanılan malzemeler [53]	17
Şekil 1.11 PCL tanecikleri	22
Şekil 2.1 Nanokillerin organomodifikasyonu ve gümüş nitrat ile modifikasyonu (BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)	26
Şekil 2.2 Nanokillerin modifikasyonlarının nano ölçekteki mekanizması (BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)	26
Şekil 2.3 Nanokiller ve sürfaktanların manyetik karıştırıcıda karıştırılması.....	28
Şekil 2.4 Kurutma fırınındaki modifiye edilmiş nanokiller	29
Şekil 2.5 Tansiyometre ihazı (Dataphysics DCAT 11EC, Almanya)	30
Şekil 2.6 Nanokompozit film üretimi ve karakterizasyonu (BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)	36
Şekil 2.7 Üretimi yapılan ekmekler	43
Şekil 2.8 PKN ile kaplanmış ekmek örnekleri 1) PCL-MMT+CTAB20+Ag, 2) PCL-HNT+CTAB10+Ag, 3) PCL-MMT, 4) PCL-HNT, 5) Kontrol ve 6) LDPE film.....	43
Şekil 3.1 Yüzey aktif madde konsantrasyonuna karşı nanokillerin Zeta potansiyel değerlerinde meydana gelen değişim	48
Şekil 3.2 HNT ve modifiye edilmiş HNT örneklerinin XRD desenleri	52
Şekil 3.3 MMT ve modifiye edilmiş MMT örneklerinin XRD desenleri	52
Şekil 3.4 Gümüş ile modifiye edilen ve edilmeyen nanokillerin ATR-FTIR spektroskopisi grafikleri	54

Şekil 3.5 1344 cm ⁻¹ dalga boyunda nanokildeki Ag ⁺ iyonlarının zamana bağlı olarak ATR-FTIR absorbanslarındaki değişim ve kalibrasyon grafikleri	56
Şekil 3.6 GMN'lerden suya geçen Ag ⁺ iyonlarının ATR-FTIR absorbanslarının zamana bağlı olarak değişimleri.....	57
Şekil 3.7 GMN'lerin SEM micrografları: a) MMT+Ag, b) MMT+CTAB20+Ag, c) MMT+PDAC20+Ag, d) HNT+Ag, e) HNT+CTAB10+Ag ve f) HNT+PDAC20+Ag.....	60
Şekil 3.8 GMN'lerin TEM micrografları: a) MMT+Ag, b) MMT+CTAB20+Ag, c) MMT+PDAC20+Ag, d) HNT+Ag, e) HNT+CTAB10+Ag ve f) HNT+PDAC20+Ag.....	61
Şekil 3.9 Film örneklerinin çekme direnci ve kopma anındaki uzama değerleri	67
Şekil 3.10 Film örneklerinin fotoğrafları a) Kontrol, b) PCL-MMT, c) PCL-HNT, d) PCL-MMT+CTAB20+Ag, e) PCL-MMT+PDAC20+Ag, f) PCL-HNT+CTAB10+Ag ve g) PCL-HNT+PDAC20+Ag	69
Şekil 3.11 Filmlerin zamana karşı atmosferden geçirdikleri nem miktarı.....	71
Şekil 3.12 Farklı filmler ile kapatılmış ayçiçek yağlarının peroksit sayıları.....	73
Şekil 3.13 Kontrol filminin DSC termogramı.....	75
Şekil 3.14 Film örneklerinin erime termogramları	76
Şekil 3.15 Film örneklerinin kristalizasyon termogramları.....	76
Şekil 3.16 Filmlerin ATR-FTIR spektrumları	78
Şekil 3.17 Film örneklerinin ATR-FTIR spektrumlarından elde edilen iki boyutlu Coomans grafiği.....	79
Şekil 3.18 Film yüzeylerinin SEM mikrografları. a) PCL-MMT+CTAB20+Ag, b) PCL-HNT+CTAB10+Ag, c) PCL-MMT, d) PCL-HNT ve e) Kontrol... 80	

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1 Halloysitin bazı fiziksel özellikleri [22]	7
Tablo 1.2 Farklı molekül ağırlığına sahip PCL'lerin fiziksel özellikleri [92]	22
Tablo 3.1 OMN'lerin mV cinsinden Zeta potansiyelleri	47
Tablo 3.2 OMN ve GMN'lerin Zeta potansiyel değerlerinin karşılaştırması	49
Tablo 3.3 Nanokillerin partikül boyutları.....	49
Tablo 3.4 OMN ve GMN'lerin saf su ile temas açıları	50
Tablo 3.5 ICP-MS ile elde edilen nanokil örneklerindeki Ag ⁺ miktarı	55
Tablo 3.6 Gümüş iyonları içeren ve içermeyen nanokillerin renk değerleri.....	58
Tablo 3.7 Nanokil örneklerinin antibakteriyel etkisi	63
Tablo 3.8 GMN'lerin MIC (mg/mL) ve MBC (mg/mL) değerleri	64
Tablo 3.9 Filmlerin kalınlıkları	65
Tablo 3.10 Nanokil içeren ve içermeyen film örneklerinin renk değerleri	69
Tablo 3.11 Filmlerin su buharı geçirgenlikleri	71
Tablo 3.12 Filmlerin termal özellikleri.....	75
Tablo 3.13 Gıda denemelerinde kullanılan PKN'lerin inhibisyon çaplarına (mm) göre antimikrobiyal aktiviteleri.....	81
Tablo 3.14 PKN'ler ile paketlenmiş kıyma örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) yükünün zamana karşı değişimi, log10 (kob/g) ...	82
Tablo 3.15 PKN'ler ile paketlenmiş kıyma örneklerinin toplam koliform bakteri (TK) yükünün zamana karşı değişimi, log10 (kob/g)	83
Tablo 3.16 PKN'ler ile paketlenmiş kıyma örneklerinin toplam laktik asit bakterisi (LAB) yükünün zamana karşı değişimi, log10 (kob/g)	84
Tablo 3.17 PKN'ler ile paketlenmiş kıyma örneklerinin pH değerlerinin günlere göre değişimi	86
Tablo 3.18 PKN'ler ile paketlenmiş ekmek örneklerinin toplam küf/maya yükünün zamana karşı değişimi, log10 (kob/g).....	87
Tablo 3.19 PKN'ler ile paketlenmiş ekmek örneklerinin mekanik özellikleri	88
Tablo 3.20 PKN'ler ile paketlenmiş ekmek örneklerinin renk değerlerinin günlere göre değişimi	89
Tablo 3.21 PKN'ler ile paketlenmiş ekmek örneklerinin pH değerlerinin günlere göre değişimi	90

Modifiye Nanokillerin Biyobozunur Gıda Ambalajlarında Kullanımı

Kerem İLASLAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK

Eş-Danışman: Doç. Dr. M. Zeki DURAK

Dünya üzerinde gıdaya olan talep gün geçtikçe artarken bu talebi karşılayacak kaynaklar sınırlı kalmaktadır. Bu nedenle gıda bilimciler gıdaların üretiminin yanında onların muhafazasının sağlanması konusunda da çalışmalar yapmaktadır. Gıdaların muhafaza yöntemlerinden biri de nanokompozit ambalaj filmleridir. Ambalaj filmlerinin gıdayı korumasının yanında biyobozunur özellikte olması kalıcı kirliliği azaltarak doğanın korunmasını sağlamaktadır. Bu çalışmada, doğada yaygın olarak bulunan halloysit ve montmorillonit nanokilleri polimer ile interkalasyonunu artırabilmek için çeşitli sürfaktanlar ile organomodifiye edilmiştir. Daha sonra gümüş nitrat ile etkileştirilerek nanokillere antimikrobiyal özellik kazandırılmıştır. Antimikrobiyal özellikteki organomodifiye nanokillerin Zeta potansiyel, partikül boyutu, temas açısı, spektroskopik, renk, *in vitro* salım, morfolojik ve antimikrobiyal analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen modifiye nanokil numuneleri biyobozunur özellikteki polikaprolakton (PCL) polimeri içerisine %5 oranında katılarak solvent döküm yöntemi ile nanokompozit filmler üretilmiştir. Filmlerin mekanik, bariyer, termal, morfolojik, renk, spektroskopik ve

antimikrobiyal karakterizasyonları yapılmıştır. Nanokompozit filmler ayrıca sığır kıyması ve ekmek olmak üzere 2 model gıda üzerinde test edilmiştir. Nanokompozit filmlerin saf PCL filme göre sırası ile çekme direnci ve kopma anındaki uzama miktarı en fazla %40 ve %262 oranında artmıştır. Nanokompozit filmlerin oksijen ve su buharı geçirgenliği ise saf PCL filme göre sırası ile en fazla %37 ve %71 oranında azalmıştır. Termal analizlerde nanokil ilavesinin PCL'nin erime sıcaklığını çok etkilemediği ancak kristalizasyon sıcaklığını yaklaşık 1 °C artırdığı görülmüştür. Taramalı elektron mikrokopisi, organomodifiye edilen nanokillerin polimer içerisinde daha düzgün bir dağılımı olduğunu göstermiştir. Nanokompozit filmler gıda patojenleri olan Gram-pozitif *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve Gram-negatif *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium bakterileri üzerine inhibisyon etkisi göstermiştir. Nanokompozit filmler ile ambalajlanan ve depolanan sığır kıymasındaki toplam mezofilik aerobik ve toplam koliform bakteri gelişimi saf PCL filme göre yaklaşık 1 log10 kob/g kadar azalma gösterirken, nanokompozit filmlerin laktik asit bakterilerinin üzerinde sınırlı bir etkisi olmuştur. Ekmekte ise küf/maya gelişimini yavaşlatmıştır. Bu bulgular gümüş ile antimikrobiyal özellik kazandırılmış halloysit ve montmorillonitin PCL filmlere katıldığında gıdalardaki mikrobiyal gelişmeyi yavaşlatarak gıdaların bozulmasını yavaşlattığını göstermektedir. Bunun yanında PCL filmlerin mekanik ve gaz bariyer özellikleri de iyileştirilerek kullanım özellikleri geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Montmorillonit, halloysit, organomodifikasyon, gümüş nitrat, nanokompozit film

The Use of Modified Nanoclays into the Biodegradable Food Films

Kerem İLASLAN

Department of Food Engineering
Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih TÖRNÜK
Co-supervisor: Assoc. Prof. Dr. M. Zeki DURAK

While the demand for food in the world is increasing day by day, the resources to meet this demand remain limited. For this reason, food scientists are working on the production of foods as well as their preservation. One of the preservation methods of foods is nanocomposite packaging films. Besides protecting food by packaging films, biodegradable property of them may reduce permanent pollution and provide nature protection. In this study, halloysite and montmorillonite nanoclays, which are common in nature, were organomodified with various surfactants in order to increase their intercalation with polymer. Then, by interacting with silver nitrate, the nanoclays were given antimicrobial properties. Zeta potential, particle size, contact angle, spectroscopic, color, *in vitro* release, morphological, and antimicrobial analyzes of organomodified nanoclays with antimicrobial properties were performed. The obtained modified nanoclay samples were added to the biodegradable polycaprolactone (PCL) polymer at a rate of 5% to produce nanocomposite films by solvent casting method. Nanocomposite films were characterized by performing mechanical, gas permeability, thermal, morphological, color, spectroscopic and antimicrobial analyzes. The nanocomposite films were also tested on 2 models of food, beef

mince and bread. The tensile strength and elongation at break of the nanocomposite films increased by 40% and 262%, respectively, compared to the pure PCL film. The oxygen and water vapor permeability of the nanocomposite films decreased by 37% and 71%, respectively, compared to the pure PCL film. In thermal analysis, it was observed that the addition of nanoclay did not affect the melting temperature of PCL much, but increased the crystallization temperature by about 1 °C. Scanning electron microscopy showed a more uniform distribution of organomodified nanoclays. Nanocomposite films showed inhibition effect on food pathogen bacteria Gram-positive *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and Gram-negative *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium. While the growth of total mesophilic aerobic and total coliform bacteria in ground beef packaged and stored with nanocomposite films decreased by about 1 log₁₀ cfu/g compared to pure PCL film, nanocomposite films had a limited effect on lactic acid bacteria. In bread, it slowed down the growth of mold/yeast growth. These findings show that when halloysite and montmorillonite, which have antimicrobial properties with silver, are added to PCL films, they can slow down the spoilage of foods by slowing down the microbial growth in foods. In addition, the mechanical and gas barrier properties of PCL films have been enhanced and their handling properties have been improved.

Keywords: Montmorillonite, halloysite, organomodification, silver nitrate nanocomposite film

1.1 Literatür Özeti

Nanopartiküller fiziksel ve kimyasal özellikleri geliştirilmiş bir grup maddelerdir. 1 ile 100 nanometre arasındaki boyutlarda olmaları, nanopartiküllerin mekanik, termal, optik ve elektrolitik özellikleri üzerinde önemli etkisi vardır. Bu nano boyutlarda nanopartiküller hacimlerine oranla maksimum yüzey alanı limitlerine yaklaşmaktadır ve bu sayede çok daha fazla yüzey yükü ihtiva edebilmektedir [1]. Nanopartiküller sahip oldukları fiziksel avantajların yardımı ile çok çeşitli polimerlerin yapısına dolgu ve katkı maddesi olarak katılabilmektedir. Böylece katıldığı polimere yeni ve faydalı pekçok fiziksel özellikler katabilmektedir [2]. Nanopartiküller olarak adlandırılan grubun bir üyesi de nanokillerdir. Nanokillerin polimerler içerisine katılmasıyla oksijen, karbondioksit ve su buharı gibi atmosfer gazlarına karşı etkin bir bariyer özelliği kazandırılabilir. Gıda ambalajlarına bu özelliğin sağlanması ile yüksek su içeriğinde oluşabilecek bakteri, maya ve küf kaynaklı mikrobiyal gelişimi azaltarak ürünlerin daha uzun bir raf ömrü kazandırılmakta ve gıdaların kalitesi korunmaktadır [3], [4]. Nanokillerin genel yapısı tabakalı halde bulunan silikat katmanlarından oluşmaktadır [5]. Ambalaj filmi uygulamalarında doğada bol miktarda bulunan halloysit ve montmorillonit nanokilleri sıklıkla kullanılmaktadır. Halloysitin yapısı uzunlamasına katmanlı tübüler yapılar ile karakterize edilmektedir. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda küresel, kısa tübüler ve yassı formlarda partikül yapısında olabileceği de ortaya konulmuştur [6]. Halloysitin aksine montmorillonit nanokilleri düz iki tetrahedral tabaka arasında bir octahedral tabakanın girmesi ile oluşan çok katmanlı bir yapı göstermektedir [7]. Doğal olarak oluşan nanokillerin, polimerlerin içerisine katılması sırasında galeri adı verilen boşluklarına polimerin homojen nüfuz ederek düzgün bir karışımın elde edilmesi filmin fiziksel özelliklerinin gelişmesinde önemli bir yere sahiptir. Bu amaçla organomodifikasyon adı verilen bir işlem ile galeri boşlukları artırılmaktadır. Organomodifikasyon işleminde çeşitli organik (çoğu zaman uzun

karbon zincirli) bileşikler nanokillerin ara yüzeyinin modifikasyonunda kullanılmaktadır. Bu bileşikler sürfaktan olarak da adlandırılmaktadır. Katyonik sürfaktanlar ile nanokillerin yüzeyi çeşitli fonksiyonel gruplar ile modifiye edilerek hem pozitif olarak yüklenmekte hem de hidrofobik bir karakter kazanmaktadır. Organomodifikasyon nanokillerin polimerleri adsorbe yeteneğini artırmaktadır [8]. Gıdalar için kullanılan ambalaj filmlerinde nanokiller ile beraber gümüş iyonları gibi ajanların kullanılması filmin antimikrobiyal özelliğini artırmaktadır. Nanokil – gümüş iyonu kompleksi mikroorganizmalar üzerinde sinerjistik bir etki bırakarak onları hem daha fazla inhibe etmekte hem de antimikrobiyal film üretimindeki giderleri azaltmaktadır [9].

1.1.1 Nanoteknolojinin Gıda Ambalajlamasında Kullanımı

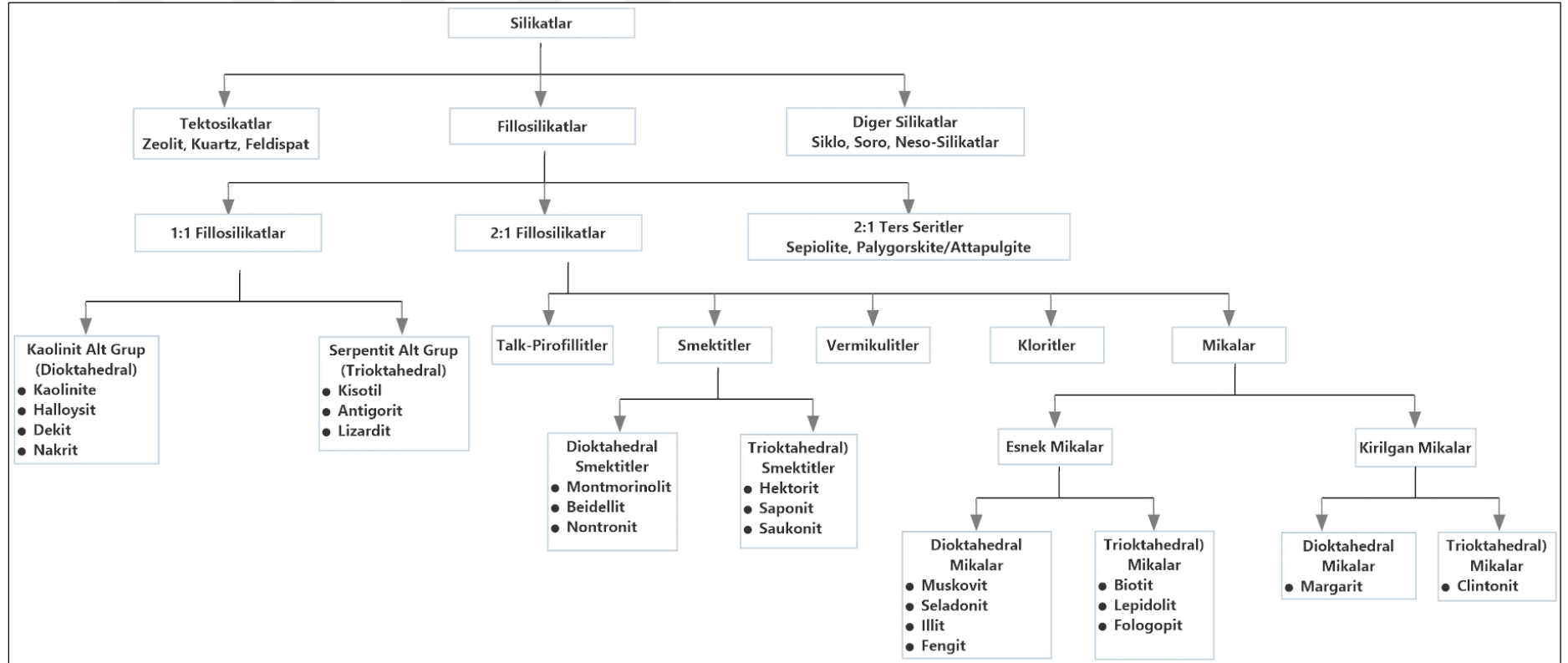
Nanoteknoloji kimya ve malzeme mühendisliği, biyoteknoloji ve endüstriyel proses teknolojilerini kombine eden multidisipliner bir bilim dalıdır. Bu bilim dalı aynı zamanda gıda muhafazası ve ambalajlamada da bazı problemleri çözmede aktif bir rol üstlenmektedir. Nanoteknoloji hakkında genel bir tanımlama yapılırsa malzemelerin, yapıların, cihazların ve fonksiyonel sistemlerin nanometre boyutunda imalat ve kontrolü ile yeni konsept özellikler üretmektir. Nanoteknoloji ve nanobilim dallarının ilgi alanı 100 nm'den 0,2 nm boyutundaki atomik seviyelere kadar olan atom, molekül, nanopartikül, nanotüpler gibi yapılardır [5]. Nanometre ölçeğindeki parçacıklar özel optik özellikleri, yüksek katalitik aktiviteleri ve büyük boyutlu muadillerine kıyasla alışılmadık mekanik özellikleri nedeniyle yeni malzemelerin sentezi için ilgi çekici bir araştırma alanı olmaktadır [10]. Maddeler bu büyüklük seviyelerinde orijinal formlarında gösterdiklerinden farklı olarak yeni fiziksel ve kimyasal özellikler göstermektedir. Bu yeni özelliklerin keşfi daha çevreci yaklaşımlar için bilim insanlarına yeni hedefler kazandırmaktadır. Nanoyapılar farklı boyutlar ile sınırlandırılmaktadır. Kuantum noktaları gibi yapılar sıfır boyutlu, nanorotlar ve nanotüpler tek boyutlu, nano incelikteki filmler iki boyutlu ve bazı nanomateryaller üç boyutlu yapıda olabilmektedir. Nanopartiküller başka polimerler, biyomoleküller, diğer nanopartiküller ya da kendi agrege formu ile görece daha büyük nanokompozit yapılar meydana getirmektedir. Bu nanopartiküllerin çözünürlüğü, toksisitesi,

gücü, manyetizması, difüzyonu, optik özellikleri, rengi ve termodinamiği benzersiz fiziko-kimyasal karakteristikleri arasındadır [11]. Nanopartiküller gıda muhafazası, yanık pansumanı, güvenli kozmetik ürünler, tıbbi cihazlar, su arıtma cihazları ve çeşitli diğer ticari ürünler gibi geniş uygulamalarda kullanılmaktadır [12]. Özellikle gıda teknolojisi alanında gıdalarda raf ömrünün artırılması, kontaminantların takibi ve izlenmesi, sağlığa yararlı supplementlerin ve antimikrobiyal maddelerin gıdalara katılması nanoteknoloji ile mümkün olabilmektedir [13]. Nanoteknolojinin ambalajlama sektöründe kullanılması gıdaların raf ömürlerini artırarak daha uzun süreler bozulmadan kalabilmesini sağlamaktadır. Bu sayede dünyadaki gıda arzının uzatılması ile olası gıda krizlerinin önüne geçilebilmektedir. Ayrıca gıda üretiminde yetersiz kalan bölgelere raf ömrü uzun gıdaların temini daha kolay olmaktadır [14].

1.1.2 Nanokillerin Özellikleri

Killer doğada plastik yapıda bulunan ve ince granüllü ya da daha kalın yapıdaki minerallerdir. Kendilerine plastik özellik veren suyun yapılarından kurutma ya da yakma ile uzaklaştırılmasıyla sertleştirilmektedir. Genellikle içerisinde su içeren hidrate fillosilikat formda olan killerin yapılarının plastikleştirilmesi ya da kurutma-yakma gibi işlemlerden geçerek sertleşmesi sırasında diğer materyaller yapılarına girebilmektedir. Killeri diğer ince granüllü topraklardan ayıran özellikleri minerolojisi ve boyutlarıdır [15]. Fillosilikat formdaki killerin en ayırt edici özelliği tabakalı yapılarının silisyum, metal iyonları (Al, Mg, Fe), oksijen ve hidroksil grubu içeren tetrahedral ve oktahedral yapılardan oluşmasıdır. Şekil 1.1'de silikatların ana ve alt grupları yer almaktadır. Killerin geokimyasal önemi farklı bölgelerdeki topraklarda ve çökeltilerde dağılmış halde bulunması, yüksek spesifik yüzey alanları ve iyon değiştirme kapasiteleri ile tanımlanmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı killer tarih boyunca endüstride geniş bir alanda kullanılmıştır. 25000 yıl önce insanlar killeri seramik objeler ve çanak-çömlek yapımında sıklıkla kullanmaktaydı. Zamanımıza dönüldüğünde killer tarım, gıda, çevre, seramik, nanokompozit materyaller, petrol sondajı, atık arıtımı, metal ve kağıt endüstrileri alanlarında geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Kimya sanayiinde ise killer adsorbent, renk giderici, iyon değiştirici, moleküler filtre katalisti gibi

görevlerde kullanılmaktadır [16]. Killer oktahedral ve tetrahedral tabakalarının dizilimine göre üç kısma ayrılmaktadır. Bu oranlar 1:1, 2:1 ve 2:1:1 olarak sıralanmaktadır. 1:1 dizilimi bir oktahedral ile bir tetrahedral bitişik, 2:1 dizilimi bir oktahedral iki tetrahedral arasında sandiviç yapıda ve 2:1:1 dizilimi bir oktahedralin bir 2:1 dizilimine komşu olarak bulunmasıyla oluşmaktadır [2]. Oktahedral yapı iki silika tetrahedral tabaka arasına difüze olmuştur ve oktahedral yapıdaki oksijen atomları tetrahedral yapılar ile birlikte kullanılmaktadır. Bu üçlü yapının lateral boyutu 1 nm'den birkaç mikrona kadar değişmektedir. Bu farklılık kilin kaynağı, parçacık yapısı ve gördüğü işlem ile oluşmaktadır. Bu tabakalar üstüste gelerek kitap benzeri yapılar oluşturmaktadır. Bunun sonucunda tabakalar arasında oluşan van der Waals boşluklarına galeri ya da arakatman denilmektedir. Bu paralel tabakalar zayıf elektrostatik kuvvetler ile birarada durmakta ve oluşan galeriye su, organik katyonlar ve polar organik sıvılar penetre olabilmektedir [17]. Tetrahedral ya da oktahedral yapıların yüzeyindeki Al^{+3} 'nin Mg^{+2} ile ya da Fe^{+2} 'nin Li^{+1} ile izomorfik yer değiştirmesi bu yüzeylerin görece negatif yüklenmesine ve yer alkali katyonlarının galerilere yerleşmesine neden olmaktadır. Yer değiştirme reaksiyonu tetrahedral yapının yüzeyinde gerçekleştiği için polimer matriksler oktahedral yapılara göre tetrahedral yapılara daha çok nüfuz etmektedir [18].



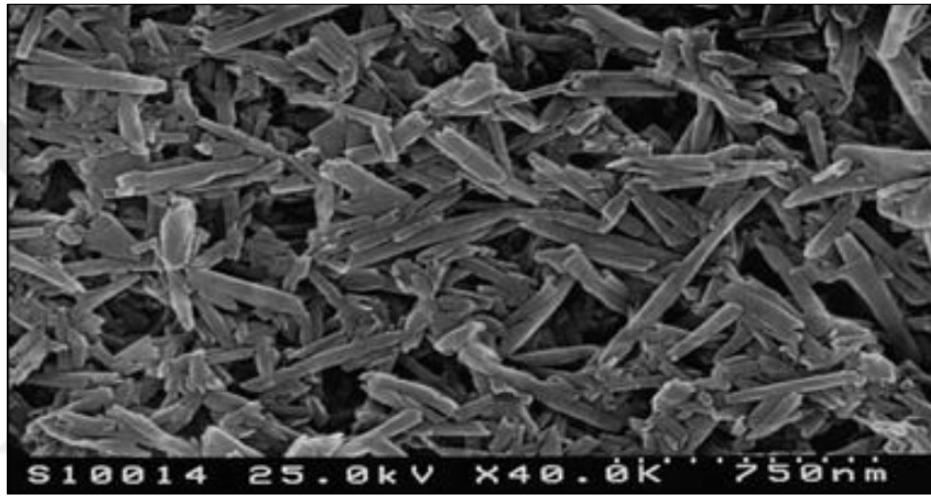
Şekil 1.1 Silikatların ana ve alt grupları [15], [16]

1.1.2.1 Halloysit Nanokilleri

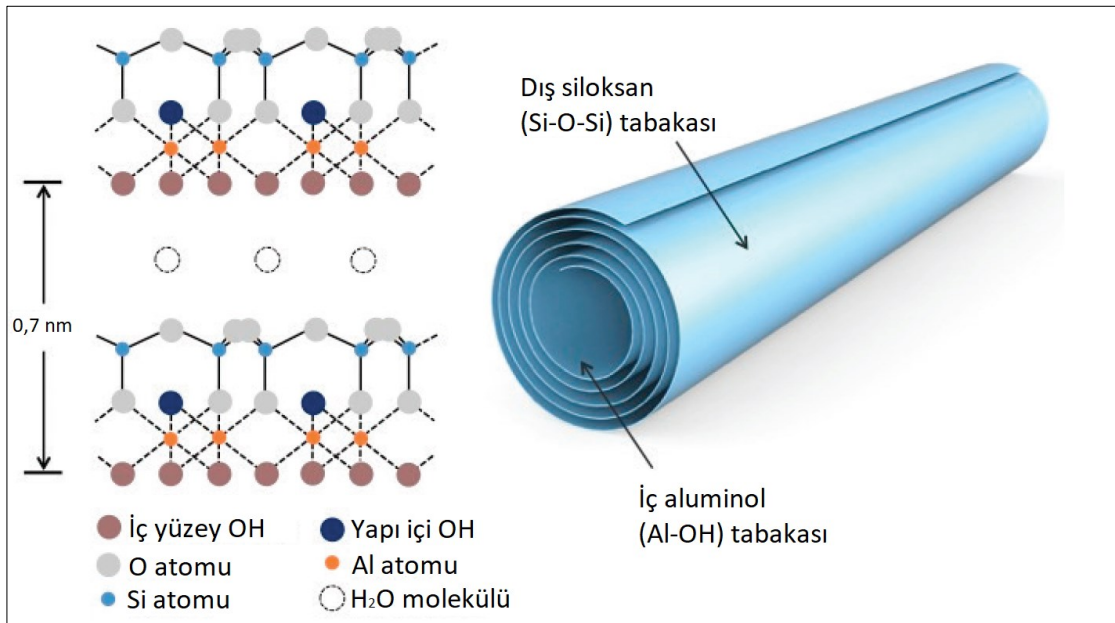
Halloysit kaolinit grubuna ait olan hidrate ve tabakalı bir aluminosilikattır. Susuz formunun formülü $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ olan kaolinittir [19], [20]. Sulu moleküler formülü $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ olan halloysit ortası boş yapıdaki silindir şekilli yapılardan oluşmaktadır. Halloysit silindirlerini oluşturan çok tabakalı yapı iç kısımda oktahedral Al-OH gruplarından ve dış yüzeyinde ise tetrahedral siloksan Si-O-Si gruplarından oluşmaktadır. Tübüler halloysitlerin boyu 0,02-30 μm uzunluğunda ve iç lümen çapı 10-100 nm boyutunda olabilmektedir. Halloysit nanotüpleri tıpta ve eczacılıkta özellikle ilaç taşıma sistemi olarak kullanılabilmesi ile dikkat çekmektedir. Doğal nano boyutlu tübüler yapısı lümen bloğuna çeşitli maddeleri alabilmesine olanak vermektedir. Biyouyumlu, ucuz ve doğada sık bulunması üretimi ve kullanımı açısından pek çok fayda sağlamaktadır [20]. Diğer avantajları arasında yüksek katyon değiştirme yeteneği, kontrollü ve sürdürülebilir salınım yapabilmesi, lümen boşluğundaki aktif materyali zor koşullardan koruması, toz, krem, jel, sprej gibi formlarda olabilmesi, yüksek adsorpsiyon kapasitesi, yüksek porozite, su ile az şişmesi ve rejenerasyon kabiliyeti gösterilmektedir. Tablo 1.1’de halloysitin bazı fiziksel özellikleri yer almaktadır. Şekil 1.2 ve Şekil 1.3’te sırası ile halloysitin Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) görüntüsü ve kimyasal yapısı görülmektedir. Mineralojik ve kimyasal yapı olarak kaolinit ile benzerlik gösteren halloysitin ayırt edici özelliklerinden birisi katmanlarının arasına su moleküllerini hapsedebilmesidir. Bu tip bir halloysit mineraline hidrat halloysit denir ve tabakaları arası mesafe içerdiği su nedeniyle 10 Å’dur. Katmanlar arasındaki suyu kaybetmiş olan halloysitlerin tabakaları arası mesafe 7 Å’dur. Bu mesafe kaolinit ile aynı olmaktadır. Tabakaları arasındaki suyu kaybetmiş halloysitlere dehidrat halloysit denmektedir. Halloysit (10 Å) 35-40 °C sıcaklıkların üzerinde ısıtılmaları halinde geri dönüşümsüz olarak galerilerindeki suyu kaybetmektedir [19]. Dünya’daki halloysit arzının çoğunu Yeni Zelanda sağlamaktadır. Türkiye’de ise ekonomik değere sahip olan halloysit yatakları ülkenin kuzeybatısında yer alan Balıkesir-Çanakkale bölgeleri arasında yer almaktadır [21].

Tablo 1.1 Halloysitin bazı fiziksel özellikleri [22]

Fiziksel Özellik	Değer
Tipik spesifik yüzey alanı	65 m ² /g
Por hacmi	1,25 mL/g
Refraktif indeks	1,54
Spesifik gravite	2,53 g/cm ³
Ortalama tüp çapı	50 nm
Ortalama iç lümen çapı	15 nm
Stabil olduğu uzunluk	0,5-1,0 µm
Dış tabakanın yükü (pH 6-7) - SiO ₂	Negatif
İç tabakanın yükü (pH 6-7) - Al ₂ O ₃	Pozitif



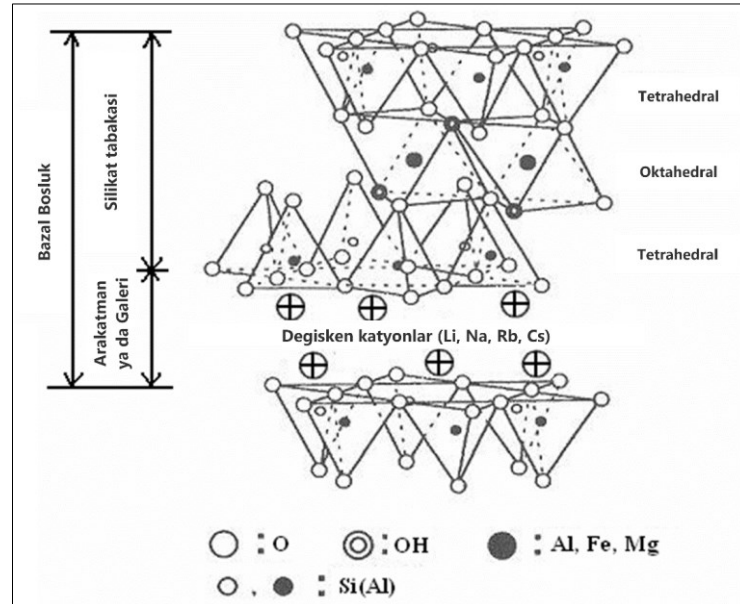
Şekil 1.2 Halloysitin SEM görüntüsü [22]



Şekil 1.3 Halloysit nanotüpünün yapısı [23]

1.1.2.2 Montmorillonit Nanokilleri

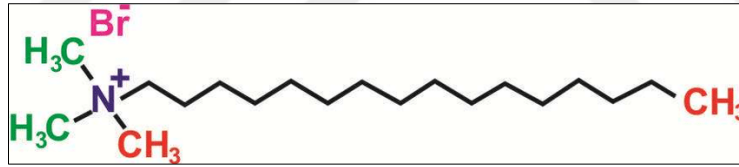
Montmorillonit killeri temelde smektit grubuna ait kil minerallerini içermektedir. Diğer bir deyişle 2:1 fillosilikat grubuna ait smektitlerdir. Smektit minerallerinin genel formülü $(Ca, Na, H)(Al, Mg, Fe, Zn)_2(Si, Al)_4O_{10}(-OH)_2 \cdot xH_2O$ (x yapıdaki su miktarı) olarak tanımlanmaktadır. Bu killeri iki adet tetrahedral silika tabakadan ve bir alümina ya da magnezya oktahedral tabakadan oluşmaktadır [17]. Şekil 1.4'te montmorillonitin de içinde bulunduğu silikatların genel yapısı görülmektedir. Montmorillonit killeri silika ve camca zengin tuf ve kül içeren volkanik kayaların değişimi ile meydana gelmektedir. Montmorillonitteki temel bileşen hidrate sodyum, kalsiyum, magnezyum ve alüminyum silikat içeren montmorillonittir. Sodyum ve kalsiyum montmorillonite yüksek iyon değiştirme kapasitesi kazandırmaktadır. Dünyadaki en büyük montmorillonit yatakları A.B.D'de bulunan Wyoming, Montana ve Güney Dakota bölgelerindedir [24]. Doğada yaygın bir alanda ve ucuz olarak bulunması montmorillonitin daha çok atık suların arıtılmasında kullanımını yaygınlaştırmıştır. Yapılan pek çok çalışmada montmorillonit patojenik virüsleri, pestisitleri, herbisitleri ve diğer toksinleri bağlama kapasiteleri olduğunu göstermektedir. Ayrıca ağır metalleri ve iz elementleri sulu ortamlardan ayrılmasında da etkin kullanılmaktadır [25][26].



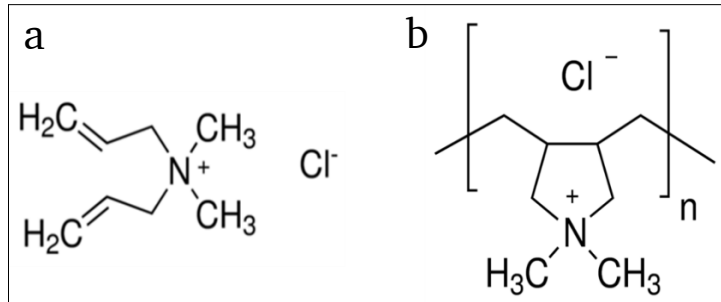
Şekil 1.4 Silikatların genel yapısı [27]

1.1.3 Katyonik Sürfactanlar

Katyonik sürfactanlar suda çözündüğünde pozitif yüke sahip olmaktadır. Nötral pH değerinde negatif yüklü olan yüzeylere, sahip oldukları pozitif yüklerle adsorbe olabilme yeteneğine sahiptirler. Alkil amonyum katyonları inorganik maddelerin yüzey enerjilerini düşürerek matriksin ıslanma karakteristiklerini geliştirmektedir. Böylece ara yüzeylerin genişlemesi sağlanmaktadır. Alkil amonyum katyonları sahip oldukları fonksiyonel grupları ile polimer matriksi ile reaksiyona girebilmektedir ya da bazı durumlarda monomerlerin polimerizasyonunu başlatmaktadır [28]. Katyonik sürfactanlar aynı zamanda katyonik karakterleri sebebi ile antimikrobiyal etkiye de sahiptir. Sahip oldukları biyolojik aktiviteyi, hidrofobik ve elektrostatik interaksyonlar ile bakteri zarını parçalamaları ile kazanmaktadırlar [29]. Bu çalışmada kullanılan N-Setil-N, N, N-trimetil amonyum bromit (CTAB) ve poli diallil dimetil amonyum klorit (PDAC) katyonik özellik gösteren sürfactanlardır. Şekil 1.5'te CTAB'ın ve Şekil 1.6'da PDAC'nin moleküler yapıları verilmiştir.



Şekil 1.5 N-Setil-N, N, N-trimetilamonyumbromitin (CTAB) moleküler yapısı

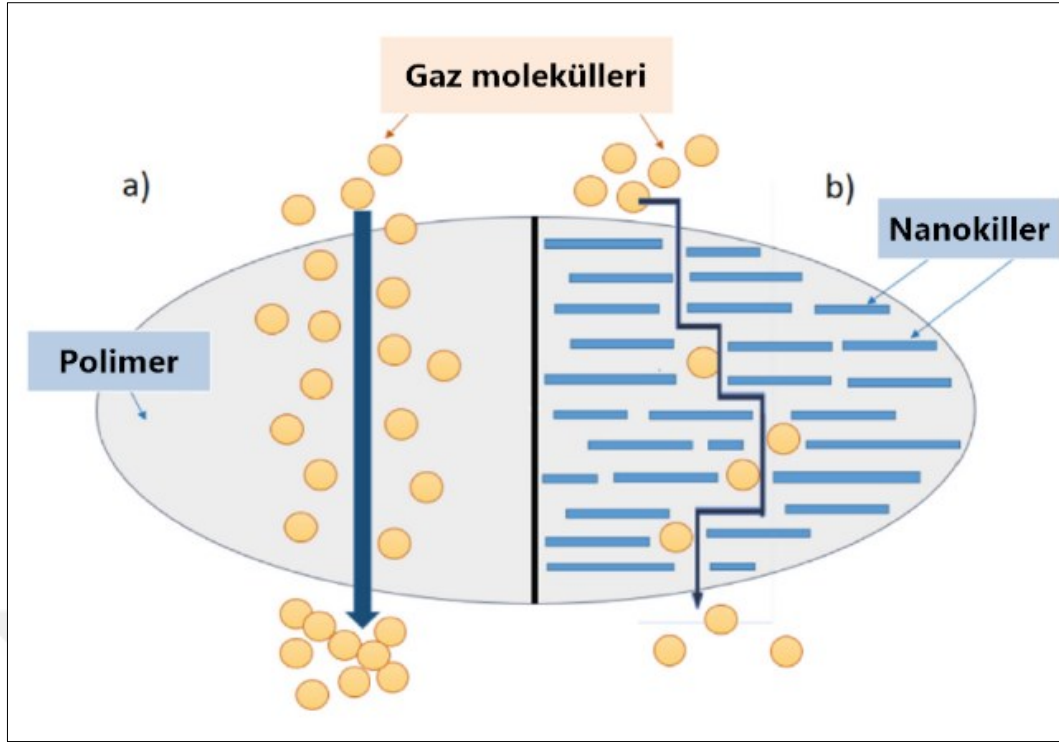


Şekil 1.6 Diallildimetilamonyumklorit (a) ve poli diallildimetilamonyumkloritin (PDAC) (b) moleküler yapıları

1.1.4 Polimer-Kil Nanokompozitlerinde (PKN) Nanokillerin Sahip Olduğu İşlevler

Aktif kaolinit killeri yüksek oksijen adsorplama kapasitesine sahiptir [30]. Ayrıca Na ile aktive edilmiş montmorillonit ihtiva eden polistren filmlerde kil oranı ve sıcaklık arttıkça filmin oksijen adsorplama miktarı da artmaktadır [31]. İnce partiküllere işlenmiş zeolitler, killer ve Japon oya mineralleri özellikle klimakterik meyvelerin ambalajlanmasında kullanılan ambalaj materyallerinin içerisine katılarak etilen süpürme özelliği göstermektedir. Tas ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada halloysit nanotüpleri polietilen filmlere katılarak filmin etilen süpürme ve bariyer özelliklerine bakılmıştır. Muz, domates ve çilek örneklerinin kullanıldığı çalışmalarında halloysit nanotüpleri katılmış polietilen filmlerin etilen adsorpsiyon kapasitesini artırdığı ve polietilen filmlerde killerin oluşturduğu dolambaçlı yapı sayesinde iyi bir oksijen ve nem bariyeri olduğu belirtilmiştir [4]. Nanokillerin oluşturduğu bu dolambaçlı yapı Şekil 1.7’de verilmiştir. Nanokillerin polimerler içerisinde oluşturdukları bariyer özelliği Nielsen Teoremi ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bu teoremde film içerisinden adsorbe olarak geçmeye çalışan maddeler yapıdaki nanokillere rastladığında daha uzun bir yoldan geçmeye zorlanmaktadır. Bu durumda filmin gaz geçirgenliği azalmaktadır [32]. Volzone ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gaz formdaki SO₂’nin montmorillonit üzerindeki tekstürel ve yapısal etkileri incelenmiştir. SO₂ ile muamele edilmiş killerin oksijen grupları ile sülfürik aside dönüştüğü için kilin yüzeyinde porlar oluşturarak yüzey alanını artırmaktadır. Bu durumda yüzey alanına bağlı olarak tutulan SO₂ miktarı da artmıştır [33]. Busolo ve Lagaron’un yaptıkları çalışmada demir içeren kaolinitleri poliolefin ambalaj filmlerinin içerisine katarak oksijen süpürme özelliğini artırmışlardır. Kil içeren poliefin filmler %100 bağıl nemde 43 mL O₂/g ve %50 bağıl nemde 37 mL O₂/g adsorbe etmiştir. Ayrıca kütlece %10 kil içeren filmlerin oksijen süpürme özelliği en yüksek bulunmuştur [34]. Gaikwad ve ark. alkali (NaOH) ile muamele edilerek por miktarı artırılmış ham halloysit nanotüplerinin etilen süpürme özelliklerini incelemiştir. Yaptıkları çalışmada ambalajın içerisine toz halinde koydukları 1 g alkali modifiye halloysitin 24 saat sonunda ambalajın tepe boşluğundaki 49 µL etilen gazını adsorbe ettiği

görülmüştür [16]. Amorf haldeki halloysit, kaolinit ve montmorillonitin kullanıldığı bir çalışmada killer konsantre KF ile 80-110 °C'de etkileştirilerek N₂, O₂, CH₄, CO, CO₂ ve C₂H₂ gazlarının adsorpsiyon özelliklerine bakılmıştır. Tüm killerin CO₂ ve C₂H₂ gazlarına diğerlerine göre daha fazla afinite gösterdiği ortaya konmuştur. Ayrıca amorf killerin tabakalı killer ve moleküler karbon eleklerle yarışabilecek gaz adsorpsiyon özellikleri sergilediği belirtilmiştir [35]. Filmlerin bariyer özellikleri nanokil ilavesi arttıkça daha gelişmektedir. Bazı durumlarda bu tersi olarak da gelişmektedir. Burada en önemli etmenler kullanılan malzemeler, kil ile polimerin etkileşim düzeyi, filmin fiziksel ve mekanik özellikleri gibi faktörler rol almaktadır. Nanokillerin biraraya gelerek kümelenmesi gaz geçirgenliğini artırabilmektedir. Çünkü kümeleşme sonucunda matriks içerisinde büyük delikler oluşmaktadır. Bu nedenle eğer polimer içerisinde çok fazla nanokil bulunursa kümeleşme daha da artarak filmin gaz geçirgenliğini artırıcı bir faktör oluşturmaktadır [18]. Bir membrandaki gaz geçirgenliği karmaşık bir süreçtir ve iki ana aşamaya sahiptir: başlangıçta gaz molekülleri membranın yüzeyine adsorbe edilmekte ve sonra membranın içine doğru yayılmaktadır. Brownian hareketlerinin meydana getirdiği polimer zincirleri veya termal karışıklıklar yoluyla, adsorpsiyon sırasında gaz molekülleri serbest boşluklara konumlanmaktadır. Difüzyon süreci gazların komşu boşluklardan atlayarak ilerlemesi sonucu oluşmaktadır. Difüzyon prosesi değişken olan bu boşlukların sayısı ve boyutuna (statik serbest hacim) ile atlama sıklığına (dinamik serbest hacim) bağlıdır [36].

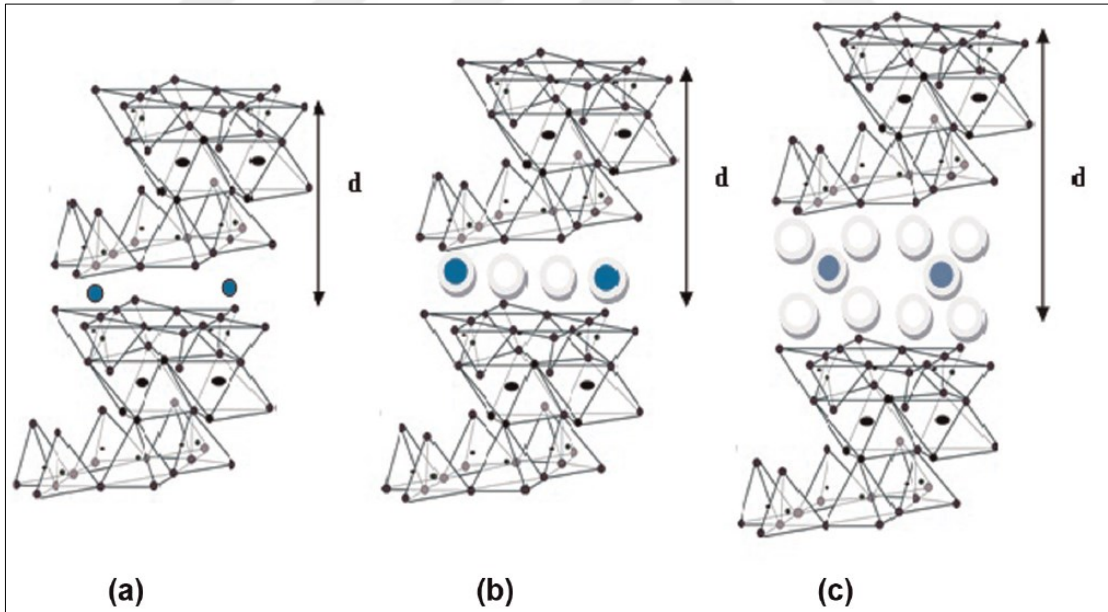


Şekil 1.7 a) Gaz moleküllerinin polimer içerisinde geçişi b) PKN içerisinde geçiş yapan maddelerin izlediği yol [37]

1.1.5 Nanokillerin Organomodifikasyonu ve PKN Üretimindeki Rolü

Doğal olarak oluşan minerallerin çeşitli tipteki organik bileşikler ile interkalasyonu ve yüzey graftı ile modifikasyonu sonucu organokiller sentezlenmektedir. Organokiller normal killere göre daha iyi adsorpsiyon karakteristikleri göstermektedir. Bundan dolayı pek çok çalışma organomodifikasyon ya da kil temelli nanokompozitlerin üzerinde yoğunlaşmaktadır. Organik katyonların kil minerallerine interkale olması ile killerin yüzeyinde farklı fonksiyonel gruplar bağlanarak yüzeyin pozitif yüklü ve hidrofobik olması sağlanmaktadır. Organokillerin karakteristikleri sahip oldukları alkil zincirinin uzunluğuna, sürfaktan yoğunluğuna, kilin yüzey yüküne ve kil mineralinin türüne bağlıdır [8]. Organik olarak modifiye edilmiş yüksek termal stabiliteli kil mineralleri, kil bazlı nanokompozitlerin üretimi için kritik bir yere sahiptir. Bu nedenle geçmiş yıllarda farklı yapıdaki killeri ve sürfaktanlar değişik konfigürasyonlarda organokillerin sentezi için kullanılmıştır [38]. Killerin organomodifikasyonundaki temel amaç sahip oldukları katyonların organik bazlı katyonlar ile değiş tokuş edilerek polimerlerin killeri arasında daha verimli bir şekilde nüfuz etmesini sağlamaktır.

Bu sayede daha ince yapıdaki polimerler daha kalın olanlara kıyasla benzer bariyer özellikleri göstermektedir [39]. Tabakalı filosilikatlar genellikle Na^+ ve K^+ iyonları içermektedir ve sadece polivinilalkol gibi hidrofilik polimerler ile uyum sağlamaktadır. Tabakalı silikatları polar olmayan polimerler ile uyumlu hale getirebilmek için hidrofilik silikat yüzeyi organofilik hale getirmek gerekmektedir. Bu ise ancak primer, sekonder, tersiyer ve kuaterner alkilamonyum ya da fosfoniyum katyonları gibi katyonik sürfaktanlar ile iyon değişimi yapılarak elde edilebilmektedir. Kullanılan katyonik sürfaktan polimer ile uyumlu olabilmesi için minimum 12 ya da daha fazla karbon atomu içermelidir [40]. Doğal killer organik bileşikler için zayıf birer sorbenttir. Killerin yüzeyindeki bu yük değişimi yüzey özelliklerinin değişimi yanında tabakalar arasındaki bazal boşluğu da önemli miktarda artırmaktadır. Alkil amonyum tuzlarının killerin tabakaları arasına interkalasyonu sonucu yüzeye iyonik olarak bağlı organik bir tabaka da oluşmaktadır. Şekil 1.8’de organomodifiye edilen nanokillerdeki bazal boşlukların yapısı gösterilmektedir [41].



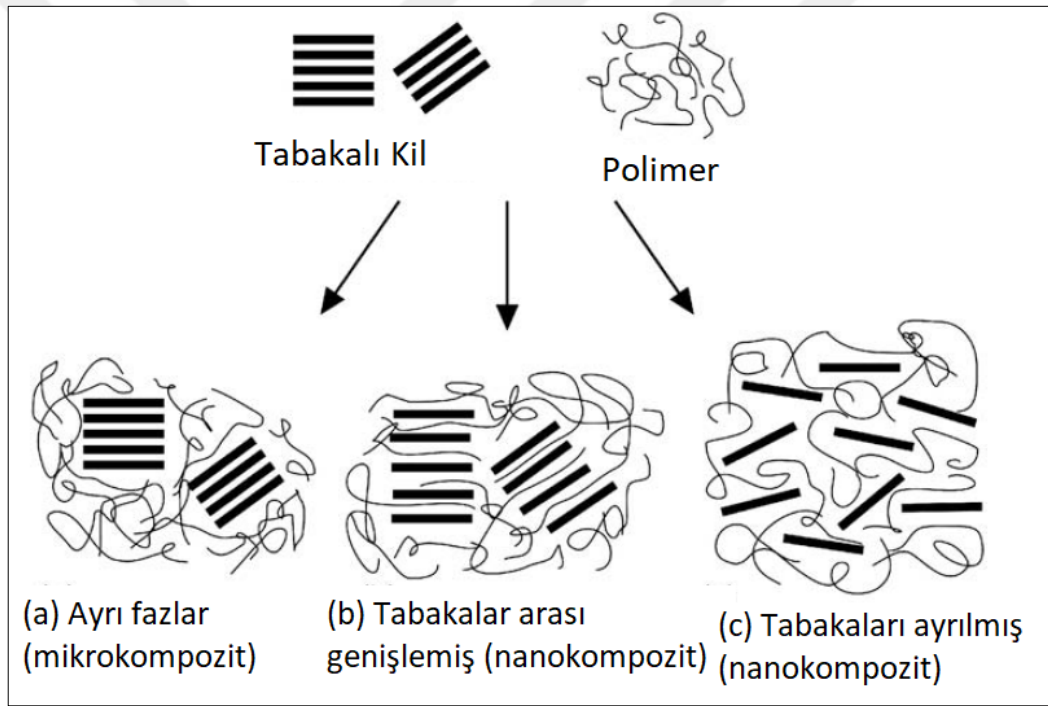
Şekil 1.8 Nanokillerin bazal boşlukları: (a) modifiye edilmemiş nanokil, (b) tek katyonla modifiye edilmiş nanokil, (c) çift katyon ile modifiye edilmiş nanokil [41]

Tabakalı yapıda olan nanokiller polimer yapı içerisine karıştırıldığında ve bir dispersiyon oluştuğunda polimerin nanokile göre dağılımına göre Şekil 1.9'daki gibi üç farklı şekil almaktadır. Bunlar:

a) Klasik mikrokompzit (not-intercalated): Polimer silika tabakalar arasına nüfuz etmemiştir.

b) Tabakalar arası genişlemiş nanokompzit (intercalated): Silika tabakaların arasının (galerinin) açılması ve polimerin buraya girmesi sonucu oluşmaktadır.

c) Tabakaları ayrılmış nanokompzit (exfoliated): Silika tabakaları birbirlerinden oldukça ayrılmış ve rastgele bir şekilde dağılmıştır. Bu yapıdaki bir dağılım en ideal sonucu vermektedir, ancak üretimi çok zor olmaktadır.



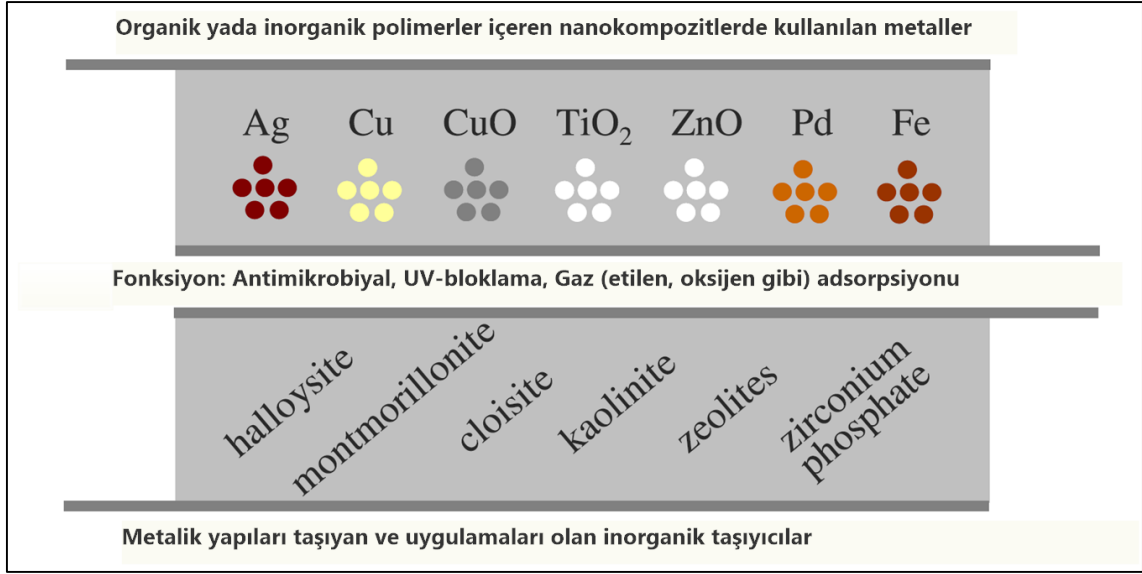
Şekil 1.9 Nanokillerin polimer matriks içerisindeki farklı dağılım şekilleri [42]

1.1.6 PKN'lerin Gıda Muhafazasında Kullanımı

Polimerlerin gıda ambalaj malzemeleri olarak kullanımı işlevsellikleri, hafiflikleri, kolay işlenmeleri ve düşük maliyetleri nedeniyle son yıllarda büyük ölçüde artmıştır [43]. Uygun paketleme yöntemleri ile gıda ürünlerinin kaybının önlenmesi, raf ömrünün artırılması ve güvenli arzının sağlanması gıda ambalajlamanın odaklandığı bir konudur. Son yıllarda ambalajlamanın bu

fonksiyonlarının yanında gıdaların tüketicilerin gözünde taze, kaliteli ve albenili olmasında ambalajlamanın önemi giderek artmaktadır. Bundan dolayı çeşitli aktif paketleme sistemleri geliştirilmektedir. Ayrıca doğada çözünen ve kirlilik oluşturmeyen ambalajlama yöntemleri bu sınıfa girmektedir. Aktif paketleme, gıda ve ambalaj materyali ya da iç gaz atmosferi arasında interaksiyonları içeren bir akıllı paketleme sistemidir. Aktif paketleme yöntemleri geleneksel paketlemeye göre daha uzun raf ömrü ve gıda kalitesi sağlarken ayrıca beslenme kalitesinin artırılması, patojenik ve çürükçül mikroorganizmaların gelişiminin önlenmesi ve paket materyalinden kaynaklanan kontaminantların gıdaya migrasyonunun engellenmesi açısından da önem arz etmektedir. Önemli aktif paketleme ürünleri arasında oksijen süpürücüler, karbondioksit salıcılar/adsorplayıcılar, nem adsorplayıcılar, etilen adsorplayıcılar, etanol salıcılar, aroma salıcı/adsorplayıcılar, zaman-sıcaklık indikatörleri ve antimikrobiyal yüklü filmler gösterilmektedir [30]. Nanokillerin gıda ambalajlamasında kullanımı 1990'lı yıllarda polimerler ile nanokompozit haline getirilmesiyle başlamıştır. Nanokomponent olarak ilk kullanılanlar arasında montmorilonit killeri polietilen, naylon, polivinil klorit ve nişasta gibi polimerlere katılmıştır. Kullanılan nanokiller kütlece %1 ile %5 aralığında uygulanmıştır. Bu nanokillerin bir boyutu nanokilin tipine göre birkaç mikrometre uzunluğuna kadar olabilmektedir [15]. Genel bir tanımlamayla nanokompozitler tabakalı silikatlar gibi nano boyuttaki malzemelerin polimerler ile hibridize olmuş yapılarıdır. Bu kompozit yapı ambalajlarda pek çok avantaj sağlamaktadır. Bu avantajlar arasında mekanik dayanıklılık, ağırlıkta azalma, ısıya direnç gösterme, alevlenmeyi önleme, geliştirilmiş bariyer özellikleri (oksijen, karbondioksit, ultraviyole ışınlar, nem, uçucu maddeler vb.) gibi özellikler gösterilebilmektedir. Nanokompozitlerin ilk kez ticari olarak kullanımı 1980'lerin sonunda Toyota firması tarafından sağlanmıştır. Endüstride otomobil (yakıt tankı, tampon, iç ve dış aksamalar vb.), uzay ve havacılık (aleve dirençli paneller, yüksek performanslı parçalar), inşaat, elektrik-elektronik, gıda (ambalajlar ve konteynırlar) ve kimya (kaplamalar ve boyalar) alanlarında yaygın bir kullanımı vardır [44]. Nanokiller çok katmanlı ambalajlamada da kullanılmaktadır. Gazlı ve gazsız meşrubatların şişelerinde bu çok katmanlı şişeler kullanılmaktadır ve meyve sularında raf ömrünü 30 haftaya kadar uzatabildiği rapor edilmektedir [30].

Nanokompozit filmlerin et ürünlerinde kullanımı ticari ambalaj filmlerin aşınması gibi dezavantajlarını azaltmaktadır. Özellikle paket içerisinde ısıtılma tabii tutulan et ürünlerinde faydalı olmaktadır [45]. Biyobozunur nanokompozit filmler antimikrobiyal özellikler de kazandırılarak kullanılabilir. Kullanılan ajanlar arasında laurik asit [46], tarçın ve diğer esansiyel yağlar [47], [48], çinko oksit (ZnO) nanopartikülleri [49], titanyum dioksit (TiO₂) nanotüpleri [50], bakır (Cu) [51], gümüş (Ag) [52] gibi organik ya da inorganik maddeler bulunmaktadır. Ağır metallerin (gümüş, bakır, çinko, paladyum, titanyum gibi) tuz, oksit ve kolloid formları gümüş zeolitler gibi kompleksler oluşturarak antimikrobiyal özellikler gösterebilmektedir. Bu metallerin belirlenen dozların altında kullanımı insan ve hayvanlara olumsuz etkisi olmamakla beraber yeni gıda muhafaza uygulamaları için kullanışlı birer aday olmaktadır [53]. Metalik tabanlı nanokompozitlerin aktif paketlenme sistemlerinde geliştirilmesinde kullanılan malzemeler Şekil 1.10'da gösterilmiştir. Antimikrobiyal paketlenme konusunda pek çok çalışma yapılmasına rağmen bu ürünlerin gümüş içeren antimikrobiyal materyaller haricinde ticari kullanımı pek sık değildir. Biomaster®, AgIon®, Irgaguard®, Surfacine®, IonPure®, d2p®, Bactiblock® gibi ürünler gümüş tabanlı antimikrobiyal paketlenmede ticari olarak kullanılmaktadır. Bu tip aktif paketlenme çözümlerinin ticari uygulamaları sınırlı olduğu için daha geniş bir ölçekte araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır. Burada farklı disiplinlerin (gıda, mikrobiyoloji, malzeme bilimi gibi) ve paketlenme endüstrisinin işbirliği önemli bir yere sahiptir [54].



Şekil 1.10 Metalik tabanlı nanokompozitlerin aktif paketlenme sistemlerinde geliştirilmesinde kullanılan malzemeler [53]

1.1.7 Gümüş İyonlarının PKN Üretiminde Kullanılması

Gıdalarda bozucu ve hastalık yapıcı etkilere sahip *Salmonella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria*, *Escherichia coli* O157:H7 gibi bakterilerin gelişme potansiyelini minimize etmek için çeşitli gıda güvenlik sistemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir [55]. Bu amaçla antimikrobiyal bileşiklerin gıda paketlenme malzemelerine dâhil edilmesi son yıllarda araştırmacılar tarafından büyük bir ilgi görmektedir. Antimikrobiyal aktiviteye sahip filmler patojenik ve bozucu mikroorganizmaların gelişmesini kontrol etmeye yardımcı olabilmektedir. Nanokompozit filmlerde ise bu etki hem bariyer özelliklerinin artması hem de antimikrobiyal etki göstermesi nedeni ile katlanmaktadır [56].

Gıdalarda kullanılan nanokompozit filmlerdeki antimikrobiyal ajanların arasında en yaygınlarından biri, çok çeşitli mikroorganizmalara karşı güçlü toksisitesi, düşük uçuculuğu ve termal stabilitesi ile bilinen gümüştür [57]. Gümüş biyolojik olarak aktif olarak kabul edilen ve sulu ortamlarda monoatomik iyonik forma geldiğinde antimikrobiyal özelliğe sahip olan bir tür metaldir. Gümüş nitrat ve gümüş sülfadiazin eskiden beri yaraların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır [58]. Gümüşün bu kullanımına ek olarak, antimikrobiyal ambalaj malzemelerinde gıda ve tarımla ilgili ürünlerin raf ömrünü uzatmak için de kullanılmaktadır [59].

Gümüşün daha stabil bir yapıda olabilmesi ve erken salınım sonucu antimikrobiyal özelliğini kaybetmemesi için killer gibi destekleyici ortamlara ihtiyaçları vardır [60]. Ag^+ ve Cu^{2+} gibi antibakteriyel metalik iyonlar genellikle killer gibi alümina-silikatlara iyon değişimi reaksiyonu sonucu yüklenmektedir. Killer yüksek iyon değiştirme kapasiteleri, büyük yüzey alanları ve sorpsiyon kapasiteleri, kimyasal olarak inert olmaları ve düşük toksisiteleri nedeni ile iyi birer taşıyıcıdır [61].

Gümüşün iyonik formu (Ag^+) canlı hücrelere daha iyi difüze olması nedeni ile nanopartikül formundan daha fazla antibakteriyel etkiye sahip olmaktadır [62]. Gümüş nanopartiküllerin optimal olarak antibakteriyel etki gösterebilmesi için 1-10 nm boyutlarında, ağırlıklı olarak ve düzgün dağılmış olması gerekmektedir. Bu durumun sağlamasındaki zorluklar gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel özelliğini azaltmaktadır [63], [64]. Sulu ortamdaki metalik iyonlarla yüklenmiş killer, hücre duvarlarının dış yüzeylerindeki karboksil grupları olan lipoproteinler nedeni ile negatif yüklenmiş bakterileri çekerek ve adsorbe ederek antimikrobiyal maddenin etkinliğini artırmaktadır [65]. Gümüş iyonlarının antimikrobiyal etkisi farklı mekanizmalar ile gerçekleşmektedir. İnhibisyonun ana etkisi gümüşün yapısal ve fonksiyonel proteinlerle etkileşmesi ve hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilerin hücre zarının içindeki radikalleri indüklemesi ile ortaya çıkmaktadır [66]. Gümüşün prokaryotik hücrelere oranla ökaryotik hücrelere karşı toksisitesi ise düşük seviyelerde olmaktadır [67]. Ag^+ ile modifiye edilmiş inorganik materyaller antibakteriyel özelliklerini bakterilerin DNA zincirine verdikleri zarar ile de sağlamaktadır. Bunun yanında protein yapısındaki enzimlerin tiyol grupları ile şelat yaparak enzimatik aktiviteyi engellemektedir [68]. Özellikle sistein moleküllerinde SH-Ag^+ etkileşimine girerek hücresel inaktivasyonuna sebep olmaktadır [69]. Buna bağlı olarak hücredeki ribozomların enzim ekspresyonunun, membran geçirgenliğine ve solunum zincirini bloke ederek enerji üretimine olumsuz yönde etki etmektedir [53]. Yapılan çalışmalarda montmorillonit killeri Ag^+ ile iyon değişim reaksiyonuna girdiğinde *Escherichia coli* bakterilerine karşı etkili bir antibakteriyel özellik göstermektedir. Ayrıca Ag^+ ile modifiye edilmiş killerin antimikrobiyal özellikleri işlem yapılmamış killere göre çok daha fazla olduğu bildirilmiştir [70]. Nanoformdaki kalsiyum

silikat (NCS) Ag^+ çözeltisi ile 1 mg kg^{-1} seviyesinde etkileştirildiğinde elde edilen NCS-Ag kompoziti güçlü bir antimikrobiyal özellik göstermiştir. NCS-Ag nanokompozitinin gıda ambalaj materyallerinde antimikrobiyal ajan olarak kullanılabileceği bildirilmiştir [71]. Yapılan bir çalışmada doğal montmorillonit ile gümüş nitrat çözeltisindeki Na^+ iyonu yer değiştirilerek gümüş-montmorillonit (Ag-MMT) antimikrobiyal nanopartikülleri üretilmiştir. Farklı miktarlarda Ag-MMT'ler polipropilen (PP) kutuların tabanına konularak meyve salatasındaki mezofilik, psikrofilik, koliform, laktik asit bakterilerin, küflerin ve mayaların gelişmesi gözlenmiştir. Ag-MMT'ler mikroorganizmaları inhibe etmekte çok etkili olmuştur ve bu sayede ürünün raf ömrünü 5 gün daha uzatmıştır [72]. Yine Ag-MMT kullanılan bir çalışmada nanopartiküller agar, zein ve polikaprolakton polimerlerine katılarak *Pseudomonas* türü üç suşun üzerinde denenmiştir. Agar polimeri mikrobiyal olarak inhibasyon gösterirken, zein ve polikaprolakton herhangi bir etki göstermemiştir [73]. Busolo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Ag-MMT ile takviye edilmiş polilaktik asit (PLA) biyokompozitlerinin bir Gram-negatif *Salmonella* türü üzerindeki etkilerini araştırılmıştır. Elde edilen PLA nanokompoziti iyi bir bariyer ve antimikrobiyal özellik göstermiştir [74]. Salim ve arkadaşlarının çalışmasında NaY zeolit kili CTAB ile modifiye edildikten sonra 550°C 'de kalsinasyon işleminden sonra rejenere NaY zeolit elde edilmiştir. Rejenere NaY zeolite Ag^+ yüklenerek *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri üzerindeki etkisine bakılmıştır ve bu bakteriler üzerinde etkili bir inhibasyon sağlandığı rapor edilmiştir [75]. Motshekga ve arkadaşlarının çalışmasında montmorillonit gümüş nitrat, çinko oksit ile etkileştirilerek Ag-kitosan, ZnO-kitosan ve Ag/ZnO-kitosan nanokompozitleri üretilmiştir. Nanokompozitler Gram-negatif *Escherichia coli* ve Gram-pozitif *Enterococcus faecalis* bakteri türleri üzerinde denenmiştir. Sonuç olarak içme sularında %78 bakteri süpürme kapasitesi ile Ag/ZnO-kitosan nanokompoziti en etkili sonucu vermiştir [76]. Gümüş iyonlarının antimikrobiyal özelliğinden dolayı gıda ambalajları dışında tıbbi cihazlar, kıyafetler, kişisel hijyen ürünleri, dezenfektanlar gibi geniş bir yelpazede kullanılmaktadır [26]. EFSA'nın (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) gıda katkı maddesi olarak kullanılan gümüş (E 174) ile ilgili yayınladığı raporda, gümüşün çok uzun süreler yutulması ya da solunması ile oluşan argyria ve

argyrosis, metalik ya da iyonik gümüşün yüksek dozlarında oluşan toksik etkileri olduğu belirtilmiştir. Tıbbi ya da mesleki olarak gümüş iyonlarına uzun süreli maruz kalma sonucu oluşan toksik etkinin gıda katkısı olarak kullanılan gümüşün etkisi ile karşılaştırılamayacağı ve ilişkilendirilemeyeceği raporda yer almaktadır. Çünkü gıda amaçlı kullanılan gümüş katkılarına maruziyet diğer kullanımlara göre düşük düzeyde kalmaktadır [77]. E 174 kodlu gümüşün, Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'ne göre bazı gıdalarda gıda katkı maddesi olarak kullanımına izin verilmiştir [78]. Su veya düşük tamponlanmış ortamlarda gümüş iyonlarının biyosidal etki gösterebilmesi için minimum 50-100 $\mu\text{g Ag}^+/\text{kg}$ civarında olması gerekmektedir [79]. Ancak gıdalarda bulunan proteinler gümüşün etkisini azalttığı için gerçekçi gıda ortamlarında bu değerler minimum 10-100 $\text{mg Ag}^+/\text{kg}$ olması gerekmektedir [80].

1.1.8 Polikaprolakton (PCL)

Dünya genelinde plastik üretimi her geçen yıl hızla artmaktadır. İstatistiklere bakıldığında 1950 yılında plastik üretimi 1,5 milyon ton iken, 1976 yılında 50 milyon ton, 1989 yılında 100 milyon ton, 2002 yılında 200 milyon ton ve 2017 yılında 348 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (www.statista.com). Plastik üretiminde başlıca kaynak ham petroldür. Polietilen tereftalat (PET), polivinilklorit (PVC), polietilen (PE), polipropilen (PP), polistiren (PS) ve poliamid (PA) sahip oldukları mekanik performansları, düşük gaz geçirgenlikleri, ısısal dayanıklılıkları gibi özelliklerinin yanında ekonomik olarak da düşük maliyetli olmaları üretimlerini her geçen gün artırmaktadır. Ancak son yıllarda üretilen plastiklerin tamamı geri dönüştürülemediğinden ve biyobozunur olmadıklarından dolayı ekolojik bazı problemlere yol açmaktadır. Gıda ambalajları gıda ile kontamine olduğundan geri dönüşümü de maliyetli olmaktadır. Bu durum insanları alternatif malzemeler üzerine düşünmeye sevk etmiştir [81]. Tüketicilerin dünyamızı etkileyen çevresel problemlere karşı bilinçleri gün geçtikçe artmaktadır. Yenilenebilir kaynaklardan elde edilen malzemeleri kullanan yeni ambalaj konseptlerinin geliştirilmesi, CO_2 emisyonlarını ve fosil kaynaklara bağımlılığı azaltmak için çok önemlidir [82], [83]. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin aktif paketlemeye dâhil

edilmesi, daha çevre dostu ve sürdürülebilir bir paketleme endüstrisi oluşturma hedefini desteklemektedir [84]. Yapılan tahminlerde biyobozunur plastik üretimi dünya çapında 2018 yılında 2,11 milyon ton iken 2023 yılında yaklaşık %20'lik bir artışla 2,62 milyon ton seviyesine ulaşacaktır (www.european-bioplastics.org). Biyobozunur polimerlerden biri olan PCL, kaprolakton ünitelerinden sentezlenen bir polimerdir. Doğal olarak bulunmayan ancak sentezlenebilen bir polimer olan PCL, aynı zamanda tamamen biyobozunur özelliktedir [85]. PCL lineer, kısmen kristal yapıda, hidrofobik ve kolay uzayabilen (kopma noktasındaki uzama ve gerilme miktarı % 1100 ve 33 MPa) bir polyesterdir [86]. PCL kimyasallara ve UV ışınlarına karşı dayanıklı ve düşük su adsorpsiyonuna sahiptir [87]. PCL düşük erime sıcaklığına (yaklaşık 60 °C) ve camsı geçiş sıcaklığına (yaklaşık -60 °C) sahip olduğu için özellikle antimikrobiyal maddeler için ticari uygulamalarda ideal bir biyobozunur polimer matriks olmaktadır. Ayrıca diğer biyobozunur polimerlere kıyasla daha dayanıklı bir yapıya sahiptir. Ancak plastiklere oranla daha düşük modülusa ve sertliğe sahip olduğundan yapısının dolgu malzemeleri ile güçlendirilmesi gerekmektedir [88]. Biyobozunur özelliğini etkileyen önemli parametrelerden biri PCL'nin kısmi amorf yapısıdır. DSC ile yapılan analizlerde mikroorganizmalar tarafından bozulan PCL'nin ilk önce amorf kısmı kullanıldığından kristallik derecesi zamana bağlı olarak artmaktadır [89]. PCL polimeri makrofaj fagozomların ve dev hücrelerin içerisinde yaklaşık 13 günde metabolize olabilmektedir. Hücre içerisine alınan PCL hidrolizden sonra sırasıyla 6-hidroksilkaproik asite ve asetil koenzim A'ya çevrildikten sonra sitrik asit çevrimine girerek elimine edilmektedir [90]. PCL film fosfat tamponunda lipaz enzimi kullanılarak (0,50 mg lipaz/mL 0,025 M fosfat tamponu) 37 °C'de ve 96 saat sonunda ayrılmıştır [91]. Tablo 1.2'de iki farklı moleküler ağırlıktaki polikaprolaktonun bazı fiziksel özellikleri verilmiştir. Şekil 1.11'de ise PCL tanecikleri görülmektedir.

Tablo 1.2 Farklı molekül ağırlığına sahip PCL'lerin fiziksel özellikleri [92]

Fiziksel Özellik	PCL₍₁₎	PCL₍₂₎
Molekül ağırlığı (Mn)	4750±2000	69,000±1500
Erime noktası(°C)	60–62	60–62
Yoğunluk (g/cm ³)	1,145	1,145
Erime ısısı (J/g)	76,9	76,6
Kristallik (%)	56	56
Kristalleşme sıcaklığı (°C)	25,2	27,4
Camsı geçiş sıcaklığı (°C)	-60	-60
Akma dayanımı (MPa)	17,2	14
Çekme gerilimi (MPa)	430	500
Kopma noktasındaki gerilim (%)	700	920
Sertlik (Shore D)	51	50
Viskozite (Pa.s)(70 °C)	2890	12,650



Şekil 1.11 PCL tanecikleri

PCL kloroform, diklorometan, karbon tetraklorit, benzen, tolüen, siklohekzanon ve 2-nitropropan ile oda sıcaklığında çözünmektedir. Aseton, 2-bütanon, etil asetat, dimetilformamit ve asetonitrilde düşük çözünürlüğe sahip iken alkol, petrol eteri, dietil eter ve suda çözünmemektedir [93].

PCL'nin film karakteristiklerini güçlendirmek için nanometre boyutunda inorganik dolgular kullanılarak nanokompozitler üretilmektedir. Nanokompozitlere katılan

çok az miktardaki inorganik dolgular ile nanokompozitlerin gaz bariyer, termal, su adsorpsiyonu, mekanik gibi özellikleri çok gelişmektedir [85]. Tabakalı silikatlar nano dolgu malzemesi olarak kullanılabilir. PCL polimeri bu tabakaların arasına interkale olarak dispers bir yapı kazandırmaktadır. İnterkalasyon yeterince sağlanamazsa geleneksel mikrokompazit yapılar elde edilmektedir [94]. PCL ve silikatlar ile üretilen nanokompozitler film üretiminin yanı sıra tıp alanındaki uygulamalarda da yer almaktadır. Örneğin PCL ve poli-DL-laktik asit (PDLLA) polimerleri ve Laponite® nanokili kullanılarak imal edilen nanokompazit implantı obezite ve tip 2 diyabet tedavisinde kullanılmak amacı ile sindirim yoluna takılmıştır. Polimerlerin biyobozunur yapıda olması ve nanokilin implanta fiziksel mukavemet kazandırması avantaj sağlamıştır [95]. Diğer bir uygulamada ise 3-aminopropil trietoksi silan kullanılarak organomodifiye edilen montmorillonit ile güçlendirilen PCL kemik skafoldu üretiminde kullanılmıştır [96].

1.2 Tezin Amacı

Gıdaların raf ömrünü artırmak ve güvenliğini sağlamak gıda muhafazasının sağlanmasında birincil amaçtır. Ambalajlama bu amaçla uygulanan gıda muhafaza metotlarından en önde gelenlerindendir. Yapılan bu tez çalışmasının amacı, katyonik sürfaktanlar ile organomodifiye edilmiş ve gümüş iyonları ile antimikrobiyal özellik kazandırılmış montmorillonit ve halloysit nanokilleri kullanılarak gıdaların raf ömrünü artıran ve biyobozunur özellikte olması ile doğa dostu olan PCL nanokompazit ambalaj filmleri üretilerek çeşitli gıdaların raf ömrü denemelerinde kullanmaktır.

1.3 Hipotez

Gıda ambalajı üretiminde hammadde olarak kullanılan PCL polimerine nano dolgu malzemesi olarak organomodifiye ve gümüş iyonları ilaveli montmorillonit ve halloysit nanokilleri katılarak üretilen nanokompazit ambalaj filminin mekanik, gaz bariyeri ve antimikrobiyal özellikleri artırılabilir. Nanokillerin polimer içerisinde daha iyi interkale olabilmesi için nanokiller katyonik sürfaktanlar ile

organomodifiye edilebilir. Bunun yanında gıdalarda sık bulunan patojen mikroorganizmaları inhibe edici gümüş iyonları nanokillere katılarak nanokompozit ambalaj filmine antimikrobiyal özellik kazandırılabilir. Modifiye edilmiş nanokiller hem ambalaj içerisinde kontrollü bir atmosfer oluşturarak ürünün atmosfer etkisinden en az şekilde etkilenmesini sağlayabilir hem de sahip olduğu antimikrobiyal ajan sayesinde içerisine konulan gıdanın mikrobiyal bozulmasını minimuma indirebilir.

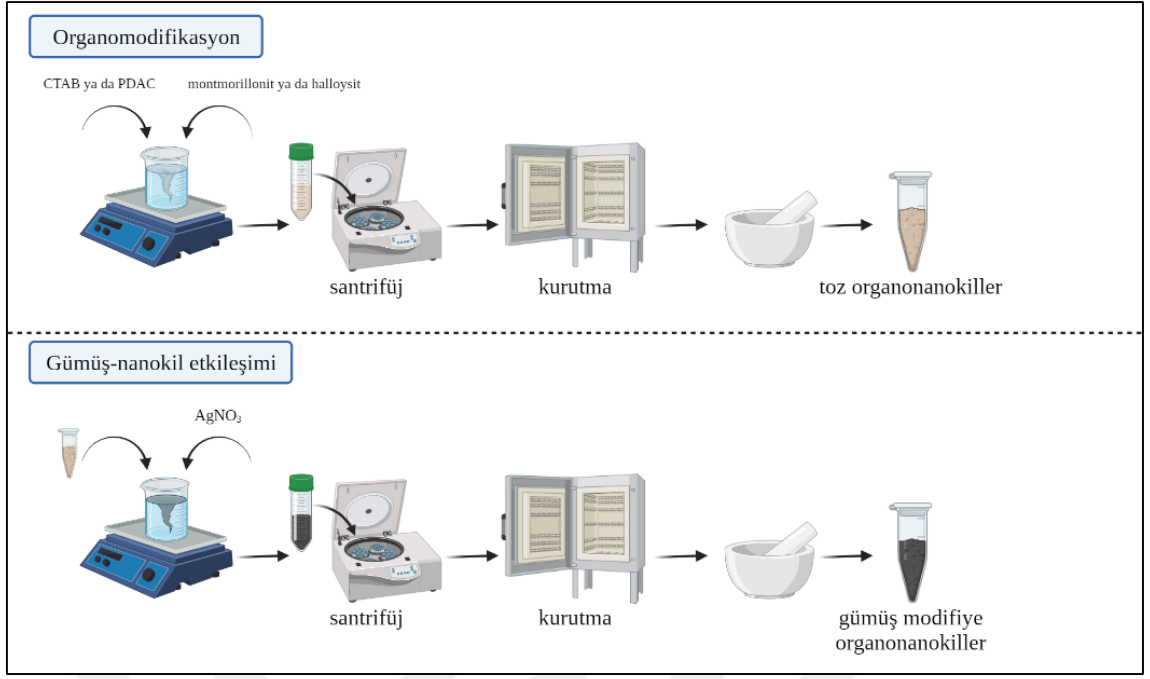


2.1 Materyal

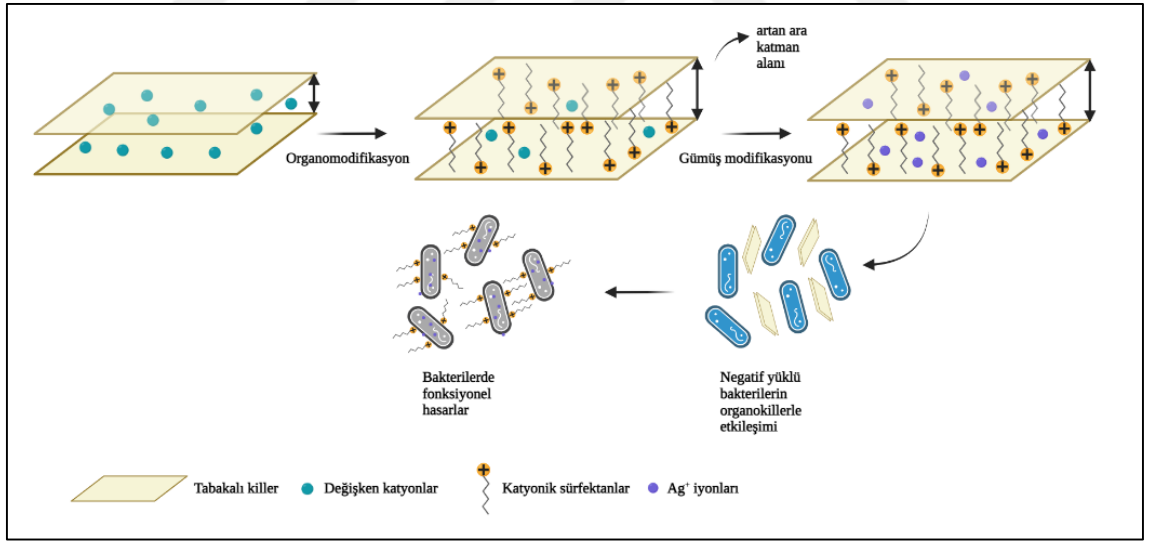
Bu çalışmada halloysit (HNT) ve montmorillonit (hidrofilik bentonit, MMT) nanokilleri (Sigma-Aldrich, St. Luis, Missouri, ABD) kullanılmıştır. Sürfaktan olarak kullanılan N-setil-N, N, N-trimetilamonyumbromit (CTAB) ve poli diallildimetilamonyumklorit (PDAC) (%20 kuru madde/su; 200.000-350.000 Da, orta moleküler ağırlıkta) sırasıyla Merck'ten (Merck, Darmstadt, Almanya) ve Sigma'dan (Sigma-Aldrich, St. Luis, Missouri, ABD) temin edilmiştir. Antimikrobiyal ajan olarak gümüş nitrat (İsolab, Wertheim, Almanya) kullanılmıştır. Film numuneleri polikaprolakton (PCL) (ortalama moleküler ağırlık 80000 Da) (Merck, Darmstadt, Almanya) polimeri ile üretilmiştir. PCL'yi çözmek için kloroform Merck'ten (Merck, Darmstadt, Almanya) satın alınmıştır. Taze sığır eti Türkiye'de yerel bir kasaptan alınmış ve çalışma öncesi mutfak tipi kıyma makinesi (Tefal, Çin) kullanılarak aseptik olarak kıyılmıştır.

2.2 Modifiye Nanokillerin Hazırlanması

Tez çalışmasının ilk aşaması olan MMT ve HNT nanokillerinin sürfaktanlar ve gümüş nitrat ile etkileştirilmesinin özet grafiği Şekil 2.1'de gösterilmektedir. Ayrıca bu etkileşimin nano ölçekte hangi mekanizma ile gerçekleştiği Şekil 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.1 Nanokillerin organomodifikasyonu ve gümüş nitrat ile modifikasyonu (BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)



Şekil 2.2 Nanokillerin modifikasyonlarının nano ölçekteki mekanizması (BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)

2.2.1 Nanokillerin Organomodifikasyonu

Nanokillerin modifikasyonu işleminde katyonik sürfaktanlar ile organomodifikasyon ve gümüş iyonları ile iyon değişimi modifikasyonu olmak üzere iki aşama vardır. İlk aşamada, MMT ve HNT nanokilleri tamamen kurutulmuş numuneler elde etmek için 24 saat boyunca etüvde 80 °C'de tutulmuştur. Kurutulan nanokil numunelerinden 750 mg kadar tartılmış ve üzerine 25 mL saf su eklenmiştir. Elde edilen süspansiyon, istenilen homojenliğe ulaşana kadar manyetik bir karıştırıcı üzerinde 400 rpm'de 4 saat karıştırılmıştır. Farklı miktarlardaki sürfaktanlar 25 mL saf su ile beherlerde 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Sürfaktanların nihai konsantrasyonları, 0 ila 20 mg sürfaktan/mL saf su aralığında ayarlanmıştır (0, 5, 10, 15 ve 20 mg/mL). Tüm işlemler oda sıcaklığında yapılmıştır. Sürfaktan emülsiyonları nanokil dispersiyonlarına eklenmiş ve nanokil ara katmanları ile sürfaktanların yan grupları arasındaki yeterli etkileşim için gece boyunca karıştırılmıştır (Şekil 2.3). Karıştırma işleminin sonunda bulamaç haline gelen karışım 5 dakika 5000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası nanokillerin üzerindeki süpernatantlar atılmış ve çökelti, kalıntı sürfektanları uzaklaştırmak için üç kez saf suyla yıkanmıştır. Kalan nanokiller bir etüvde 80 °C'de 24 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutulan örnekler bir porselen havan yardımı ile öğütülerek toz haline getirilmiştir [97], [98]. Bu şekilde organomodifiye nanokiller (OMN) sentezlenmiştir. İnterkalasyon işlemi için katyonik sürfaktanlar olarak CTAB ve PDAC kullanılmıştır. Bu iki yüzey aktif madde, farklı karbon zinciri uzunluğuna ve moleküler yapıya sahiptir. Adsorbanların yüzeyini doyurmak için kritik misel konsantrasyonlarından (CMC) daha yüksek yüzey aktif madde konsantrasyonları kullanılmıştır [99].



Şekil 2.3 Nanokiller ve sürfaktanların manyetik karıştırıcıda karıştırılması

2.2.2 Nanokillerin Gümüş Nitrat ile Etkileştirilmesi

Nanokillerin antimikrobiyal özellik kazandırmak için gümüş (Ag^+) iyonu - organokil kompleksi elde edilmiştir. Bu amaçla, organomodifiye nanokiller her numune için 1'er gram tartılarak üzerine 10 mL 0,1 M AgNO_3 sulu çözeltisi eklenmiştir. Dispersiyonlar manyetik karıştırıcıda 40 °C'de 24 saat boyunca karıştırılmıştır [70]. Karıştırma işleminden sonra bulamaç haline gelen karışımlar 5000 rpm hızında santrifüjlenmiş ve süpernatantlar atılarak santrifüj tüpünün dibindeki çamursu yapı elde edilmiştir. Kurutma işleminden önce fazla Ag^+ iyonlarını uzaklaştırmak için modifiye nanokiller üç kez saf su ile yıkanmıştır. Son olarak, Ag^+ ile modifiye edilmiş nanokiller bir etüvde 80 °C'de 24 saat süreyle kurutulmuş (Şekil 2.4) ve ardından toz haline getirmek için bir porselen havan yardımı ile öğütülmüştür [100]. Böylece gümüş modifiye nanokiller (GMN) elde edilmiştir. Gümüş iyonları nanokillerdeki katyonlar ile iyonik yer değiştirme reaksiyonuna girerek antimikrobiyal özellikteki nanomateryalleri oluşturmaktadır [101].



Şekil 2.4 Kurutma fırınındaki modifiye edilmiş nanokiller

2.3 Modifiye Nanokillerin Karakterizasyonu

2.3.1 Zeta Potansiyel ve Partikül Boyutu Ölçümü

Zeta (ζ) potansiyel nanokiller için önemli bir elektro kinetik özelliktir. Zeta potansiyel nanokilin katı yüzeyi ile sıvı ortam arasındaki elektrik potansiyelinin bir ölçüsüdür. Nanokillerin yüzeyindeki potansiyel yük miktarı arttıkça Zeta potansiyel de artmaktadır. Toprak killerinin yüzey yükleri genellikle negatif değerler göstermektedir [102]. Bu çalışmada nanokil örnekleri, nötr pH karakteristiğine sahip saf su içerisinde disperse edilmiştir. Bir agregasyonun olup olmadığını anlamak için numunelerin partikül boyutları da incelenmiştir. Zeta potansiyel ve partikül boyutu ölçümleri Malvern Nanoseries Zeta Sizer (Malvern Nano-ZS, Model 1000HSa, Birleşik Krallık) ile gerçekleştirilmiştir [103]. Ölçümler sırasında Elektroforetik Işık Saçılması (ELS) modu kullanılmıştır. Saf su içerisine bir miktar toz haldeki numuneden konularak bir süre ultrasonik su banyosunda bekletilmiştir. Dispersiyonlar baloncuk oluşmamasına dikkat edilerek polietilen hücrelere enjekte edilmiştir. Tüm ölçümler 25 °C'de üç kez tekrar edilmiştir. Lazerin hücre içerisindeki dağılım açısı 13 °'dir. Elektrik gücü ve alanı sırasıyla 60 mW ve 25 V / cm'dir [104].

2.3.2 Nanokil Örneklerinin Su İle Temas Açılarının (Contact Angle) Ölçümü

Maddelerin ara yüzeylerindeki su pek çok jeokimyasal, biyolojik ve teknolojik sistemde önemli roller oynamaktadır. Su, killerin ara yüzeyinde sanki yağlayıcı bir madde gibi görev görmektedir. İçerisinde 10-100 μm boyutlarında kanallar bulunan sistemlerde yüksek yüzey-hacim oranı sebebi ile maddenin hidrofobik-hidrofilik karakteri sınırlayıcı bir etken oluşturmaktadır. Mikroskobik düzeyde hidrofobik-hidrofilik karakteri manipüle etmek maddenin makroskobik ölçüdeki ıslanma özelliklerini de önemli düzeyde etkilemektedir [105]. Nanokil örneklerinin yüzey özelliklerini incelemek için saf su ile temas açıları ölçülmüştür. Bu amaçla toz halindeki numuneler, 13 mm çapındaki paslanmaz çelik kalıp ve bir hidrolik pres (Başaran Hidrolik, Konya, Türkiye) yardımı ile daire şeklindeki pelletler haline getirilmiştir. Örneklerin dinamik temas açıları (dynamic contact angle) 25 °C'de Wilhelmy plak yöntemi ile bir tansiyometre (Dataphysics DCAT 11EC, Almanya) (Şekil 2.5) kullanılarak ölçülmüştür [106]. Örnekler tansiyometrenin özel bir tutucusuna yerleştirildikten sonra örneklerin saf su ile temas açısı değerleri cihaz yazılımı (SCAT 11EC, Almanya) ile okunmuştur. Her bir ölçüm üç tekrarlı olarak yapılmıştır.



Şekil 2.5 Tansiyometre cihazı (Dataphysics DCAT 11EC, Almanya)

2.3.3 X-Işını Difraksiyonu (XRD) Analizi

Organokillerin moleküler yapısı ve bazal boşlukları (d-aralığı değerleri) X-ışını difraksiyonu yöntemi ile değerlendirilmiştir. XRD desenleri, Philips X'Pert MPD Difraktometre'den (Eindhoven, Hollanda) elde edilmiştir. Sistemde bakır anot kullanılmıştır ve uygulanan radyasyonun dalga boyu 1,5443 nm olarak seçilmiştir. Jeneratörün parametreleri sırasıyla 40 kA ve 45 kV'dir. Tarama işlemi $2\theta = 5-90$ kırınım açısı aralığında yapılmıştır. Tarama hızı, oda sıcaklığında 1,2 $^{\circ}2\theta$ /dakika olarak belirlenmiştir [107]. Nanokillerin d-aralığı değerleri, X PowderX[®] yazılımı kullanılarak spektrumlardan çıkarılmıştır.

2.3.4 Zayıflatılmış Toplam Yansıma- Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (ATR-FTIR) Spektroskopisi Analizi

Kızılötesi (infrared, IR) spektroskopisi, organik ve organik olmayan bileşiklerin yapılarının karakterize edilmesinde kullanılan bir enstrümandır. IR spektrumunun elde edilmesinde atomlar arasında kurulan bağların titreşimi ile oluşan frekanslara karşılık gelen absorpsiyon pikleri kullanılmaktadır. Bir başka deyişle spektrumdaki her bir pik ilgili bağın parmak izidir. Optik izomerleri istisna olmak üzere her bir maddenin kendine özgü bir spektrumu vardır [108]. Nanokil numunelerinin moleküler karakterizasyonu, tek yansımali elmas kristalli bir Bruker ATR ekimani ile donatılmış FTIR spektrofotometre (Bruker Tensor 27, Bremen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, oda sıcaklığında ve orta-IR aralığında olan 4000–400 cm^{-1} dalga boyunda yapılmıştır. Her spektrumun ortalaması, 4 cm^{-1} çözünürlükte 16 tarama üzerinden yapılmıştır. Ölçümden önce bir arka plan taraması kaydedilmiş ve numune spektrumlarından çıkarılmıştır. Cihaz kontrolü ve veri toplama için OPUS yazılımı (Versiyon 7.2, Bruker optics) kullanılmıştır [109], [110].

2.3.5 İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) Analizi

Alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS), grafit fırınlı atomik absorpsiyon spektrometresi (GFAAS), atomik floresans spektrometresi (AFS), indüktif olarak eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP-OES), indüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS) gibi alev içeren atomik spektroskopi

teknikleri, eser element türlerini ayırt etmek için en sık kullanılan tekniklerdir. Bu teknikler arasında ICP-MS düşük algılama sınırı (LOD), geniş dinamik doğrusal aralığı, çoklu element/izotop analiz kapasitesi ve diğer yöntemlere göre hızlı ve düşük kütle girişimi nedeniyle öne çıkmaktadır [111]. Plazma kaynağı jeolojik elementlerin iyonlaşmasını sağlamak ve bunların kütle spektroskopisinde analizine olanak sağlamaktadır. ICP-MS Ag, Au, TiO₂ ve SiO₂ nanopartiküllerinin, killerin (Al-, Fe- oksitler) ve nanopartiküller ile kolloidlerin yapısındaki yüzey fonksiyonel gruplarına bağlı metallerin analizinde kesin bir yöntem olarak kullanılmaktadır [112]. Yukarıda açıklanan özellikler nedeniyle, bu yöntem toz nanokil numunelerine uygulanmıştır. Octopol reaksiyon sistemi (ORS) ile donatılmış Agilent 7700 model ICP-MS (Agilent Technologies, Tokyo, Japonya) ile analizler gerçekleştirilmiştir.

2.3.6 Gümüş Modifiye Nanokillerdeki (GMN) Gümüş İyonlarının *in vitro* Salım Analizi

GMN'lerdeki gümüş iyonlarının distile suya kontrollü salım testleri ATR-FTIR spektrofotometre (Bruker Tensor 27, Bremen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 0,1 g GMN Eppendorf tüpüne konularak üzerine 1 mL distile su eklenmiştir. Daha sonra tüpler 30 °C'de 40 saat boyunca çalkalamalı inkübatör içerisinde bekletilmiştir [12]. Analiz öncesinde tüpler 7000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüjlenerek üzerlerindeki nanokilden arındırılmış süpernatant alınmıştır. GMN'lerden saf suya geçen Ag⁺ iyonları ilk 4 saate kadar 1'er saat, daha sonra ise 4'er saat aralıklarla ATR-FTIR spektrometresinde analiz edilmiştir. Ag⁺ kalibrasyonu stok AgNO₃ çözeltisinden 0,0125 M'dan 0,1 M aralığında (ikişer kat oranlı) hazırlanarak elde edilmiştir. ATR-FTIR'nin kalibrasyon grafiği için AgNO₃'ün intens piki olan 1344 cm⁻¹ dalga boyu kullanılmıştır ve kalibrasyon grafiğinin R² değeri 0,99 olarak hesaplanmıştır.

2.3.7 Renk Özellikleri

Toz halindeki nanokil örneklerinin renk değerleri bir renk ölçer (CR-400, Konica Minolta, Osaka, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Renk ölçümleri CIE Lab renk uzayı olan L*, a* ve b* renk değerleri göz önüne alınarak yapılmıştır. L* (lightness,

parlaklık) değeri 0 (siyah) ve 100 (beyaz), a^* değeri -60 (yeşil) ve +60 (kırmızı) ve b^* değeri -60 (mavi) ve +60 (sarı) aralığında sonuçlar vermektedir [113]. L^* , a^* ve b^* renk değerleri kullanılarak aşağıdaki denklemden (Eşitlik 2.1) toplam renk farkı (ΔE) hesap edilmiştir [114].

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{0,5} \quad (2.1)$$

Denklemden ΔL : $L_{\text{standart}} - L_{\text{örnek}}$, Δa : $a_{\text{standart}} - a_{\text{örnek}}$ ve Δb : $b_{\text{standart}} - b_{\text{örnek}}$ olarak verilmiştir.

Denklemden standart olarak saf montmorilonit ve HNT'nin renk değerleri kullanılmıştır. Beyaz tabakanın standart değerleri $L=93,87$, $a=-0,55$ ve $b=5,13$ olarak verilmektedir.

2.3.8 GMN'lerin Yüzey Morfolojilerinin TEM ve SEM ile İncelenmesi

GMN'lerin mikromorfolojik özellikleri bir Zeiss EVO® LS 10 (Carl Zeiss Ltd., Almanya) Taramalı Elektron Mikroskopu cihazı (Scanning Electron Microscopy, SEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. SEM cihazının vakum altında sırası ile çalışma voltajı ve büyütme miktarı 8 kV ve 10.000 x'tir [115]. GMN'lerin nano morfolojik özellikleri bir JEM-1220 (JEOL Ltd., Tokyo, Japonya) Transmisyon Elektron Mikroskopu (Transmission Electron Microscopy, TEM) cihazı kullanılarak elde edilmiştir. TEM cihazının çalışma voltajı 80 kV'dir. Örnekler öncelikle etanolde (100 mg/mL) disperse edildikten sonra 5 µL alikot alınarak 200 mesh formvar kaplı bakır gride damlatılmıştır. Örnekler uygun koşullarda kuruduktan sonra analiz edilmiştir [116].

2.3.9 Nanokillerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

OMN, GMN, saf MMT ve HNT nanokillerinin antibakteriyel özelliklerini belirlemek amacıyla Gram-pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 13932) ve Gram-negatif *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 25922), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (ATCC 14028) bakteri suşları incelenmiştir. Bu dört bakteri suşu, gıda kaynaklı patojen türler arasında görülme sıklıkları nedeniyle seçilmiştir. *L. monocytogenes* ekstrem pH ve sıcaklık derecelerinde yaşayabildiği için gıdalarda sıklıkla görülmektedir. Özellikle süt ürünlerinde rastlanılsa da et, deniz ürünleri, sebze ve meyvelerde de

kontaminasyonuna rastlanılmaktadır. Kontaminasyon kaynağı olarak hayvan dışkıları, toprak ve su gösterilmektedir [117]. *S. aureus* ürettiği ekzotoksinler ile gıda kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır. Staphylococcal gıda zehirlenmeleri Dünya genelinde görülme sıklığı en çok olan gıda zehirlenmelerinden biridir. Bu bakterinin gıdalara kontaminasyonunda insan, toprak ve yüzeyler önemli rol oynamaktadır [118]. *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium* bakterileri ile kontamine olan salata gibi tüketilmeye hazır ürünler ciddi sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır [119]. *E. coli* O157:H7 ürettiği Shiga toksin ile her yıl gıda kaynaklı hastalıkların büyük bir kısmını meydana getirmektedir [120]. *S. Typhimurium*, gastroenterite neden olan ve gıda kaynaklı enfeksiyonların yaklaşık %30'undan sorumlu olan bir bakteridir [121]. *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7, pişmemiş ya da az pişmiş et ürünlerinde sıklıkla bozulmaya sebebiyet vermektedir [122].

Analizlerden önce dondurularak saklanmış bakteri kültürleri, Nutrient Broth (NB, Merck, Almanya) besi yerinde 37 °C'de ve 24 saat tutularak iki kez aktive edilmiş ve stok kültürler olarak kullanılmıştır [123]. Broth seyreltme yöntemi Appendini and Hotchkiss'in [124] metoduna göre uygulanmıştır. Her test tüpüne 10 mL steril NB konulmuş ve test tüplerine taze bakteri kültürlerinden 100 µL inoküle edilmiştir (10^8 - 10^9 kob/mL). Her bir test tüpüne 0,5 g (kütlece %5) nanokil örnekleri eklenmiş ve homojen bir dispersiyon elde etmek için 1 dakika boyunca vortekslenmiştir. Herhangi bir nanokil örneği içermeyen tüpler, kontrol olarak hazırlanmıştır. 24 saatlik inkübasyon sonrasında tüplerden seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Daha önceden hazırlanan Petri kaplarındaki Nutrient Agar (NA) (Merck, Almanya) üzerine seri dilüsyonlardan 100 µL damlatılmış ve daha sonra bakteriler yüzeye homojen bir şekilde yayılmıştır. Sonrasında Petri kapları 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda Petri kaplarında oluşan koloniler sayılmış ve bakteri sayıları koloni oluşturan birimler (kob/mL) olarak ifade edilmiştir. Bütün analizler iki paralelli olarak yapılmıştır.

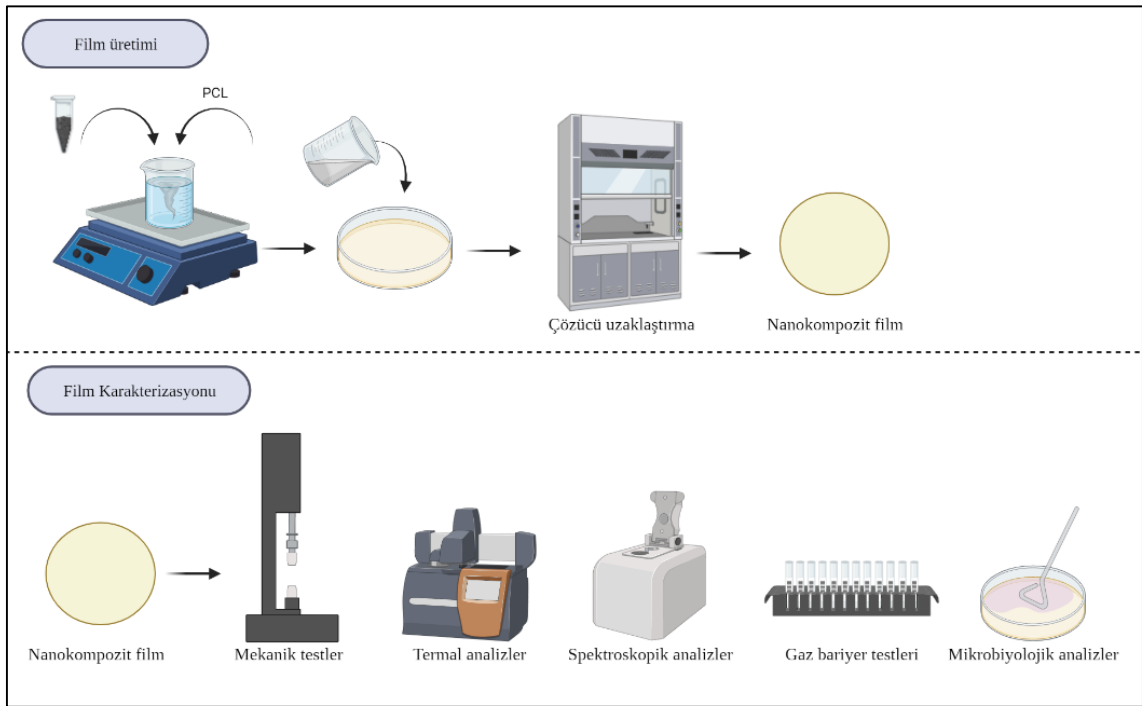
2.3.10 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBC) Testleri

NB besiyerindeki görünür bakteri üremesini değerlendirmek ve GMN'lerin antimikrobiyal etkinliğini bulmak için minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) testi uygulanmıştır. 0,2 - 5 mg/mL arasında (0,2; 0,6; 1, 2, 3, 4 ve 5 mg/mL) değişen seri nanokil-besiyeri içeren test tüpleri inokülasyondan önce hazırlanmıştır. Bakteriyel konsantrasyonlar, 0,5 McFarland standardına göre $1,5 \times 10^8$ kob/mL'ye ayarlanmıştır. Nanokil eklenmiş test tüpleri ve herhangi bir nanokil içermeyen kontrol örneği bakteri türleri ile inoküle edilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Test tüpünde herhangi bir bulanıklık veya görünür üreme göstermeyen en düşük numune konsantrasyonu, MIC olarak belirlenmiştir. Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC), herhangi bir bulanıklık olmayan test tüplerinden 50 µl'lik alikotların Nutrient agar plakalarına yayılmasıyla belirlenmiştir ve daha sonra plakalar, 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Nutrient agar plakalarında herhangi bir koloni oluşturmayan minimum nanokil konsantrasyon değeri MBC olarak kabul edilmiştir [125].

2.4 Polimer-Kil Nanokompozitlerin (PKN) Üretimi

Tez çalışmasının ikinci aşaması olan film üretiminin ve karakterizasyonunun özet grafiği Şekil 2.6'da gösterilmektedir. PCL'nin mekanik, gaz bariyer ve antimikrobiyal özelliklerini geliştirmek için içerisine GMN'ler ilave edilerek nanokompozit filmler üretilmiştir. Karşılaştırma yapabilmek amacı ile saf MMT ve HNT nanokilleri de PCL filmlerinin içerisine katılmıştır. PCL polimerinden film elde etmek amacı ile Benhacine ve arkadaşlarının uyguladığı solvent döküm yöntemi bazı değişikliklerle kullanılmıştır [126]. İlk aşamada film kalınlığını optimize edebilmek amacı ile farklı miktarlardaki (100, 200, 300, 400 ve 500 mg) PCL 10 mL kloroform ile 20 dk manyetik karıştırıcı üzerinde tamamen çözülmüştür. Elde edilen çözelti 11 cm çapındaki bir Teflon® PTFE (politetrafloroetilen) yüzey üzerine yayılarak çeker ocak altında hava akımı olmayacak şekilde 2 saat boyunca bekletilmiştir. Kloroformu tamamen uzaklaşan filmler teflon yüzeyden sıyrılarak PCL bazlı filmler oluşturulmuştur. Elastikiyet ve

diğer fiziksel özellikleri açısından 400 mg PCL içeren filmö örneğinin uygun olduğu tespit edilerek bu konsantrasyon üzerinden çalışmalar devam ettirilmiştir. Modifiye nanokil ilaveli filmleri üretebilmek için kloroformda tamamen çözünen PCL üzerine kütlece %5 oranında modifiye nanokil örneği ilave edilerek 2 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karışım yukarıda anlatıldığı gibi bir Teflon® PTFE yüzey üzerine dökülerek kurutulmuş ve filmler elde edilmiştir. Filmler, düzgün ve homojen bir yapıya sahip olmaları için mümkün olduğu kadar hava akımından uzak tutulmuştur. Aksi halde film yüzeyinde yoğunluk farklılıkları ve dalgalanmalar oluşmaktadır.



Şekil 2.6 Nanokompozit film üretimi ve karakterizasyonu (BioRender.com kullanılarak oluşturulmuştur.)

2.5 PKN'lerin Karakterizasyonu

2.5.1 PKN'lerin Film Kalınlıkları

Film örneklerinin kalınlıkları dijital bir mikrometre cihazı (Mitutoyo, Osaka, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Her bir örneğin 6 farklı bölgesinden ölçümler yapılarak ortalamaları alınmıştır [127].

2.5.2 PKN'lerin Mekanik Özellikleri

Film örneklerinin çekme direnci (tensile strength) ve kopma anındaki uzama (elongation at break) değerleri ASTM D882-12 standart metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mekanik özellikleri belirlemek amacı ile 5 kg yük hücresi bulunan bir tekstür analiz cihazı (TA.XT Plus Stable Micro Systems, Surrey, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. Cihazda yapılan ölçümler “Texture Expert” yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Film örnekleri dikdörtgen şeklinde (7 cm x 2 cm) kesilerek tekstür analiz cihazının probuna yerleştirilmiştir. Probun kavramaları arasındaki başlangıç uzaklığı 50 mm ve cihazın üst kavramayı çekme hızı 3 mm/saniye olarak ayarlanmıştır. Bütün film örneklerinden en az 4 ölçüm yapılmıştır [128].

2.5.3 PKN'lerin Renk Özellikleri

Film örneklerinin renk değerleri bir renk ölçer (CR-400, Konica Minolta, Osaka, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Renk ölçümleri CIE Lab renk uzayı olan L^* , a^* ve b^* renk değerleri göz önüne alınarak yapılmıştır. L^* (lightness, parlaklık) değeri 0 (siyah) ve 100 (beyaz), a^* değeri -60 (yeşil) ve +60 (kırmızı) ve b^* değeri -60 (mavi) ve +60 (sarı) aralığında sonuçlar vermektedir [113]. Film örneklerinin üç farklı bölgesinden renk ölçümleri alınarak bu ölçümlerin ortalaması alınmıştır. L^* , a^* ve b^* renk değerleri kullanılarak aşağıdaki denklemden (Eşitlik 2.2) renk farkı (ΔE) hesap edilmiştir [114].

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{0,5} \quad (2.2)$$

Denklemden ΔL : $L_{\text{standart}} - L_{\text{örnek}}$, Δa : $a_{\text{standart}} - a_{\text{örnek}}$ ve Δb : $b_{\text{standart}} - b_{\text{örnek}}$ olarak verilmiştir. Denklemden standart olarak, içerisinde nanokil olmayan kontrol film örneği kullanılmıştır. Böylece nanokompozit filmlerin kontrole göre renk değişimleri tespit edilmiştir. Beyaz tabakanın standart değerleri $L=93,87$, $a=-0,55$ ve $b=5,13$ olarak verilmektedir.

2.5.4 PKN'lerin Su Buharı Geçirgenliği

Su buharı geçirgenliği (water vapor permeability, WVP) gravimetrik metot ile ölçülmüştür. Deneyden önce içerisinde silika jel taneleri olan cam deney tüpleri

105 °C'de 24 saat boyunca içerisinde kalıntı nem kalmaması için kurutulmuştur. Sonra kurutulan deney tüplerinin ağız kısımlarına film örnekleri parafilm yardımı ile kapatılmıştır. Desikatöre içerisinde saf su olan ağız açık bir beher ve hazırlanan cam tüpler konulmuştur. Film ile ağız kısmı kapatılmayan deney tüpü şahit olarak desikatöre konulmuştur. Desikatör 30 °C'ye ayarlanmış bir etüvde 24 saat boyunca bekletilmiştir. Ağırlık artışını gözlemlemek için 3 saatlik periyotlarla cam tüplerin ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Analizler üç tekrarlı yapılmıştır. Film örneklerinin WVP değerleri aşağıda yazan denkleme (Eşitlik 2.3) göre hesap edilmiştir:

$$WVP = \frac{W \times X}{t \Delta P A} \quad (2.3)$$

Denklemden W/t: zamana bağlı örneğin ağırlığındaki değişim (g/saat), X: filmin kalınlığı (mm), ΔP : saf su ve silika jel arasındaki atmosferin kısmi nem basıncı farkı (2,642 KPa, 24 °C'de), A: film örneklerinin hava ile temas eden alanı (m²) olarak verilmiştir [129].

2.5.5 PKN'lerin Oksijen Geçirgenliği

Film örneklerinin oksijen geçirgenliklerini ölçmek için dolaylı bir yöntem olarak yağda peroksit sayısı tayini yapılmıştır. Deneyde kullanılan ayçiçek yağı antioksidan katkısı içermemektedir. İlk aşamada 25 mL hacmindeki deney tüplerine 15 mL kadar ayçiçek yağı konulmuştur. Deney tüplerinin ağız kısımlarına film örnekleri parafilm yardımı ile kapatılmıştır. Kontrol olarak ağız açık deney tüpü kullanılmıştır. İçerisinde ayçiçek yağı bulunan deney tüpleri etüvde 60 °C'de 9 gün boyunca bekletilmiştir. Süre sonunda deney tüplerinin içerisindeki ayçiçek yağlarında sodyum tiyosülfat titrasyonu ile peroksit sayısı tayini yapılmıştır. Peroksit sayısı tayini için 0,1 N sodyum tiyosülfat, doymuş potasyum iyodür çözeltisi, nişasta çözeltisi ve 3:1 oranında kloroform-asetik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Erlenlerin içerisine 5'er g yağ örneği konularak üzerine 30 mL kloroform-asetik asit ve 0,5 mL doymuş potasyum iyodür çözeltileri eklenmiş ve karanlıkta 5 dk bekletilmiştir. Sonra üzerine 30 mL saf su ve 1 mL nişasta çözeltisi eklenerek 0,1 N sodyum tiyosülfat ile karışımın rengi beyaz olana kadar titrasyon yapılmıştır. Analizler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar

aşağıdaki denklem (Eşitlik 2.4) ile hesaplanarak yağ örneklerinin peroksit sayıları miliekivalen O₂/kg yağ cinsinden bulunmuştur [130].

$$\text{Peroksit sayısı} = \frac{(a-b) N 1000}{m} \quad (2.4)$$

Denklemde a: titrasyonda harcanan tiyosülfat miktarı (mL), b: titrasyonda şahit için harcanan tiyosülfat miktarı (mL), N: sodyum tiyosülfatın normalitesi (N) ve m: örnek miktarı (g) olarak verilmiştir.

2.5.6 Taramalı Diferansiyel Kalorimetri (DSC) Analizi

Termal analizler bir DSC cihazı (DSC Q20, TA Instruments, Inc., ABD) kullanılarak yapılmıştır. Filmlerin kristalizasyon sıcaklığı (T_k), erime sıcaklığı (T_e) ve kristalizasyon derecesi (X_k) N. Moussaif ve arkadaşları tarafından açıklanan yöntemle göre ölçülmüştür [131]. Film örnekleri yaklaşık 5 mg ağırlığında tartılıp alüminyum panların içerisine konularak hermetik olarak kapatılmıştır. Analizler nitrojen atmosferi altında yapılmıştır. Film örneklerinin erime ve kristalizasyon sıcaklıklarının belirlenmesi 0-100 °C aralığında ve 10 °C/dk ısıtma-soğutma hızında yapılmıştır. Örnekler ilk olarak 0 °C'den 100 °C'ye ısıtılarak 100 °C'de 5 dakika süresince tutulmuştur. Daha sonra örnekler 100 °C'den 0 °C'ye 10 °C/dk hızında tekrar soğutulmuştur. T_e'ler DSC grafiklerindeki endotermik piklerin maksimum olduğu nokta seçilerek belirlenmiştir. Kristalizasyon sıcaklıkları (T_k) DSC grafiklerindeki ekzotermik piklerin maksimum olduğu nokta seçilerek belirlenmiştir. Film örneklerinin kristalinite derecesi (X_k) endotermilerin integrasyonu ile hesaplanan füzyon ısısının (ΔH_f) tamamı kristal yapıda olan saf PCL'nin füzyon ısısına (ΔH_f⁰) oranı ile hesaplanmıştır (Eşitlik 2.5) [132]. Literatürde tamamen kristal formdaki PCL'nin füzyon entalpisi 142 J/g olarak verilmiştir [133].

$$\text{Kristallik Derecesi (Xc)} = \frac{\Delta H}{\Delta H^0} \times 100 \quad (2.5)$$

2.5.7 ATR-FTIR Spektroskopisi Analizi

PKN numunelerinin moleküler karakterizasyonu, tek yansımali elmas kristalli bir Bruker ATR ekimani ile donatılmış FTIR spektrometre (Bruker Tensor 27, Bremen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, oda sıcaklığında orta-IR

aralığında olan 4000–400 cm^{-1} dalga boyunda yapılmıştır. Her spektrumun ortalaması, 4 cm^{-1} çözünürlükte 16 tarama üzerinden yapılmıştır. Ölçümden önce bir arka plan taraması kaydedilmiş ve numune spektrumlarından çıkarılmıştır. Cihaz kontrolü ve veri toplama için OPUS yazılımı (Versiyon 7.2, Bruker optics) kullanılmıştır [110], [134].

2.5.8 Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) Görüntüleri

PKN'lerin SEM mikrografları, vakum koşullarında bir Zeiss EVO® LS 10 (Carl Zeiss Ltd., Almanya) SEM cihazı ile 7 kV çalışma voltajında ve 10000x büyütme ile elde edilmiş ve morfolojik ve dağılım özellikleri açısından incelenmiştir [115].

2.5.9 PKN'lerin Antibakteriyel Aktiviteleri

Filmlerin antibakteriyel aktivitelerini belirlemek amacı ile Gram-pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 13932) ve Gram negatif *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 25922), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (ATCC 14028) bakteri suşları kullanılmıştır. Bu patojenler genellikle kıyma gibi et ürünleri ile ilişkilendirilmiştir ve kontamine et tüketimi durumunda ciddi hastalıklara neden olabilmektedir [135]. Bakteri suşlarının aktifleştirilmesi için dondurularak saklanan stok kültürden alınarak NB sıvı besiyerine inoküle edilerek iki defa aktifleştirilmiştir ve 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Belirtilen bakteriler üzerine nanokompozit filmlerin antibakteriyel aktivitesine disk difüzyon testi ile bakılmıştır. 15 mm çapında kesilen film diskleri UV ışığı altında sterilize edilmiştir. NA steril koşullarda petri kaplarına dökülerek katılaştırıldıktan sonra üzerine belirtilen bakterilerden %1 v/v olacak şekilde ekimler yapılmıştır. Bakterilerin katı besiyeri tarafından yeterince emilebilmesi için yaklaşık 10 dakika boyunca petri kapları bekletilmiştir. Daha sonra önceden sterilize edilen film diskleri aseptik koşullarda katı besiyeri yüzeyine yerleştirilmiştir. Petri kapları 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Katı besiyeri yüzeyindeki disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları gözlemlenmiştir ve zon çapları mm cinsinden ölçülmüştür [136], [137].

2.6 Gıda Denemeleri

2.6.1 Sığır Kıyması

2.6.1.1 Kıymanın Analize Hazırlanması

Sığır karkasının ön kol uzvu kasından (*Triceps brachii*) elde edilmiş ve dinlendirilmiş etten elde edilen kıyma örneklerinden 10'ar gram tartılarak daha önceden UV ışığı kullanılarak sterilize edilen nanokompozit film örnekleri ile hava almayacak şekilde kapatılmıştır. Kontrol olarak ticari bir düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) filmi (0,910 g/cm² yoğunluk, 0,030 mm kalınlık ve 120 °C erime sıcaklığı) kullanılmıştır. Kıyma örnekleri ince bir tabaka halinde tüm yüzeyi filmlere temas edecek şekilde kapatılmıştır ve plastik Petri kaplarının içerisine yerleştirilmiştir. Kapatılan numuneler 6 x 6 cm² kare şeklinde ve 0,3 cm kalınlığındadır. Örnekler 8 gün boyunca 4±1 °C sıcaklıktaki laboratuvar tipi soğutucuda depolanmıştır. Kıyma örneklerinin mikrobiyal analizleri ve pH ölçümleri 0., 1., 5. ve 8. depolama günlerinde yapılmıştır.

2.6.1.2 Mikrobiyolojik Analizler

Kıyma numunelerinin farklı filmler ile kaplandıktan sonraki süreçte doğal mikrobiyal yükünün tespit edilmesi amacıyla yayma plak yöntemi ile analizler gerçekleştirilmiştir. Örneklerin toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB), laktik asit bakterisi (LAB) ve toplam koliform bakteri (TK) yüklerindeki değişimler incelenmiştir. İlk aşamada film örneklerinden çıkarılan kıyma örnekleri Stomacher poşetlerine aseptik şartlarda 10'ar gram tartılarak 90 mL %0,1'lik steril peptonlu su ile bir Stomacher Cihazı (Interscience Bagmixer 400 P, Fransa) kullanılarak homojenize edilmiştir. Örnekler 2 dakika boyunca homojenize edildikten sonra 1 mL alikotlar alınarak steril peptonlu su ile seri desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır [138]. Tahmin edilen bakteri sayısına uygun olan dilüsyonlardan 100 µl alınarak daha önceden petri kaplarına dökülerek katılaştırılan katı besiyerlerinin üzerine steril bir Drigalski spatülü ile yüzeye yayma yapılmıştır. TMAB sayımı için katı besiyeri olarak Plate Count Agar (PCA, Merck, Almanya) kullanılmıştır. Petriler inkübatörde 37 °C'de 24 saat bekletilmiştir ve inkübasyon sonucunda gelişen koloniler sayılmıştır. LAB sayımı için selektif bir besiyeri olan De Man, Rogosa and

Sharpe Agar (MRS, Merck, Almanya) kullanılmıştır. Petriler inkübatörde 30 °C’de 3 gün boyunca bekletilmiştir ve inkübasyon sonucunda gelişen koloniler sayılmıştır. TK sayımı için katı besiyeri olarak Gram-negatif ve enterik bakteriler için selektif bir besiyeri olan MacConkey Agar (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Petriler inkübatörde 37 °C’de 24 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonucunda pembe-kırmızı renkli koloniler sayılmıştır. Sonuçlar kob/g olarak ifade edildikten sonra log10 (kob/g) olarak hesaplanmıştır [139]. Bütün analizler iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

2.6.1.3 pH Değeri Ölçümleri

Kıyma örnekleri (10 g), 90 mL peptonlu su ile karıştırılarak Stomacher cihazında 2 dk boyunca homojenize edilmiş ve süspansiyonun pH’sı bir pH metre kullanılarak analiz edilmiştir. Her bir örnekten 3 kez ölçüm alınarak ortalamaları alınmıştır [140].

2.6.2 Ekmek

2.6.2.1 Ekmek Üretimi ve Analize Hazırlanması

Raf ömrü testleri için üretilen ekmeklerin formülasyonunda buğday unu (1 kg, %100), NaCl (%2,0), ticari maya (%2,0) ve su (%60) kullanılmıştır. Ekmek hamuru bir yoğurma makinesi ile (Kitchen Aid, ABD) 3 dakika yavaş ve sonra 8 dakika yüksek hızda yoğurulmuştur. Yoğurulan ve hazır hale getirilen hamur 160 gramlık olacak şekilde tartılmıştır. Hamur parçaları el ile yumak haline getirildikten sonra 15 dakika boyunca oda sıcaklığında fermentasyona bırakılmıştır. Süre sonunda yumaklar daha önceden 30 °C ve %80 bağıl neme (RH) ayarlanmış bir iklimlendirme kabinine (Nüve TK252, Türkiye) konularak 45 dakika bekletilmiştir. Fermentasyon sonunda yumaklar teflon kaplı ekmek tavalarına yerleştirilerek 200 °C sıcaklıktaki bir fırında 30 dakika boyunca pişirilmiştir. Fırından çıkarılan ekmekler (Şekil 2.7) analize alınmadan önce 2 saat boyunca soğumaya bırakılmıştır [141]. Dilimlenen ekmekler daha önceden UV ışığı kullanılarak sterilize edilen nanokompozit film örnekleri ile kapatılmıştır. Bunun yanında içerisinde hiçbir nanokil bulunmayan film ve saf haldeki LDPE filmler kontrol örnekleri olarak kullanılmıştır. Filmlerin eşit boyutta dilimlenmiş

(4 cm x 4 cm x 3 cm kare prizma şeklinde) ekmek örneklerinin yüzeyine tamamen temas etmesine dikkat edilmiştir (Şekil 2.8). Film örnekleri ile kapatılan ekmekler oda sıcaklığında 0, 1, 4 ve 7 gün boyunca bekletilerek analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca ekmeklerin üretildiği gün herhangi bir ön işlem yapılmadan analizleri gerçekleştirilmiştir. Ekmek örneklerinin mikrobiyolojik, tekstürel, renk ve pH analizleri yapılmıştır.



Şekil 2.7 Üretimi yapılan ekmekler



Şekil 2.8 PKN ile kaplanmış ekmek örnekleri 1) PCL-MMT+CTAB20+Ag, 2) PCL-HNT+CTAB10+Ag, 3) PCL-MMT, 4) PCL-HNT, 5) Kontrol ve 6) LDPE film

2.6.2.2 Mikrobiyolojik Analizler

Ekmek örneklerine raf ömrü çalışması kapsamında belirtilen aralıklarla küf-maya analizi yapılmıştır. Bu amaçla yayma plak yöntemi ile ekimler yapılmıştır. İlk aşamada film örneklerinden çıkarılan ekmekler Stomacher poşetlerine aseptik şartlarda 10'ar gram tartılarak 90 mL %0,1'lik steril peptonlu su ile bir Stomacher Cihazı (Interscience Bagmixer 400 P, Fransa) kullanılarak homojenize edilmiştir. Örnekler 2 dakika boyunca homojenize edildikten sonra 1 mL alikotlar alınarak steril peptonlu su ile seri desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Seri dilüsyonlardan 100 µl alınarak daha önceden petri kaplarına dökülerek katılaştırılan Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) (Merck, Darmstadt, Almanya) üzerine ekilmiş ve steril bir Drigalski spatülü ile yüzeye yayma yapılmıştır. Sonrasında petri kapları 25 °C'de 4 gün boyunca inkübe edilmiştir. Sonuçlar kob/g olarak ifade edildikten sonra log₁₀(kob/g) olarak hesap edilmiştir [142].

2.6.2.3 Tekstür Analizi

Ekmek örneklerinin tekstürel analizi, 5 kg yük hücresi bulunan bir tekstür analiz cihazına (TA.XT Plus Stable Micro Systems, Surrey, Birleşik Krallık) alüminyum silindir prob takılarak yapılmıştır. Prob, ekmek örneğine 1 mm/s hızda temas etmiştir. Çift kompresyon testi (TPA) yapılan analizde iki kompresyon arasında 30 saniye gecikme süresi verilmiştir. Cihazda yapılan ölçümler "Texture Expert" yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. TPA grafiğinden sertlik (hardness, N), elastikiyet (springiness), kohesivlik (cohesiveness), sakızimsılık (gumminess, N), çiğnenebilirlik (chewiness, N) ve anlık elastikiyet (resilience) değerleri hesaplanmıştır [143].

2.6.2.4 Renk Analizi

Ekmek örneklerinin renk değerleri bir renk ölçer (CR-400, Konica Minolta, Osaka, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Renk ölçümleri CIE Lab renk uzayı olan L^* , a^* ve b^* renk değerleri göz önüne alınarak yapılmıştır. L^* (lightness, parlaklık) değeri 0 (siyah) ve 100 (beyaz), a^* değeri -60 (yeşil) ve +60 (kırmızı) ve b^* değeri -60 (mavi) ve +60 (sarı) aralığında sonuçlar vermektedir [113]. Ekmek örneklerinin üç farklı bölgesinden renk ölçümleri alınarak bu ölçümlerin ortalaması alınmıştır.

L^* , a^* ve b^* renk değerleri kullanılarak aşağıdaki eşitlikten (Eşitlik 2.6) toplam renk farkı (ΔE) hesap edilmiştir [114]:

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{0,5} \quad (2.6)$$

Denklemde ΔL : $L_{\text{standart}} - L_{\text{örnek}}$, Δa : $a_{\text{standart}} - a_{\text{örnek}}$ ve Δb : $b_{\text{standart}} - b_{\text{örnek}}$ olarak verilmiştir. Beyaz tabakanın standart değerleri $L=93,87$, $a=-0,55$ ve $b=5,13$ olarak verilmektedir.

2.6.2.5 pH Değeri Ölçümleri

Ekmek örnekleri (10 g), 90 mL peptonlu su ile karıştırılarak Stomacher cihazında 2 dk boyunca homojenize edilmiş ve süspansiyonun pH'sı bir pH metre kullanılarak analiz edilmiştir. Her bir örnekten 3 kez ölçüm alınarak ortalamaları alınmiştır [140].

2.6.3 İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler Windows tabanlı istatistik programı JMP versiyon 15.2.1 (SAS Institute. Inc. Cary, NC, ABD) ile tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılarak yürütölmüştür. Veriler arasındaki istatistiksel farklılıklar Tukey's HSD çoklu karşılaştırma testi ile %95 güven seviyesinde değerlendirilmiştir. Film örneklerinin ATR-FTIR spektrum verilerinin farklılıklarını belirlemek amacıyla temel bileşen analizi (Principle component analysis, PCA) JMP ile yapılmıştır. PCA analizi çok büyük hacimdeki verileri temel bileşenlere indirgeyerek spektrumlardaki farklılıkları birbirinden ayırt edebilen kullanışlı bir yöntemdir. Ortalama değerler ve standart sapmalar Excel programı (Microsoft Office 2016) kullanılarak hesaplanmıştır.

3.1 Modifiye Nanokillerin Karakterizasyonu

3.1.1 Nanokillerin Zeta Potansiyeli ve Partikül Boyutu

Nanokillerin iç ve dış yüzeylerindeki sürfaktanların varlığı katyon değişimi ve van der Waals kuvvetleri olmak üzere iki farklı mekanizma ile açıklanmaktadır. Düşük sürfaktan yoğunluğunda katyon değişimi mekanizması van der Waals kuvvetlerinden daha baskın olmaktadır. Ancak sürfaktan yoğunluğu arttıkça durum tam tersi şekilde gerçekleşmektedir [144]. Diğer yandan, nanokillerle sürfaktanların ve gümüşün etkileştirilmesindeki sıra, nanokil yüzeyinden Ag^+ kaybının oluşmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. Bu durum nanokillerin karakteristiklerini yüzey potansiyelleri ile sürfaktan ve Ag^+ iyonlarının bağlanma özellikleri bakımından etkilemektedir. Savaş ve Hancer'in bir çalışmasında, $AgBr$ oluşumunun önlenmesi amacı ile MMT'ye önce gümüş daha sonra ise CTAB eklenmiştir. Ancak bu durum MMT yüzeyinden önemli bir miktarda gümüşün eksilmesine neden olmuştur [115]. Ag^+ kaybını azaltabilmek için ve sürfaktanların yüzeyde kalmasını sağlamak için öncelikle sürfaktanlar daha sonra ise gümüş eklenmesi daha verimli olmaktadır. Bu proses, nanokil yüzeyinde sürfaktan olmayan yüzey grupları oluşturarak Ag^+ iyonlarının bu gruplara iyonik olarak bağlanmasını ve proses boyunca kaybının en aza indirilmesini sağlamaktadır [144]. Zhu ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada MMT'ye CTAB ve Al_{13} , hem beraber hem de önce CTAB daha sonra da Al_{13} olacak şekilde interkale edilmiştir. Al_{13} kilin ara tabakaları üzerinde bir kilit etkisi oluşturarak CTAB'in bağlanmasını engellemiştir [145]. Bu bulgular ışığında, bu çalışmada önce sürfaktanlar daha sonra ise gümüş iyonları nanokiller ile etkileştirilmiştir.

Nanokillerin sürfaktan konsantrasyonlarına karşı sahip oldukları Zeta potansiyelleri Tablo 3.1 ve Şekil 3.1'de verilmiştir. CTAB ve PDAC ile modifiye edilen nanokillerin Zeta potansiyelleri, sürfaktanların katyonik karakterleri nedeniyle pozitif olarak artma eğilimindedir. Bu sonuç bize, sürfaktanların negatif

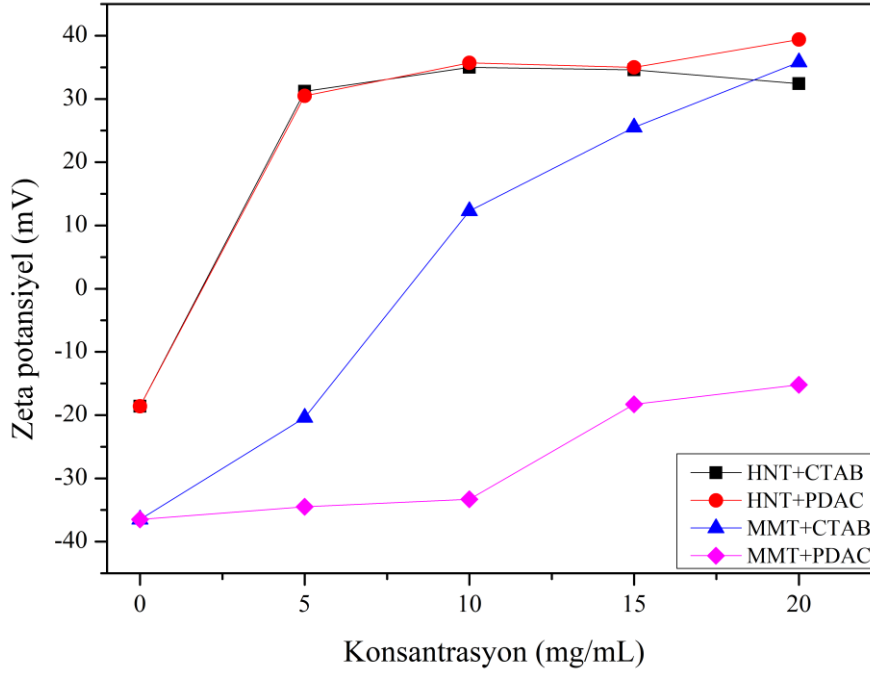
yüklü nanokillerin yüzeyine bağlanarak modifiye ettiğini ve bu modifikasyonun sürfaktan miktarına bağlı olduğunu göstermektedir [146]. CTAB ve PDAC HNT nanokilinde yüzey yükünü birbirine yakın olarak artırmıştır. Ancak CTAB, MMT nanokilinde yüzey yükünü PDAC'den daha fazla artırmıştır. Bu durum moleküler yapılarına bağlı olarak sürfaktan-nanokil bağlanma etkileşimleri ile açıklanabilmektedir. Karbon zincir uzunlukları ve geometrileri, nanokillerin yüzey yükünü arttırmada etkili parametrelerden bazılarıdır. Sürfaktan üzerinden taşınan karbon içeriği arttıkça nanokil yüzeyindeki pozitif yük de artmaktadır [147]. Elde edilen verilere göre Zeta potansiyeldeki değişimin en çok olduğu numuneler olan MMT+CTAB20, MMT+PDAC20, HNT+CTAB10 ve HNT+PDAC20 seçilmiş ve bu numuneler ile sonraki analizler yapılmıştır. Literatürde sürfaktanların nanokiller ile etkileşimi hakkında pek çok çalışma yapılmıştır. Bir çalışmada, bitkilerde küfler tarafından üretilen bir mikotoksin olan zearalenon moleküllerini adsorbe edilebilmesi için çeşitli karbon zinciri uzunluklarına sahip sürfaktanlar kullanılmıştır. Sonuçta, CTAB ve setilpridiniyum (CP) sürfaktanı ile modifiye edilmiş MMT killeri görece daha iyi adsorplama özelliği göstermiştir [148].

Tablo 3.1 OMN'lerin mV cinsinden Zeta potansiyelleri

Örnek	Zeta Pot. (mV)	Örnek	Zeta Pot. (mV)
MMT	-36,5±0,4 ^F	HNT	-18,6±0,7 ^{CD}
MMT+CTAB5	-20,4±0,9 ^{EF}	HNT+CTAB5	31,2±0,5 ^{AB}
MMT+CTAB10	12,3±0,5 ^{BC}	HNT+CTAB10	35,0±0,2 ^A
MMT+CTAB15	25,5±0,9 ^{AB}	HNT+CTAB15	34,6±0,5 ^A
MMT+CTAB20	35,8±0,6 ^A	HNT+CTAB20	32,4±1,0 ^{AB}
MMT+PDAC5	-34,5±2,0 ^{EF}	HNT+PDAC5	30,5±0,6 ^{AB}
MMT+PDAC10	-33,3±2,4 ^{EF}	HNT+PDAC10	35,7±0,2 ^A
MMT+PDAC15	-18,3±0,3 ^{DEF}	HNT+PDAC15	35,0±1,9 ^A
MMT+PDAC20	-15,2±1,6 ^{DE}	HNT+PDAC20	39,4±0,5 ^A

HNT ve MMT sırasıyla halloysit ve MMT nanokilleri; CTAB ve PDAC sırasıyla N-setil-N,N,N-trimetilamonyum bromit ve poli diallildimetilamonyum klorit; 0-20 mg/mL arasındaki sayılar sürfaktanların konsantrasyonlarıdır; ±: standart sapma

A-F: Tablodaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).



Şekil 3.1 Yüzey aktif madde konsantrasyonuna karşı nanokillerin Zeta potansiyel değerlerinde meydana gelen değişim

Tablo 3.2’de mV cinsinden OMN ve GMN’lerin Zeta potansiyellerinin bir karşılaştırması gösterilmektedir. Pozitif yüklerindeki değişime göre OMN’ler ve SMN’ler arasında sırasıyla %95 ($p < 0.05$) anlamlılık düzeyinde anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Saf MMT ve halloysitin yüzey Zeta potansiyelleri gümüşün etkisi ile değişmiş ve pozitif olarak yüklenmiştir. Bu değişikliğin sebebi, modifikasyon sırasında iyonize olan Ag^+ iyonlarının katyon değişim mekanizması ile nanokillerin yüzeylerinde bulunan silikat tabakalarına bağlanarak yüzeyi pozitif olarak yüklemesidir. Bu durum, nanokillerin antimikrobiyal özelliğini kazanması açısından önemlidir. MMT+CTAB20’nin Zeta potansiyeli gümüş modifikasyonundan sonra bir miktar azalırken, negatif yüklü MMT+PDAC20 pozitif yüklü hale gelmiştir. HNT+CTAB10 ve HNT+PDAC20 numunelerinin her ikisinin pozitif yüklerinde azalma meydana gelmiştir.

Tablo 3.2 OMN ve GMN'lerin Zeta potansiyel değerlerinin karşılaştırması

Örnek	Zeta Pot. (mV)	Örnek	Zeta Pot. (mV)
MMT	-36,5±0,4 ^I	MMT+Ag	-29,9±0,6 ^H
MMT+CTAB20	35,8±0,6 ^B	MMT+CTAB20+Ag	31,2±0,2 ^C
MMT+PDAC20	-15,2±1,6 ^F	MMT+PDAC20+Ag	2,5±1,5 ^E
HNT	-18,6±0,7 ^G	HNT+Ag	-13,3±0,8 ^F
HNT+CTAB10	35,0±0,2 ^B	HNT+CTAB10+Ag	30,1±1,0 ^C
HNT+PDAC20	39,4±0,5 ^A	HNT+PDAC20+Ag	27,5±2,1 ^D

HNT ve MMT sırasıyla halloysit ve montmorillonit nanokilleri; CTAB ve PDAC sırasıyla N-setil-N,N,N-trimetilamonyum bromit ve poli dialildimetilamonyum klorit; 0-20 mg/mL arasındaki sayılar sürfaktanların konsantrasyonlarıdır; Ag: Gümüş içeren ±: standart sapma

A-I: Tablodaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

Nanokillerin partikül boyutları Pk 1 Ortalama Aralığı (d.nm) cinsinden Tablo 3.3'te verilmiştir. Tablo 3.3'e göre, saf HNT ve MMT nanokillerinin diğer modifiye nanokillere göre daha fazla agregasyon eğiliminde olduğu görülmektedir. Nanokillerin yüzeylerindeki pozitif yükten kaynaklanan itici etki, modifiye nanokillerin agrege olmasını azaltmaktadır. Bu durumda, sürfaktanların katyonik özelliklerinden kaynaklanan elektrostatik itme, nanokil parçacıkları arasındaki Van der Waals çekimini yenmiştir. Tüm iyonik kuvvetler göz önüne alındığında, koagülasyonu önlemek için potansiyel bir bariyer inşa edilmiştir [149]. MMT+CTAB20 ve MMT+PDAC20 gümüş modifikasyonundan sonra daha düşük ortalama partikül boyutuna sahip olmuştur. HNT+CTAB10'un ortalama partikül boyutu ise gümüş modifikasyonundan etkilenmemiştir (P>0,05). HNT+PDAC20'nin ortalama partikül boyutu gümüş modifikasyonu sonucunda yaklaşık iki katı kadar artmıştır. Bu sonuçlara bakarak, OMN ve GMN'lerin saf nanokillere kıyasla ortalama partikül boyutlarının kabul edilebilir seviyelerde olduğu varsayılabilir.

Tablo 3.3 Nanokillerin partikül boyutları

Örnek	Pk 1 Ort Ara (d.nm)	Örnek	Pk 1 Ort Ara (d.nm)
MMT	396,7±10,2 ^A	MMT+Ag	385,9±39,4 ^A
MMT+CTAB20	125,1±2,1 ^E	MMT+CTAB20+Ag	31,2±4,3 ^G
MMT+PDAC20	210,0±74,6 ^D	MMT+PDAC20+Ag	92,1±18,9 ^F
HNT	293,8±7,9 ^B	HNT+Ag	242,5±21,8 ^C
HNT+CTAB10	97,5±12,5 ^F	HNT+CTAB10+Ag	97,1±10,5 ^F
HNT+PDAC20	100,8±26,8 ^F	HNT+PDAC20+Ag	216,0±36,8 ^D

A-G: Tablodaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

3.1.2 Nanokillerin Hidrofilik/Hidrofobik Özellikleri

Katı yapıdaki maddelerin ıslanabilirlik düzeyleri yüzeylerinin sürfaktanlar ile modifikasyonu sonucunda değiştirilebilmektedir [150]. Nanokillerin temas açısının 90 dereceye yakın olması malzemenin su/yağ ya da yağ/su emülsiyon stabilizasyonunu artırmaktadır [151]. Pellet haline getirilmiş OMN ve GMN'lerin saf su ile temas açıları Tablo 3.4'te verilmektedir. Numunelerin temas açısı değerlerine bakıldığında, modifikasyon neticesinde nanokillerin hidrofobikliklerinde artış olduğu görülmektedir. MMT+CTAB20, diğer numunelere kıyasla en yüksek hidrofobik özellik sergilemiştir (78.08 ± 2.42). MMT+CTAB20+Ag ise gümüş içeren örnekler arasında en yüksek hidrofobikliğe sahiptir (73.69 ± 0.03). Saf HNT MMT'ye göre daha hidrofilik bir yapıda iken bunların gümüş içeren numuneleri arasında önemli bir farklılık gözlemlenmemiştir ($P > 0,05$). MMT+PDAC20 ve MMT+PDAC20+Ag arasında da önemli bir farklılık oluşmamıştır ($P > 0,05$). HNT+PDAC20, HNT+CTAB10'ye göre daha hidrofilik bir yapıya sahip olmuştur. Ogunlaja ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, CTAB ile organomodifiye edilen MMT nanokillerinin su ile temas açıları CTAB konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artmıştır [146]. Bu çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 3.4 OMN ve GMN'lerin saf su ile temas açıları

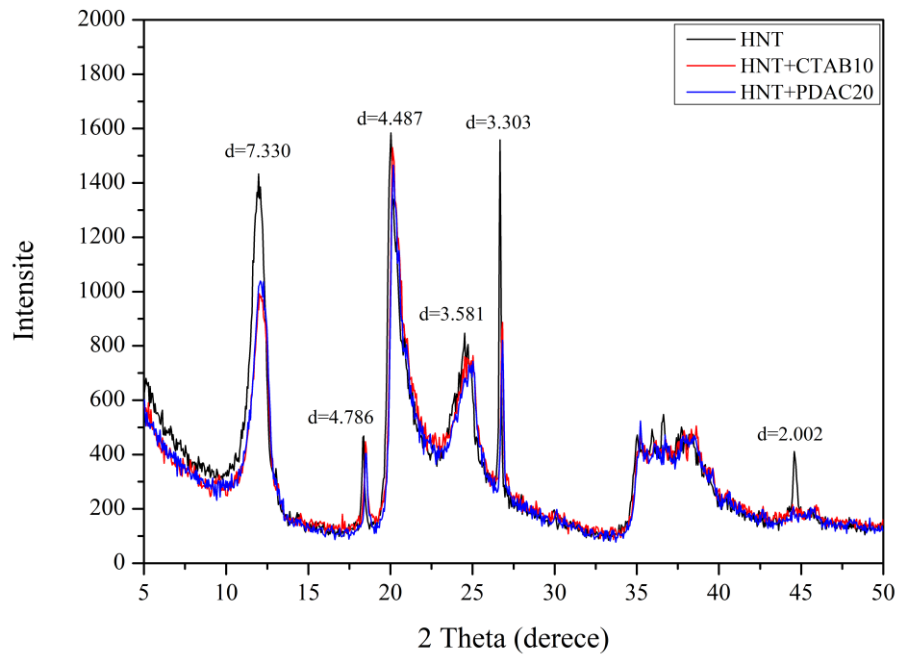
Örnek	Temas açısı (°)	Örnek	Temas açısı (°)
MMT	$65,32 \pm 0,31^C$	MMT+Ag	$65,06 \pm 1,07^C$
MMT+CTAB20	$78,08 \pm 2,42^A$	MMT+CTAB20+Ag	$73,69 \pm 0,03^{AB}$
MMT+PDAC20	$68,60 \pm 0,48^{BC}$	MMT+PDAC20+Ag	$68,73 \pm 0,40^{BC}$
HNT	$53,88 \pm 0,28^D$	HNT+Ag	$50,42 \pm 1,50^D$
HNT+CTAB10	$74,74 \pm 0,98^A$	HNT+CTAB10+Ag	$65,22 \pm 1,40^C$
HNT+PDAC20	$55,55 \pm 0,49^D$	HNT+PDAC20+Ag	$64,50 \pm 0,57^C$

A-D: Tablodaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

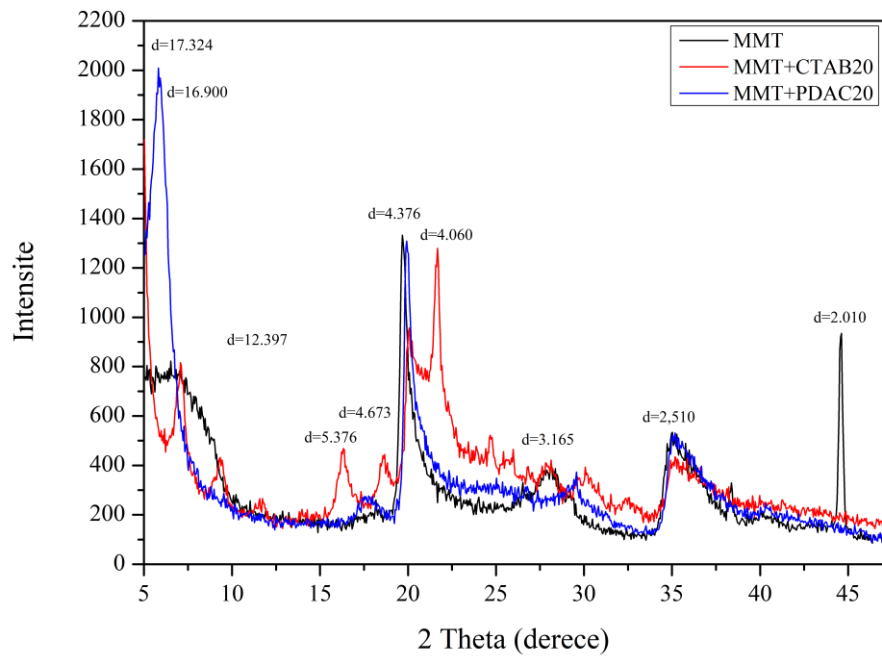
3.1.3 Nanokillerin XRD Desenleri

Geniş açılı XRD yöntemi nanokillerdeki galeri boşluğunun mesafesini (d-aralığı) ölçmede klasik bir yöntemdir. İnterkalasyon sırasında organokillerin galeri boşluğu kil tabakalarını dışa doğru iterek d-aralığının artmasına sebep olmaktadır.

Bunun sonucunda difraksiyon açısı ($^{\circ}2\theta$) piki daha düşük derecelere doğru kaymaktadır [152]. 1:1 tabakalı HNT 10,1 Å kalınlığında iken bunun 3 Å kadarı su molekülünün kalınlığı ve 7,1 Å kadarı ise HNT'nin kalınlığıdır. 40 °C civarında ısıtıldığında ise bu değer 7,1 Å olarak kalmaktadır. Kuru HNT'nin (≈ 7 Å) düzensiz kaolinite olan yapısal benzerliği XRD deseninde kimlik saptamada zorluklara sebep olmaktadır. HNT; tübüler morfolojisi, yüksek düzensizliği, küçük kristal boyutu ve çeşitli hidrasyon derecelerindeki tabakaları nedeniyle 7,2-7,6 Å arasında geniş ya da zayıf pik vermektedir. Yüksek sıcaklıklarda ön ısıtma işlemleri bu değeri yaklaşık 7,2 Å'a kadar çekebilmektedir. HNT'yi kaolinitten ayıran en belirgin piklerden biri de 4,4 Å'dır [6]. Şekil 3.2'de HNT ve organomodifiye edilmiş HNT'lerin XRD desenleri ile d-aralığı değerleri verilmiştir. HNT nanokillerinin spesifik pikleri $d=3,581$ Å ve $d=7,330$ Å olarak görülmektedir. $d=3,581$ Å spesifik HNT pikini vermektedir. Bu nedenle hem saf HNT'de hem de sürfaktanlar ile modifiye edilmiş HNT'lerde bu piklerin intensiteleri sabit kalmıştır. $d=7,330$ Å ise tabakalar arasındaki bazal genişliği göstermektedir. Bu pikin azalması bize bazal boşluğunun arttığını göstermektedir. Modifiye HNT'lerin $d=7,330$ Å'daki intensiteleri saf HNT'ye göre daha düşük çıkmıştır. Bu durum, kullanılan sürfaktanların nanokillerin tabakaları arasındaki boşluğu artırdığını göstermektedir. MMT nanokilininin d-aralığını veren $d=12$ Å değerinde tek bir karakteristik piki vardır [153]. Şekil 3.3'te MMT ve organomodifiye edilmiş MMT'lerin XRD desenleri verilmiştir. d-aralık değeri PDAC ile organomodifiye edilen MMT'de 16,900 Å olmaktadır. CTAB ile organomodifiye edilen MMT'de ise bu değer 17,324 Å olmaktadır ve $d=12,397$ Å değerinde bir pik daha vermektedir. Bu sonuçlara göre MMT'nin 12 Å olan normal bazal boşluğunun boyutu, organomodifiye edildikten sonra daha yüksek değerlere doğru kaymıştır. CTAB ile organomodifiye edilen montmorillonitin tabakaları arasındaki boşluk bu sonuca göre PDAC'ye göre daha fazla artmıştır. Bazal boşluğun nanokillerde artması polimer ile daha iyi interkalasyon/eksfoliasyon göstermesine sebep olmaktadır ve bu durum polimerin biyobozunmasını hızlandırmaktadır [154].



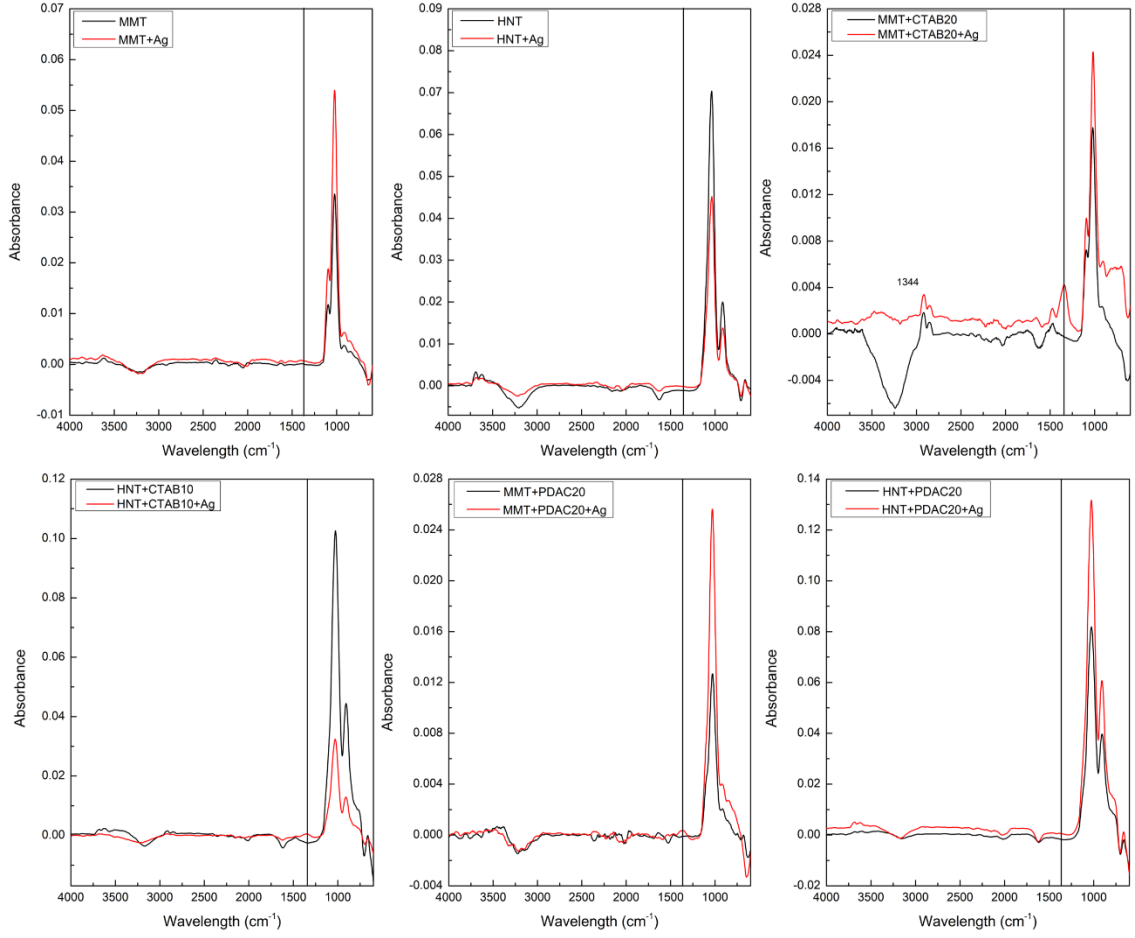
Şekil 3.2 HNT ve modifiye edilmiş HNT örneklerinin XRD desenleri



Şekil 3.3 MMT ve modifiye edilmiş MMT örneklerinin XRD desenleri

3.1.4 Nanokillerin Yapısal Özellikleri

ATR-FTIR spektrometresi modifiye nanokillerin moleküler yapısını analiz etmek için hızlı bir araçtır. Bu yöntemin amacı modifiye nanokillerin kimyasal yapısındaki bağları inceleyerek nanokillerdeki değişimler hakkında bilgi sahibi olmaktır. Gümüş ile modifiye edilen ve edilmeyen nanokillerin spektrumları Şekil 3.4'te verilmiştir. Ag^+ iyonlarının 1344 cm^{-1} dalgaboyundaki belirgin piki spektrumlar üzerinde işaretlenerek takip edilmiştir. Bu spektrumlarda MMT yüzeyindeki Si-O, Al-O ve Ca-O titreşim bantları sırasıyla 468, 525, 620, 798, 917, 1052, 1083, 1429, 1638, 3437 ve 3629 cm^{-1} olarak görünmektedir. 468, 525, 798, 1052 ve 1083 cm^{-1} SiO_4 'ün tetrahedral yapısındaki çekme ve eğilme hareketlerini göstermektedir. 918 cm^{-1} 'deki pik, Al-Al-OH'nin eğilme hareketini göstermektedir. $1000\text{-}1100 \text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen pikler, MMT'nin yapısındaki Si-O titreşimlerini güçlü bir şekilde göstermektedir. Sırasıyla 468 ve 525 cm^{-1} 'deki bantlar Si-O-Si ve Al-O-Si eğilme titreşimlerini göstermektedir. 620 cm^{-1} 'deki pik, Al-O ve Si-O bağlarının yüzeyden dışarıya doğru titreşimlerini göstermektedir. 1683 cm^{-1} 'deki pik sudaki H-O-H eğilme hareketine ve 3437 cm^{-1} 'deki pik ise Si-O-H silanol grubundaki OH titreşimlerine aittir [155]. $1506\text{-}1550 \text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikler AgNO_3 'teki nitrat varlığını göstermektedir [156]. HNT'nin iç yüzeyindeki O-H gruplarının gerilmesiyle $3620\text{-}3695 \text{ cm}^{-1}$ arasında adsorpsiyon pikleri oluşmaktadır. 1647 cm^{-1} 'deki pik su moleküllerinin katmanlar arasındaki titreşimlerini göstermektedir. 1030 ve 1111 cm^{-1} , sırasıyla Si-O-Si ve Si-O bağlarının çekme titreşimlerini göstermektedir. 470 , 538 ve 912 cm^{-1} pikleri sırasıyla Si-O-Si titreşimleri, Al-O-Si titreşimleri ve iç yüzey hidroksil gruplarına aittir [157].



Şekil 3.4 Gümüş ile modifiye edilen ve edilmeyen nanokillerin ATR-FTIR spektroskopisi grafikleri

3.1.5 Modifiye Nanokillerin Ağır Metal/Ag İçeriği

ICP-MS, nanokillerdeki gümüş gibi ağır metallerin miktarını belirlemek için kullanılan güvenilir bir yöntemdir. GMN'ler ICP-MS ile kantitatif olarak analiz edilmiştir ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.5'te verilmiştir. Ag^+ iyon bağlama kapasitesi GMN'lerin türüne göre değişiklik göstermektedir. Sonuçlar, MMT+Ag'nin diğer GMN'lere kıyasla en yüksek gümüş iyon kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca ICP-MS sonuçlarına göre, Ag^+ iyonları MMT'ye, HNT'ye oranla daha çok miktarda bağlanmıştır. Nano ölçekte antimikrobiyal malzemelerin boyutu ve şekli, antimikrobiyal etkinliği ve potansiyel toksisiteyi etkileyen mevcut spesifik yüzey alanı ile ilişkilidir [158].

Tablo 3.5 ICP-MS ile elde edilen nanokil örneklerindeki Ag⁺ miktarı

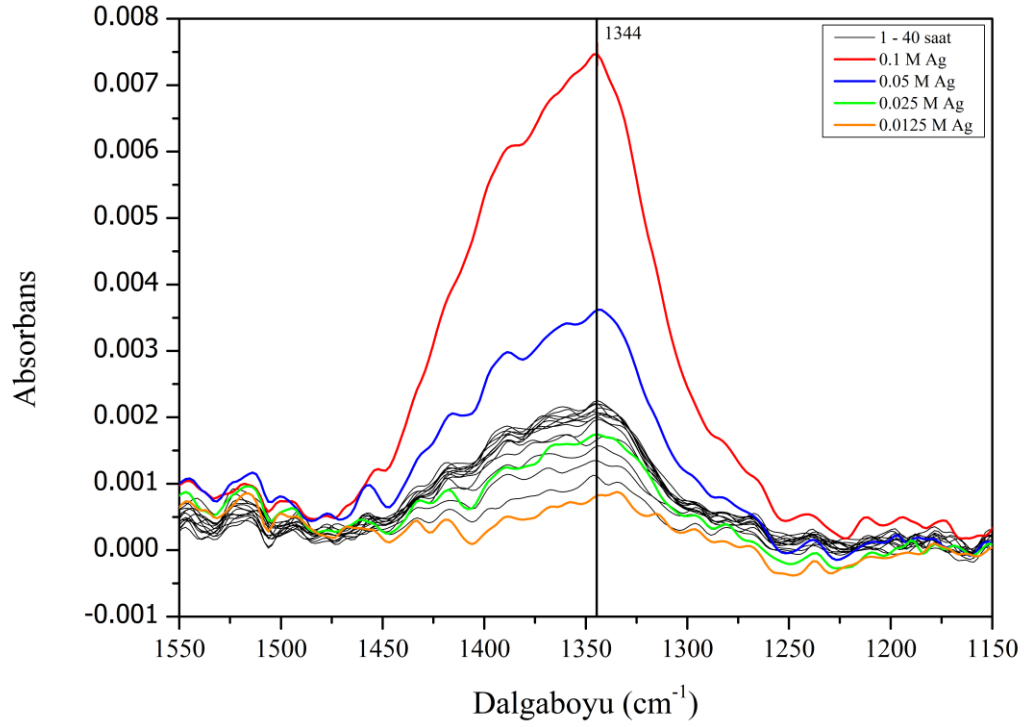
Örnek	Ag ⁺ (mg.kg ⁻¹)
MMT+Ag	9,30±0,32 ^A
HNT+Ag	6,23±0,22 ^D
MMT+CTAB20+Ag	3,55±0,12 ^E
HNT+CTAB10+Ag	2,09±0,07 ^F
MMT+PDAC20+Ag	8,70±0,30 ^B
HNT+PDAC20+Ag	6,77±0,24 ^C

A-F: Tablodaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

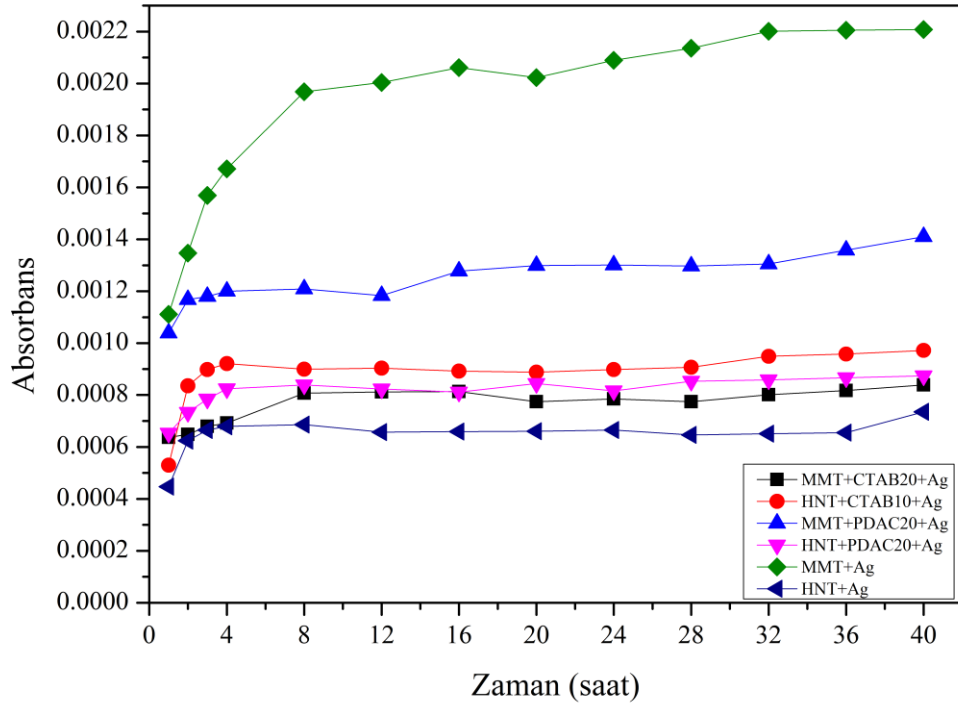
3.1.6 Modifiye Nanokillerin *in vitro* Ag Salımı

ATR-FTIR spektroskopisi, Ag⁺ iyonlarının *in vitro* salım analizini yapmak için kullanılmıştır. ATR-FTIR spektrumunda 1344 cm⁻¹'deki belirgin pik esas olarak gümüş iyonlarına aittir ve bu nedenle bu banttaki absorpsiyon değerleri gümüş iyonu değişimini bulmak için kullanılmıştır. Ag⁺ iyonlarının 1344 cm⁻¹'deki zamana bağlı intensite artışları Şekil 3.5'te verilmektedir. Şekil 3.6'da ise nanokil numunelerinden zamana bağlı olarak sıvı ortama geçen Ag⁺ iyonlarının absorpsiyon değerleri yer almaktadır. Şekil 3.6'da her bir GMN için farklı migrasyon hızlarında Ag⁺ iyonlarının ortama salındığı görülmektedir. Deneyin ilk 4 saatinde gümüş göçü miktarı hızla artmıştır ve daha sonra gümüş iyonlarının miktarı her numunede sabitlenmiştir. Bu sonuçlar, Ag⁺ iyonlarının göçünün ilk aşamada hızla arttığı ve 6 saat sonra sabitlendiğini gösteren bir çalışma ile uyumludur [159]. Sprey-kaplama ile hazırlanan ambalaj filmlerinden süte gümüş salınımının incelendiği bir çalışmada, sıvı ortama gümüş göçünün bu çalışma ile benzer bir eğilimde olduğu görülmüştür [160]. Genel olarak, HNT tipi GMN'ler Ag⁺ iyonlarını ortama salma açısından MMT tipi GMN'lere göre daha az meyillidir. Bu nedenle mikroorganizmaların çoğalmasına uzun süre engel olmak ve ortamlardaki Ag⁺ iyonlarının seviyesini düşürmek için faydalı olabilmektedir. MMT+Ag numunesi, diğer numuneler arasında süre boyunca en yüksek gümüş salınımı artışına sahip olmuştur. Numunelerde bulunan Ag⁺ iyonlarının miktarı ile göç süresi arasında bir dereceye kadar pozitif bir ilişki vardır [161]. *In vitro* salım analizleri sonucunda, GMN'ler arasında Ag⁺ iyonlarının zamana bağlı olarak suya göçüne göre anlamlı farklılıklar bulunmuştur (p <0.05). Bu farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını bulmak için yapılan Games-Howell çoklu

karşılaştırma testi sonucunda, organomodifiye edilmiş HNT numuneleri arasında önemli bir fark olmadığı, ancak diğer numuneler arasında anlamlı bir fark olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 3.5 1344 cm⁻¹ dalga boyunda nanokildeki Ag⁺ iyonlarının zamana bağlı olarak ATR-FTIR absorbanslarındaki değişim ve kalibrasyon grafikleri



Şekil 3.6 GMN'lerden suya geçen Ag^+ iyonlarının ATR-FTIR absorbanslarının zamana bağlı olarak değişimleri

3.1.7 Nanokillerin Renk Değerleri

Toz halindeki nanokil örneklerinin L^* , a^* ve b^* renk uzayındaki değerleri Tablo 3.6'da verilmiştir. Nanokillerin arasında renk değerleri açısından istatistiksel olarak farklar bulunmuştur ($P < 0,05$). Tablo 3.6'da HNT içeren örneklerin L^* değeri MMT içerenlere göre 100'e (beyaz) daha yakındır. Gümüş ile modifikasyondan sonra tüm örneklerde 0 (siyah) değerine bir kayma söz konusudur. Rengi en çok siyaha doğru kayan örnek ise MMT+Ag ($37,53 \pm 0,10$) olmuştur. Nanokillerde a^* değeri yaklaşık -5 ile +2 arasında değerler almıştır. Bu sonuç, nanokillerin modifikasyon öncesi ve sonrası yeşil-kırmızı renkleri bakımından nötre yakın olduğunu göstermektedir. HNT+CTAB10, HNT+PDAC20 ve HNT örnekleri a^* değeri bakımından yakın sonuçlar vermiştir. Nanokillerin b^* değerlerine bakıldığında ise MMT'nin doğal sarımsı-kahverengi renginden dolayı +60 (sarı) değerine kaydığı gözükmemektedir. HNT içeren örnekler doğal olarak sahip oldukları beyaz renginden dolayı MMT'ye göre daha az sarı renge sahiptir.

Gümüş modifikasyonundan sonra örneklerin renklerinin -60 (mavi) değerine kaydığı gözükmemektedir. Toplam renk farklarındaki (ΔE^*) en büyük değişim $51,78 \pm 0,23$ ile MMT+Ag örneğinde görülmektedir. Genel olarak bakıldığında gümüş ile modifiye edilen örneklerin ΔE değerleri daha yüksek çıkmıştır. Ancak MMT örneklerinin gümüş modifikasyonu ile değişimi HNT örneklerine göre daha fazla olmuştur. Bunun yanında MMT'nin organomodifikasyonundan sonraki ΔE^* değerleri HNT'ye göre daha yüksek çıkmıştır. En düşük değişim $0,15 \pm 0,01$ ile HNT+CTAB10 örneğinde olmuştur.

Tablo 3.6 Gümüş iyonları içeren ve içermeyen nanokillerin renk değerleri

Örnek	L^*	a^*	b^*	ΔE
MMT	$86,96 \pm 0,57^B$	$-2,60 \pm 0,02^F$	$16,67 \pm 0,24^C$	-
MMT+Ag	$37,53 \pm 0,10^I$	$0,06 \pm 0,02^C$	$-1,47 \pm 0,02^J$	$51,78 \pm 0,23^A$
MMT+CTAB20	$80,71 \pm 0,39^D$	$-0,69 \pm 0,07^E$	$19,83 \pm 0,23^A$	$7,26 \pm 0,38^F$
MMT+CTAB20+Ag	$49,52 \pm 0,62^H$	$0,62 \pm 0,02^B$	$5,69 \pm 0,07^H$	$39,07 \pm 0,69^B$
MMT+PDAC20	$74,60 \pm 0,02^F$	$-0,34 \pm 0,02^D$	$18,66 \pm 0,04^B$	$12,72 \pm 0,15^E$
MMT+PDAC20+Ag	$51,17 \pm 1,04^G$	$1,92 \pm 0,03^A$	$1,32 \pm 0,10^I$	$38,95 \pm 1,04^B$
HNT	$95,35 \pm 0,09^A$	$-4,98 \pm 0,07^J$	$9,31 \pm 0,06^E$	-
HNT+Ag	$83,08 \pm 0,10^C$	$-4,21 \pm 0,01^I$	$8,51 \pm 0,05^F$	$12,32 \pm 0,21^E$
HNT+CTAB10	$95,39 \pm 0,13^A$	$-4,97 \pm 0,03^J$	$9,45 \pm 0,04^E$	$0,15 \pm 0,01^G$
HNT+CTAB10+Ag	$77,81 \pm 0,03^E$	$-3,45 \pm 0,01^H$	$8,22 \pm 0,08^F$	$17,64 \pm 0,04^C$
HNT+PDAC20	$95,35 \pm 0,36^A$	$-5,04 \pm 0,04^J$	$9,88 \pm 0,08^D$	$0,57 \pm 0,32^G$
HNT+PDAC20+Ag	$80,70 \pm 0,17^D$	$-2,89 \pm 0,03^G$	$7,61 \pm 0,02^G$	$14,90 \pm 0,22^D$

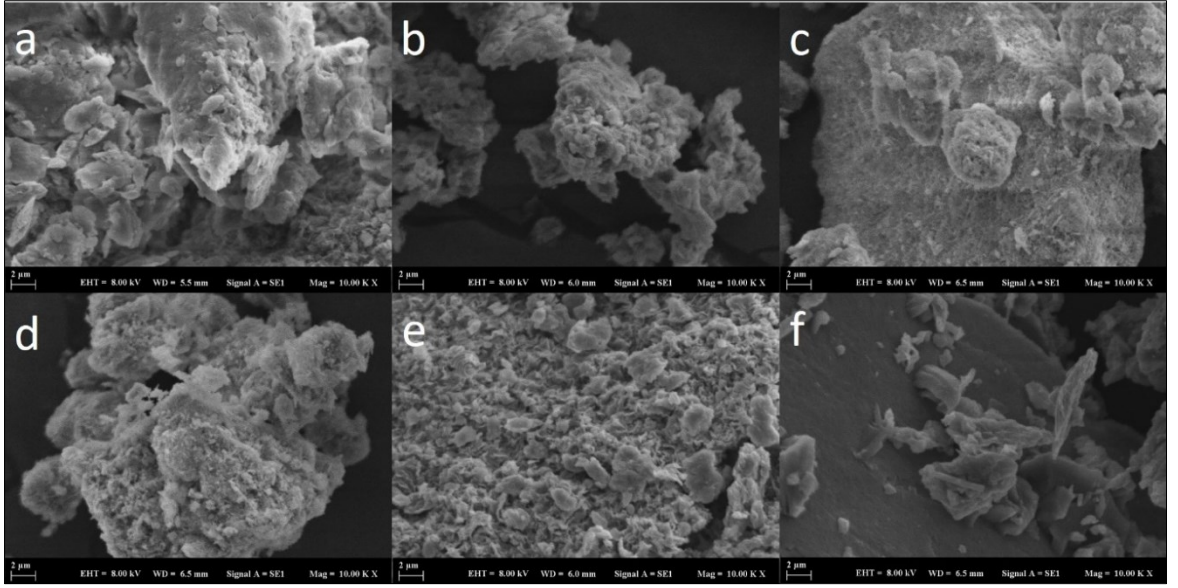
A-I: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

3.1.8 Modifiye Nanokillerin Yüzey Morfolojileri

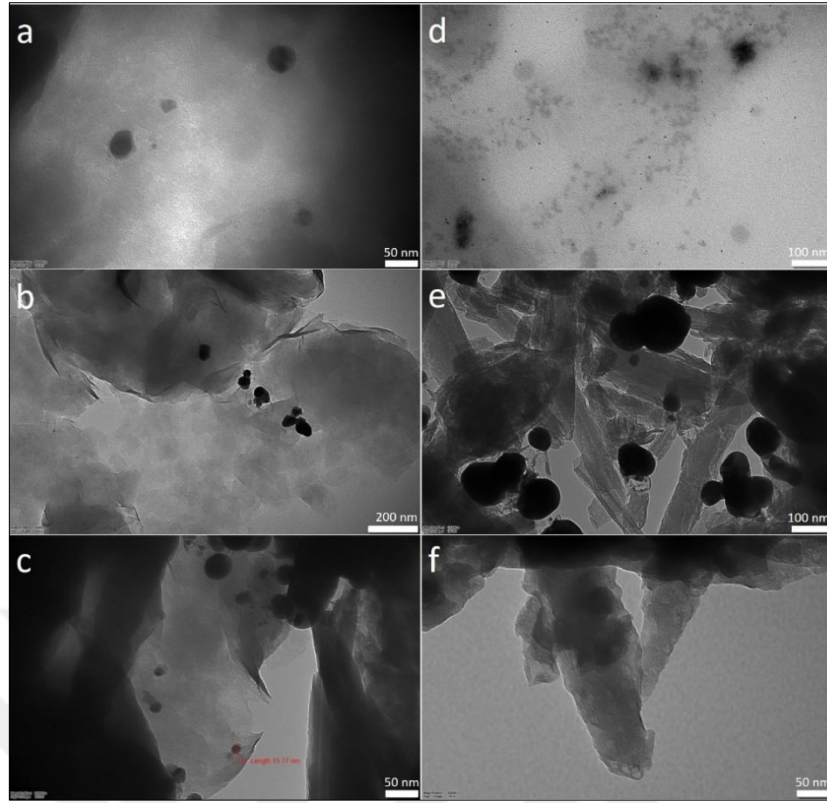
GMN'lerin morfolojik karakterizasyonları SEM kullanılarak yapılmıştır ve sonuçlar Şekil 3.7'de verilmiştir. SEM görüntülerinden GMN'lerin düzgün olmayan ve kaba parçacıklardan oluştuğu gözlemlenmiştir. Sürfaktan içermeyen MMT (Şekil 3.7a), organomodifiye MMT'lere göre daha yapraklanmış bir yapı göstermiştir (Şekil 3.7b ve 3.7c). Organomodifikasyon işleminden sonra montmorillonit daha düzgün bir form sergilemiştir. SEM bulguları, Ikhtiyarova ve arkadaşlarının önceki çalışmasıyla uyumlu bir şekilde çıkmıştır [162]. Ameer ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer olarak, MMT numunelerinin yüzeyinde herhangi bir gümüş agregasyonu gözlenmezken, gümüşün çoğunluğu MMT'nin ara katmanlarında

interkale olmuştur ve SEM tarafından tespit edilemeyecek kadar küçüktür [163]. Öte yandan, HNT'nin silindir şeklindeki yapısı Şekil 3.7d, 3.7e ve 3.7fde belirgin bir şekilde gözlenmiştir. HNT numunelerinin mikrograflarında aglomere olmuş ve muntazam olmayan partiküller de gözlenmiştir. Nyankson ve arkadaşlarına göre, bitişik HNT nanotüpler arasındaki boşluklardaki yüklü sürfaktan yerleşiminin bir kısmı bu aglomere olmuş yapıya neden olmaktadır [164].

Şekil 3.8, GMN'lerin TEM görüntülerini göstermektedir. MMT'nin tabakalı ve HNT'nin içi boş yapılı silindir formları mikrograflarda açıkça görülebilmektedir. Nanokillerin ara katman yüzeylerindeki Ag^+ iyon değişimi etkileşimleri, daha koyu renkteki bölgelere neden olmuştur. Daha koyu daireler, nanokillerin dış yüzeyinde kümeler halinde toplanma eğiliminde olan gümüş nanoparçacıkların oluşumunu göstermektedir. Nanokillerin yüzeyi, Ag^+ iyonlarını Ag^0 'a indirgeyerek gümüş nanopartiküllerinin heterojen çekirdeklenmesini ve sodyum borohidrit, formaldehit, etilen glikol veya sodyum karbonat gibi hiçbir harici indirgeme maddesi olmadan bile Ag^0 'ın daha fazla birleşmesini desteklemektedir [165]. Incoronato ve arkadaşları MMT'nin bir $AgNO_3$ çözeltisi içinde başka herhangi bir kimyasal işlem olmaksızın etkileştirilmesinin, mevcut sonuçlarla uyumlu olarak, kilin yüzeyinde gümüş nanoparçacıklarının oluşumuna yol açtığını bildirmiştir [73].



Şekil 3.7 GMN'lerin SEM mikrografları: a) MMT+Ag, b) MMT+CTAB20+Ag, c) MMT+PDAC20+Ag, d) HNT+Ag, e) HNT+CTAB10+Ag ve f) HNT+PDAC20+Ag



Şekil 3.8 GMN'lerin TEM mikrografları: a) MMT+Ag, b) MMT+CTAB20+Ag, c) MMT+PDAC20+Ag, d) HNT+Ag, e) HNT+CTAB10+Ag ve f) HNT+PDAC20+Ag

3.1.9 Nanokillerin Antimikrobiyal Etkisi

Bu çalışmada, nanokilleri modifiye etmek için gümüş nanoparçacıkları sentezlemek yerine gümüş iyon modifikasyonu tercih edilmiştir. Gümüş nanopartiküller kullanılarak optimal bir antimikrobiyal etki sağlamak için nanopartiküllerin 1-10 nm boyutunda, kümelenmemiş ve homojen olarak dağılmış olmaları gerekmektedir ve bu şartları sağlamak zor bir süreçtir [63], [64]. Jiraroj ve arkadaşları, *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel amaçlar için Ag^+ iyonları ve gümüş nanopartikülleri ile zeolit A'yı modifiye etmiş ve Ag^+ iyonları ile modifiye edilen zeolit A'nın ilgili bakterilere karşı daha iyi antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir [70]. Ag^+ iyonları katkılı MMT'nin de *E. coli*'ye karşı Cu^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarından daha etkili olduğu bildirilmiştir [166]. Magaña ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, MMT kilinde tutulan gümüş iyonlarının antibakteriyel etkinliği kalsinasyon ve öğütme ön işlemleri sonrasında incelenmiştir. Modifiye nanokilin genel antibakteriyel

etkinliği, iyonik gümüşün bakterilerle temas halinde olması ile ilişkilendirilmiştir [61].

Bakteri suşlarının koloni oluşturan birim (kob) sayıları Tablo 3.7’de logaritmik olarak verilmektedir. GMN’ler, test konsantrasyonunda (kütlece %5) tüm bakteri suşları üzerinde bakterisidal bir etki gösterirken, OMN’lerin etkisi bakteriyostatik olmuştur. Gümüşün bakteri hücreleri üzerindeki etkileri çok yönlü bir mekanizma olarak gerçekleşmektedir. Ag^+ iyonlarının bakteri hücresi içerisine girmesi ile Ag^+ iyonları serbest radikalleri oluşturmaktadır ve transdüksiyonu sağlayan mikrobiyal sinyalleri modüle etmektedir [167]. Bunun yanı sıra, Ag^+ modifikasyonu olmadan sürfaktan içeren nanokillerde de bakteri sayısının azaldığı görülmüştür. Nanokillerin ara tabakalarının arasındaki boşlukları arttırmak için kullanılan sürfaktanlar aynı zamanda antibakteriyel etki de yapmaktadır. Bu özellik, büyük ölçüde sürfaktanların katyonik karakterinden dolayı ortaya çıkmaktadır. Katyonik sürfaktanların antibakteriyel aktivitesi, hücre zarının geçirgenliğini değiştirmesinden kaynaklanmaktadır ve bunun sonucunda hücre içindeki iyonlar ve düşük moleküler kütleli metabolitler hücre zarından dışarı difüze olmaktadır [168]. Katyonik sürfaktanlar Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerin sitoplazmasını ve hücre membranını etkilemektedir. Bu gibi değişimler hücre membranının potansiyelini etkileyerek hücre büyümesini ve canlılığını engellemektedir [169]. Sentetik bir katyonik sürfaktan olan etil N-dodesanil-L-arjinat hidrokloritin (LAE) antimikrobiyal ajan olarak film içerisinde kullanıldığı bir çalışmada LAE’nin LAB, *E. coli*, *Salmonella*, *L. monocytogenes* gibi geniş bir aralıktaki mikroorganizmaları inhibe ettiği kanıtlanmıştır [170]. CTAB ile modifiye edilen MMT ve HNT, Gram-pozitif bakteriler üzerinde Gram-negatiflere göre daha fazla bakterisidal etki göstermiştir. Bu sonuçlar Pessanha ve arkadaşlarının sonuçları ile uyumlu çıkmıştır [171]. Özellikle *S. aureus*, CTAB modifiyeli MMT ve HNT’ye maruz kaldığında gelişim göstermemiştir. Ayrıca *L. monocytogenes*, HNT+CTAB10’a duyarlılık göstererek herhangi bir canlılık göstermezken, diğer numunelerden etkilenmemiştir. Öte yandan *E. coli* inhibisyonu üzerine HNT+CTAB10 diğer numunelere göre önemli bir farklılık

göstermiştir ($p<0.05$). MMT+CTAB20 ise *S. Typhimurium*'un inhibisyonu üzerinde diğer numunelere göre daha etkin çıkmıştır ($p<0.05$).

Tablo 3.7 Nanokil örneklerinin antibakteriyel etkisi

Örnek	<i>S. aureus</i> (log10 kob /mL)	<i>L. monocytogenes</i> (log10 kob /mL)	<i>E. coli</i> O157:H7 (log10 kob /mL)	<i>S. Typhimurium</i> (log10 kob /mL)
Kontrol	8,66±0,01 ^{Ab}	8,98±0,70 ^{Aab}	9,63±0,01 ^{Aab}	10,92±0,40 ^{Aa}
MMT	8,42±0,01 ^{Ab}	8,66±0,40 ^{Aab}	9,01±0,01 ^{Aab}	10,05±1,00 ^{Aa}
HNT	8,33±0,02 ^{Ab}	8,83±0,74 ^{Aab}	9,13±0,04 ^{Aab}	10,79±0,48 ^{Aa}
MMT+CTAB20	N	8,27±0,40 ^{Aab}	7,85±0,02 ^{Aab}	6,17±1,50 ^{Ba}
HNT+CTAB10	N	N	4,11±0,01 ^{Bab}	9,92±1,06 ^{Aa}
MMT+PDAC20	8,50±0,01 ^{Ab}	8,94±0,01 ^{Aab}	9,34±0,04 ^{Aab}	9,88±1,29 ^{Aa}
HNT+PDAC20	7,25±0,02 ^{Bb}	8,83±0,65 ^{Aab}	8,64±0,02 ^{Aab}	10,83±0,48 ^{Aa}
MMT+Ag	N	N	N	N
HNT+Ag	N	N	N	N
MMT+CTAB20+Ag	N	N	N	N
HNT+CTAB10+Ag	N	N	N	N
MMT+PDAC20+Ag	N	N	N	N
HNT+PDAC20+Ag	N	N	N	N

N: üreme yok; Bakteri üremesi gözlenmeyen örnekler (<0,00) olarak verilmiştir.

A-B: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

a-b: Aynı satırdaki farklı küçük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

3.1.10 Modifiye Nanokillerin MIC ve MBC Değerleri

MIC ve MBC testleri, sıvı besiyerindeki miktarlarına bağlı olarak GMN'lerin bakteriler üzerindeki letalitesini belirlemek amacıyla yapılmıştır. GMN'lerin tümü, tüm bakteri suşlarını kütlece %5 konsantrasyon seviyesinde inhibe etmiştir ancak GMN'lerin inhibisyon etkinliğini daha iyi anlamak için MIC ve MBC testleri uygulanmıştır. Tablo 3.8'de bakteri türlerine karşılık GMN'lerin MIC (mg/mL) ve MBC (mg/mL) değerleri gösterilmektedir. Gümüş genel olarak hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilere karşı yüksek ve benzer antibakteriyel aktiviteye sahiptir [172], ancak sonuçlar gümüşü hapseden malzemeye bağlı olarak değişebilmektedir. Gümüşün antimikrobiyal aktivitesi, bakteri hücrelerine nüfuz etmesinden ve membran proteinlerinde ve enzimlerde bulunan tiyol ve fosfat gruplarıyla reaksiyona girmesinden kaynaklanmaktadır. Gümüş hücre zarı ile reaksiyona girerek hücre solunum ve bölünmeyi engellemektedir. Hücre ölümü, gümüşe maruz kalındıktan sonra kaçınılmaz bir sonudur [171].

Tablo 3.8'e göre, 0,6 mg/mL MIC ve MBC ile MMT+Ag, hızlı salınım kabiliyetine bağlı olarak en düşük konsantrasyon değerlerine sahip olmuştur. Ag⁺ iyonlarının hızlı salımı, canlı hücre sayısında hızlı bir azalmaya neden olmuştur. Ayrıca bu durumda, nanokillerdeki metal iyonlarının miktarı ile antibakteriyel aktivite arasında da doğrudan bir ilişki vardır [173]. HNT+Ag numunesi, MMT+Ag numunesinin aksine bakteri türleri üzerinde daha düşük bir bakterisidal etkiye sahiptir. MMT+CTAB20+Ag ve HNT+CTAB10+Ag numuneleri, gümüş katkılı doğal zeolit şabazit kullanılan başka bir çalışma ile uyumlu olarak, *E. coli* üzerinde daha düşük gümüş iyon konsantrasyonlarında daha etkili bir sonuç vermiştir [174]. Carja ve arkadaşlarının çalışmasına göre *E. coli*, gümüşe *S. aureus*'tan daha fazla duyarlılık göstermiştir [175]. Ek olarak, MMT+PDAC20+Ag örneği, *S. aureus*'u HNT+PDAC20+Ag'den daha fazla inhibe etmiştir. *L. monocytogenes* ve *S. Typhimurium*, MMT+CTAB20+Ag ve HNT+CTAB10+Ag numuneleri tarafından hemen hemen aynı seviyelerde inhibe edilmiştir. ATR-FTIR tarafından yapılan önceki *in vitro* salım testi, diğer GMN'lerle karşılaştırıldığında, MMT+Ag'nin en yüksek Ag⁺ iyonlarını süre boyunca ortama saldıgını göstermiştir. Bu durum MIC ve MBC analizinde bulunan sonuçlarla doğrulanmaktadır.

Tablo 3.8 GMN'lerin MIC (mg/mL) ve MBC (mg/mL) değerleri

Mikroorganizma	<i>S. aureus</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>E. coli</i> O157:H7		<i>S. Typhimurium</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
MMT+Ag	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
HNT+Ag	2,0	2,0	1,0	1,0	2,0	2,0	2,0	2,0
MMT+CTAB20+Ag	3,0	3,0	3,0	3,0	1,0	1,0	3,0	3,0
HNT+CTAB10+Ag	2,0	2,0	3,0	3,0	1,0	1,0	3,0	3,0
MMT+PDAC20+Ag	1,0	1,0	3,0	5,0	2,0	2,0	3,0	3,0
HNT+PDAC20+Ag	3,0	3,0	2,0	2,0	3,0	3,0	4,0	5,0

3.2 PKN'lerin Karakterizasyonu

3.2.1 PKN'lerin Film Kalınlığı

Film örneklerinin kalınlıkları Tablo 3.9'da verilmiştir. Film örneklerinin kalınlıkları 0,032 mm ile 0,042 mm arasında değişmektedir. Film örnekleri arasında kesit kalınlıkları açısından istatistiksel olarak önemli farklılıklar vardır ($P<0,05$). Film örneklerinin kalınlıklarının ölçülmesi, filmlerin gaz geçirgenlik ve mekanik özelliklerinin hesaplanması açısından önemlidir. Solvent dökme yöntemi ile üretilen filmlerde eşit kalınlıkta film elde edebilmek amacı ile sabit hacimde ve kütlede çözeltinin yüzeye dökülmesi gerekmektedir. Film kalınlıklarında oluşabilecek farklılıklar, filmin gaz geçirgenlik özelliklerini büyük ölçüde değiştirmektedir [176].

Tablo 3.9 Filmlerin kalınlıkları

Örnek	Film kalınlığı (mm)
Kontrol	$0,034 \pm 0,010^B$
PCL-MMT	$0,041 \pm 0,005^A$
PCL-HNT	$0,037 \pm 0,008^{AB}$
PCL-MMT+CTAB20+Ag	$0,032 \pm 0,006^B$
PCL-HNT+CTAB10+Ag	$0,032 \pm 0,007^B$
PCL-MMT+PDAC20+Ag	$0,035 \pm 0,005^B$
PCL-HNT+PDAC20+Ag	$0,042 \pm 0,007^A$

PCL: polikaprolakton polimeri; HNT ve MMT sırasıyla halloysit ve montmorillonit nanokilleri; CTAB ve PDAC sırasıyla N-setil-N,N,N-trimetilamonyum bromit ve poli dialildimetilamonyum klorit; 0-20 mg/mL arasındaki sayılar sürfaktanların konsantrasyonlarıdır; Ag: Gümüş içeren; Kontrol: Nanokil içermeyen PCL film; $\pm$: standart sapma

A-B: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

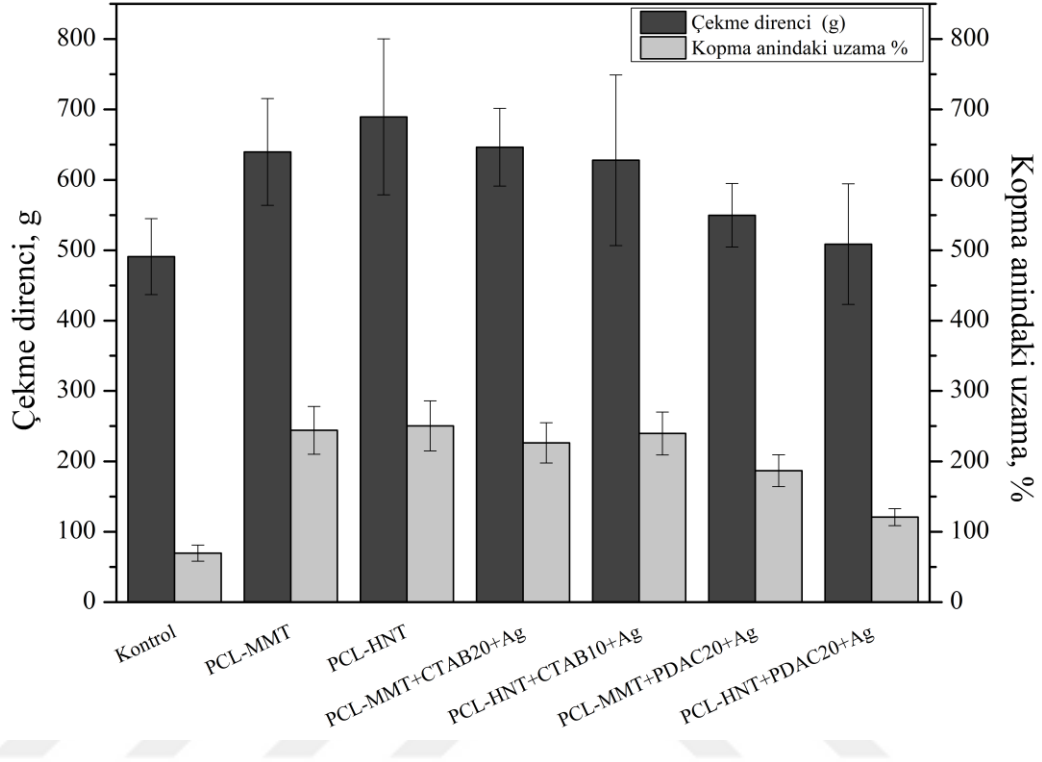
3.2.2 PKN'lerin Mekanik Özellikleri

Çekme direnci (tensile strength) ve kopma anındaki uzama (elongation at break), filmlerin gıda ambalajı olarak kullanıldığında bütünlüklerini koruma yeteneğini tahmin etmede faydalı mekanik özelliklerdendir [177]. Çekme direnci filmin stres anında maruz kalabileceği maksimum stresi gösterdiğinden filmin yapısal bütünlüğü ve bariyer özellikleri açısından önemlidir. Bunun yanında kopma anındaki uzama miktarı, filmin esnekliği ve uzama kapasitesini vermektedir. Filmlerin esnek yapıda olması işlenmesini ve ürünlerin kolay bir şekilde

paketlenebilmesini kolaylaştırmaktadır [178]. Şekil 3.9'da film örneklerinin çekme direnci ve kopma anındaki uzama değerleri yer almaktadır. Çekme direnci değerlerine bakıldığında, nanokil katkılı örnekler kontrol örneğine göre daha yüksek bir çekme direnci değeri sergilemiştir. Özellikle PCL-HNT örneği, en yüksek çekme direncine sahip olmuştur. Yani nanokillerin ilavesi, filmlerin mekanik direncini artırmıştır. Nivedita ve Joseph'in yaptığı bir çalışmada modifiye edilmemiş ve modifiye edilmiş MMT ilave edilen PCL membranlardan modifiye edilmemiş nanokil içeren membranlar daha yüksek çekme direnci göstermiştir [179]. Kopma anındaki uzama değerlerine bakıldığında ise nanokil katılan örnekler kontrol örneğine göre daha fazla uzama eğilimi göstermiştir. PCL-HNT çekme direncinde olduğu gibi kopma anındaki uzama miktarında da yüksek bir değer vermiştir. PCL filmlerinin çekme direncinin ve esnekliğinin nanokil katkısı ile artırılması, ambalajların dış streslere mekanik olarak daha dayanıklı olabileceği sonucunu vermektedir.

PCL filmler aynı zamanda diğer polimerlerle de karıştırılarak esneklik özelliklerin iyileştirilmesinde kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, kütlece %20 oranında PCL içeren PCL/PLA karışımının kopma anındaki uzama miktarı saf haldeki PLA'ya göre yaklaşık 5 kat artmıştır [180]. PCL polimerinde nanokiller çekme direncini artırırken bazı biyobozunur polimerlerde azalmaya neden olabilmektedir. 3:1 oranında PLA ve polipropilen (PP) karışımına katılan kütlece %7 oranındaki nanokil, filmin çekme direncini %21.6 oranında azaltmıştır [181]. Bu çalışmadaki sonuçlardan farklı olarak Kassa ve arkadaşları, PCL'ye kütlece %5 oranında kattıkları organomodifiye MMT ve HNT nanokillerinin, Young modülünü yükselterek çekme direncini düşürdüğünü tespit etmişlerdir [182]. Çalışmada PCL filmler ekstrüder ile üretildiği için yöntem farklılığı bu farklılığı doğurmuş olabilmektedir. Diğer etmenler nanokil-polimer etkileşmesi sırasında oluşan eksfoliasyon (tabakaların ayrılması), üç boyutlu ağ yapısının oluşumu ile polimer sisteminin katılaşması ve malzemenin kristallik derecesi olabilmektedir [183], [184]. Başka bir çalışmada PCL/PLA nanokompozitlerine katılan karbon nanotüpler ve MMT, çekme direnci ve kopma anındaki uzama miktarını

artırmıştır. Bu durum dolgu malzemelerinin polimer içerisinde oluşturdıkları ağ yapısına bağlanmıştır [185].

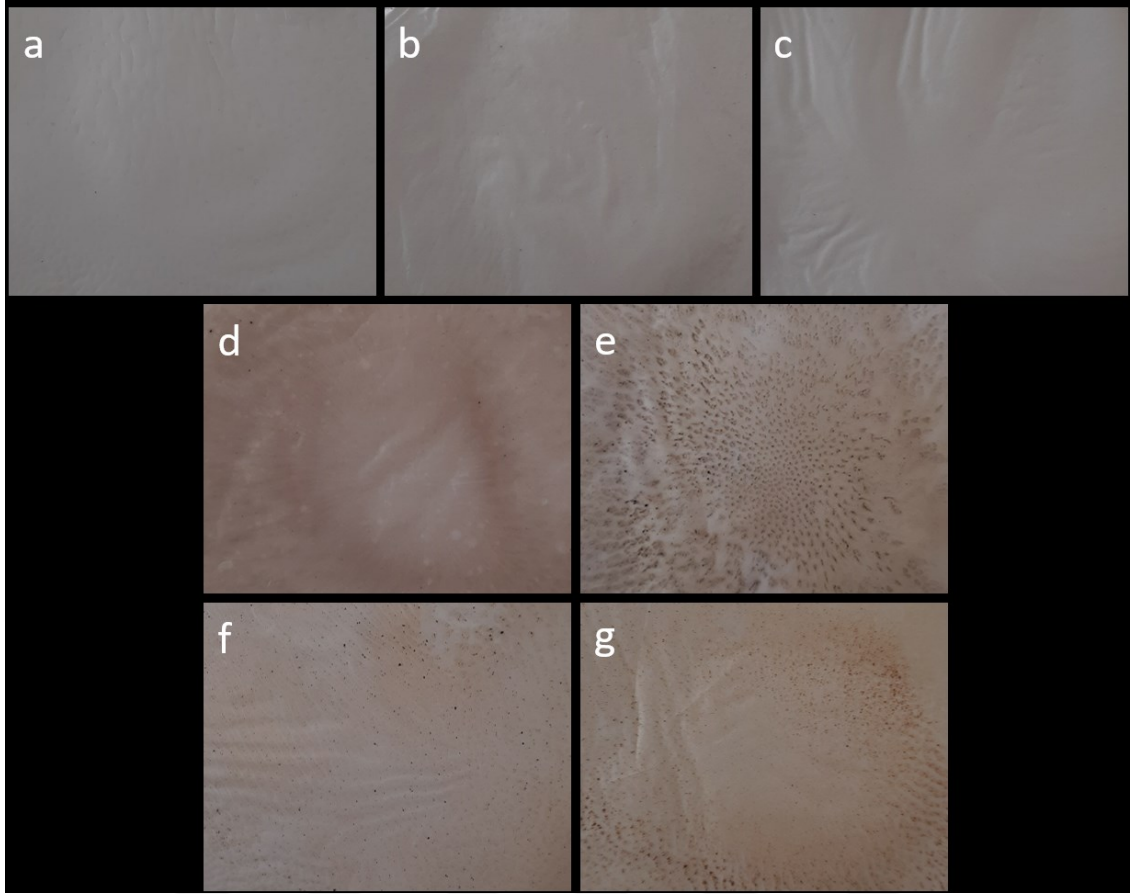


Şekil 3.9 Film örneklerinin çekme direnci ve kopma anındaki uzama değerleri

3.2.3 PKN'lerin Renk Değerleri

Filmlerin renk özellikleri, içerisine konulan gıdaların tüketiciler tarafından kabul edilebilirliği ve genel görünümü açısından önemlidir [186]. Bu nedenle film örneklerinin L^* , a^* ve b^* renk uzayındaki değerleri ölçülmüştür. Film örneklerinin L^* , a^* ve b^* renk uzayındaki değerleri Tablo 3.10'da verilmiştir. Ayrıca Şekil 3.10'da film örneklerinin görüntüleri yer almaktadır. Görüntüler, aynı çekim açısı ile bir beyaz yüzeyin üzerinde çekilmiştir. Film örneklerinin renk değerleri arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmuştur ($P < 0,05$). Film örneklerinin L^* değerlerine bakıldığında, saf haldeki MMT ve HNT içeren örnekler ve kontrol örneği 100'e (beyaz) daha yakındır. Gümüş ile modifiye edilmiş MMT nanokilleri HNT'ye göre, filmleri 0 (siyah) değerine daha çok yaklaştırmıştır. Filmler a^* (yeşil-kırmızı) değerleri bakımından nötr değere yakın olmakla beraber kontrol örneğine göre küçük sapmalar vardır. Nanokil ilavesinin L^* ve a^* değerlerini azalttıkları

daha önce yapılan bir çalışmada belirtilmiştir [187]. Gümüş modifiyeli MMT içeren filmlerin b^* değerleri gümüş modifiyeli HNT içeren filmlere göre daha çok +60 (sarı) değerine yaklaşmıştır. Ancak saf haldeki MMT ve HNT içeren filmler ile kontrol filmi yakın b^* değerleri almıştır. b^* değerinin nanokil ilavesi ile değişimi nanokilin polimer ile uyumluluğuna ve her iki bileşenin yüzey polaritelerine bağlı olmaktadır [188]. Toplam renk farklarına (ΔE) bakıldığında ise en büyük değişim PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-MMT+PDAC20+Ag örneklerinde olmuştur. Saf haldeki MMT ve HNT içeren filmler kontrol filmine yakın ΔE^* değerleri almıştır. Genel olarak nanokompozit filmlerin optik özelliklerinin, yaklaşık 1 nm kalınlığındaki kil tabakalarının polimer matrisi boyunca iyi dağıldığında önemli ölçüde değişmediği kabul edilmektedir. Çünkü bu boyuttaki kil taneleri, görünür ışığın dalga boyundan daha küçüktür ve ışığın filminden geçiş etkisini engellememektedir [189]. Bu nedenle açık renkte saf haldeki MMT ve HNT'nin optik özellikleri GMN içeren örneklerle göre daha düşük seviyede bir değişim göstermiştir. PCL-HNT+CTAB10+Ag ve PCL-HNT+CTAB10+Ag numuneleri ise renk farkı açısından görece kontrol filmine daha yakın değerler vermiştir. Bu örneklerde gümüşün filmin renk değerleri üzerindeki toplam etkisinin daha düşük olduğu görülmektedir.



Şekil 3.10 Film örneklerinin fotoğrafları a) Kontrol, b) PCL-MMT, c) PCL-HNT, d) PCL-MMT+CTAB20+Ag, e) PCL-MMT+PDAC20+Ag, f) PCL-HNT+CTAB10+Ag ve g) PCL-HNT+PDAC20+Ag

Tablo 3.10 Nanokil içeren ve içermeyen film örneklerinin renk değerleri

Örnek	L^*	a^*	b^*	ΔE
Kontrol	$94,01 \pm 0,82^A$	$-5,85 \pm 0,03^C$	$9,84 \pm 0,07^D$	-
PCL-MMT	$93,41 \pm 0,34^A$	$-5,61 \pm 0,03^C$	$10,60 \pm 0,03^D$	$1,00 \pm 0,21^E$
PCL-HNT	$93,34 \pm 0,18^A$	$-5,72 \pm 0,04^C$	$10,08 \pm 0,02^D$	$0,72 \pm 0,15^E$
PCL-MMT+CTAB20+Ag	$79,45 \pm 1,75^C$	$-2,69 \pm 0,21^A$	$21,82 \pm 1,20^B$	$19,12 \pm 1,23^B$
PCL-MMT+PDAC20+Ag	$81,01 \pm 1,81^C$	$-5,72 \pm 0,13^C$	$25,73 \pm 2,21^A$	$20,53 \pm 1,05^A$
PCL-HNT+CTAB10+Ag	$89,31 \pm 1,42^B$	$-4,57 \pm 0,14^B$	$14,23 \pm 0,87^C$	$6,56 \pm 1,36^D$
PCL-HNT+PDAC20+Ag	$88,91 \pm 0,55^B$	$-4,39 \pm 0,10^B$	$16,29 \pm 0,80^C$	$8,35 \pm 0,56^C$

A-D: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

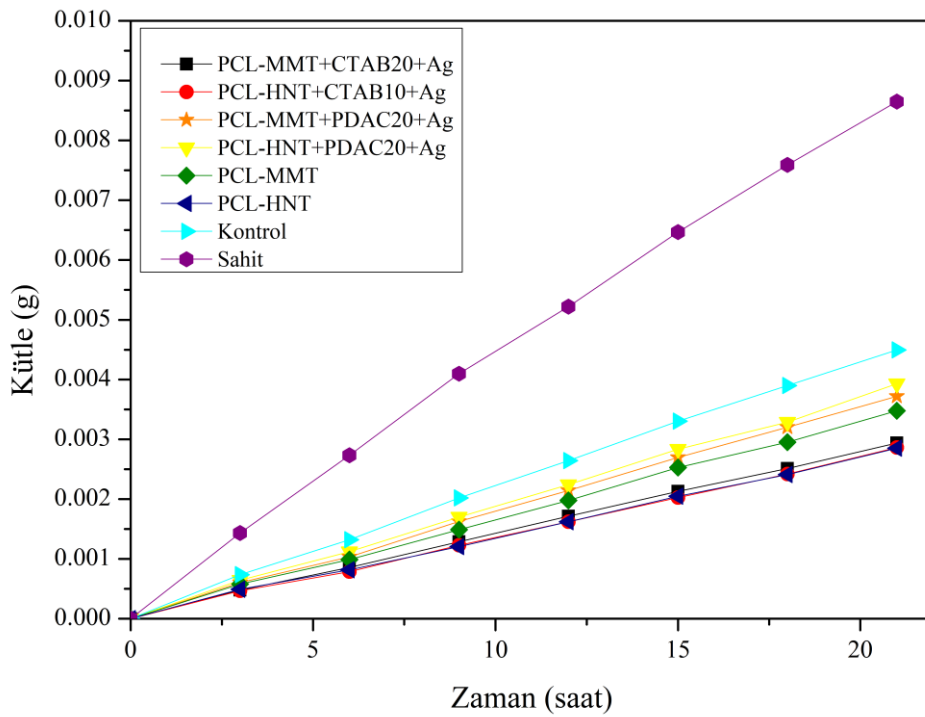
3.2.4 PKN'lerin Su Buharı Geçirgenliği

Tablo 3.11'de film örneklerinin su buharı geçirgenlikleri (WVP) yer almaktadır. Şekil 3.11'de ise film örneklerinin zamana bağlı olarak geçirdikleri su buharı miktarları yer almaktadır. Şahit tüpte herhangi bir film olmadığı için zamana bağlı nem absorplama miktarı en yüksek çıkmıştır. Film örneklerinin bazılarının arasında su buharı geçirgenlikleri açısından istatistiksel olarak farklar bulunmuştur ($P < 0,05$). Genel olarak PKN örneklerinin WVP değerleri kontrole göre daha düşük çıkmıştır. PCL-HNT ve PCL-HNT+CTAB10+Ag örneklerinin arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamaktadır ve bu iki örnek en düşük WVP değerlerine sahip olmuştur. Nanokil katkılı PCL filmlerin nanokil içermeyen kontrol örneğine göre daha düşük su buharı geçirgenliğine sahip olması, gıdaların raf ömrü açısından önemli bir sonuç vermektedir. Sothornvit ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada peynir altı suyu ve Cloisite Na⁺ nanokili ile elde edilen nanokompozit filmin WVP değeri kontrol filme göre %28 oranında düşük çıkmıştır [188]. Bu çalışmada ise kontrole göre en düşük WVP değeri %35 oranında çıkmıştır. Yarı kristal polimerlerde kristal fazın su moleküllerini geçirmediği varsayılmaktadır. Kristal fazın dışındaki amorf faz su moleküllerinin yapıdan geçmesini sağladığından dolayı kristal fazın oranının artması moleküller için daha dolambaçlı bir yol oluşturacağından difüzyon da aynı şekilde azalmaktadır. Bunun yanında nanokillerin multi-faz sistemlerindeki morfolojisi ve dağılımı transport fenomenine karar verebilmek açısından önemlidir [190]. MMT sahip olduğu yan grupları ile hidrofilik molekülleri immobilize edebilmektedir. Ayrıca tıpkı amorf fazda olduğu gibi moleküllerin geçişini dolambaçlı hale getirerek zorlaştırmaktadır [191]. Su buharı geçirgenliğini etkileyen diğer bir etmen ise yapıdaki hidrofilik grupların hidrofobik gruplara oranıdır [130].

Tablo 3.11 Filmlerin su buharı geçirgenlikleri

Örnek	WVP (g saat ⁻¹ mm m ² KPa ⁻¹)
Kontrol	0,0248±0,0010 ^A
PCL-MMT	0,0192±0,0010 ^D
PCL-HNT	0,0157±0,0011 ^F
PCL-MMT+PDAC20+Ag	0,0205±0,0008 ^C
PCL-MMT+CTAB20+Ag	0,0162±0,0018 ^E
PCL-HNT+CTAB10+Ag	0,0158±0,0013 ^F
PCL-HNT+PDAC20+Ag	0,0216±0,0047 ^B

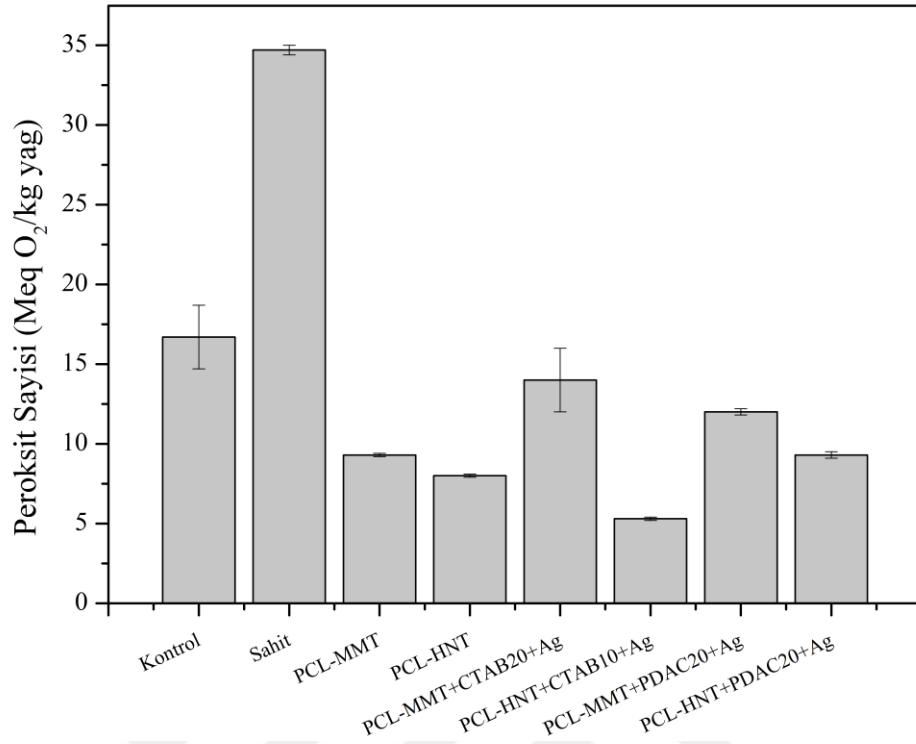
A-F: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

**Şekil 3.11** Filmlerin zamana karşı atmosferden geçirdikleri nem miktarı

3.2.5 PKN'lerin Oksijen Geçirgenliği

Film örneklerinin peroksit sayıları ile formülize edilmiş oksijen bariyer özellikleri Şekil 3.12'de verilmektedir. Yağdaki daha düşük peroksit değeri, filmlerin daha yüksek oksijen bariyeri özelliklerine sahip olduğunu göstermektedir. Peroksit sayısı en çok olan yağ numunesi içinde bulunduğu tüp üzerinde film olmayan ayçiçek yağı olmuştur. Şahit örneğine en yakın sonucu içerisinde nanokil bulunmayan kontrol örneği vermiştir. İçerisinde nanokil bulunan örneklerin

tamamı kontrol örneğinden daha yüksek bariyer özelliği göstererek yağlarda daha düşük peroksit sayısına neden olmuştur. Bu durum, film içerisindeki nanokillerin atmosferdeki oksijenin deney tüpünün içerisine geçişini yavaşlattığını ve bariyer özelliği gösterdiğini kanıtlamaktadır. En düşük peroksit sayısı PCL-HNT+CTAB10+Ag ile kaplı yağdan elde edilmiştir. Khezrian ve Shahbazi'nin bir çalışmasında zeolit ilavesinin kitosan ve karboksimetil selülöz filmlerde oksijen geçirgenliğini azaltarak yağdaki peroksit sayısını düşürdüğü görülmüştür. Filmlerdeki zeolit miktarı arttıkça peroksit sayısı daha düşük değerlerde çıkmıştır [192]. Tornuk ve arkadaşları, HNT nanokilleri ile takviye edilmiş LLDPE filmlerinin, MMT nanokillerine kıyasla daha düşük oksijen geçirgenliği sağladığını bildirmiştir [193]. Pereira de Abreu ve arkadaşları, LDPE ve polipropilen bazlı filmlere Cloisite 15A nanokilinin ilavesinin oksijen geçirgenliğini azalttığına dair benzer bulgular göstermişlerdir [194]. Rasyon ve arkadaşları, polilaktik aside (PLA) ağırlıkça %3 HNT eklenmesinin oksijen geçirgenliğini $1.4 \times 10^{-5} \text{gm/m}^2 \text{dPa}$ 'dan $1.1 \times 10^{-5} \text{gm/m}^2 \text{dPa}$ 'ya düşürdüğünü bildirmiştir [195]. Sanchez-Garcia ve Lagaron tarafından yapılan bir çalışmada ise, NanoBioTerVR AC11 adlı ticari bir organokilin PCL filme ağırlıkça %5 seviyesinde yüklenmesi ile filmin oksijen geçirgenliği yaklaşık yarı yarıya azaltılmıştır [196].



Şekil 3.12 Farklı filmler ile kapatılmış ayçiçek yağlarının peroksit sayıları

3.2.6 PKN'lerin Termal Özellikleri

Film numunelerinin nanokiller ile modifikasyonundan sonraki termal özelliklerindeki değişimi incelemek için DSC analizi yapılmıştır. Tablo 3.12'de DSC analizi yapılan filmlerin termal özellikleri yer almaktadır. Film numuneleri yöntemlerde anlatıldığı gibi ilk olarak 0 °C'den 100 °C'ye ısıtılmış ve 100 °C'de 5 dakika tutulmuştur. Numunelerin 100 °C'de 5 dakika tutulmasının temel amacı, kristalleşmeyi daha doğru bir şekilde izleyebilmek için polimer matrisinde tutulan nemi ve solventi ortadan kaldırmaktır [197]. Daha sonra kristalizasyon pikleri, 100 °C'den 0 °C'ye olan soğutma adımında keskin bir şekilde meydana gelmiştir. Şekil 3.13'te kontrol örneğinin DSC termogramı yer almaktadır. Ayrıca sırası ile Şekil 3.14 ve 3.15'te film numunelerinin erime ve kristalizasyon termogramları yer almaktadır. Tablo 3.12'ye bakıldığında, saf haldeki PCL ile kontrol filminin erime sıcaklıkları arasında 1 °C'lik bir sıcaklık farkı olduğu görülmektedir. Bu durum, çok büyük olmasa da PCL'nin çözücü kullanılarak film haline getirilmesi esnasında erime noktasındaki düşüşü gösteren bir değerdir. Erime sıcaklığındaki

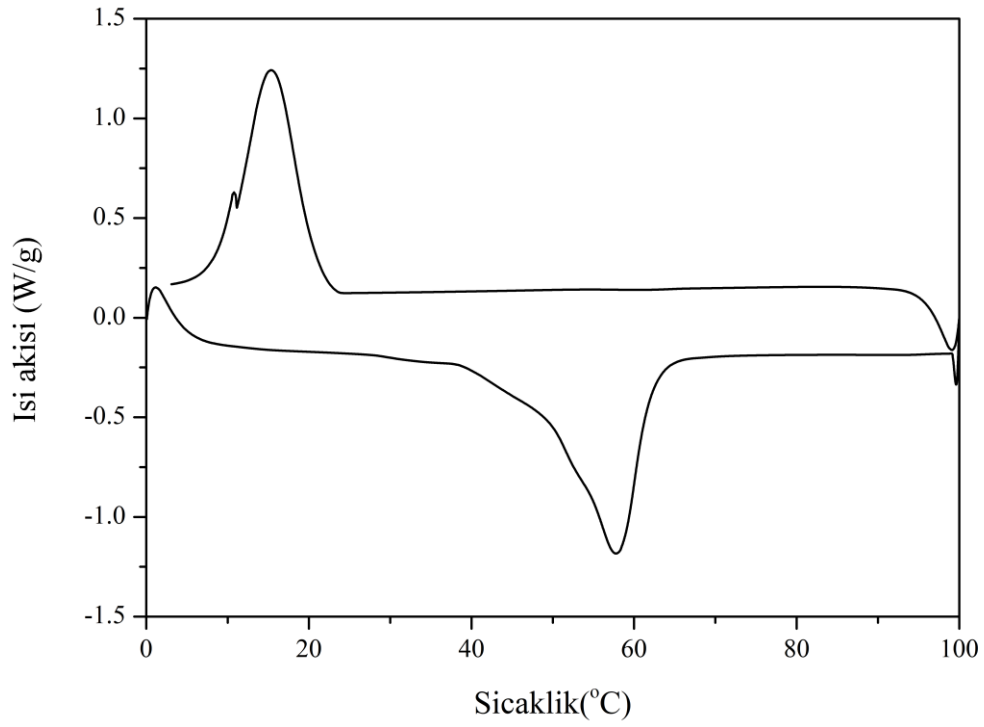
en büyük düşüş PCL-MMT örneğinde meydana gelmiştir. Elghaoui ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da benzer şekilde, oktadesilamin ile organomodifiye edilmiş MMT, PCL polimerine %5 oranında katıldığında polimerin erime sıcaklığında bir düşüş meydana gelmiş, aynı zamanda kristalizasyon derecesinde de yükseliş yaşanmıştır. Ancak daha önceki çalışmalarda da görüleceği üzere nanokiller PCL'nin erime sıcaklığı üzerinde önemli değişiklikler yapmamakta ve etkileri sınırlı kalmaktadır [184]. PCL'nin içerisine ancak poli laktik-ko-glikolik asit (PLGA) gibi daha kısa zincirli kopolimerler katıldığında erime sıcaklığı düşmektedir [198]. Saf PCL örneğinin kristalinitesi, %44,84 ile örnekler arasında en yüksek çıkmıştır. PKN'lerin kristalinitesi ise saf PCL'den yaklaşık %3-5 daha düşük çıkmıştır. Saf PCL ve kontrol örneklerinin kristalizasyon sıcaklıkları çok yakın çıkmakla beraber PKN'lerde bu sıcaklık ortalama 1 °C civarında artmaktadır. Bu durum bize nanokil ilavesinin kristalizasyon sıcaklığını artırdığını ve kristalinite derecesini düşürdüğünü göstermektedir. Kristalizasyon sıcaklığının yükselmesi PCL ve organokillerin arasındaki kuvvetli moleküler zincir interaksiyonuna atfedilmektedir [199]. Saf PCL ile karşılaştırıldığında filmlerdeki kristal fazın azalması film üretiminde kullanılan yöntemden dolayı olabilmektedir. Siqueira ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, montmorillonit ile güçlendirilen PCL filmlerde nanokil katkısının kristalizasyon sıcaklığını yükselttiği ve erime sıcaklığının değişmediği tespit edilmiştir. Kristalizasyon sıcaklığındaki değişimin, nanokillerin polimer üzerindeki çekirdek (nucleant) etkisi sonucu olduğu değerlendirilmiştir [200].

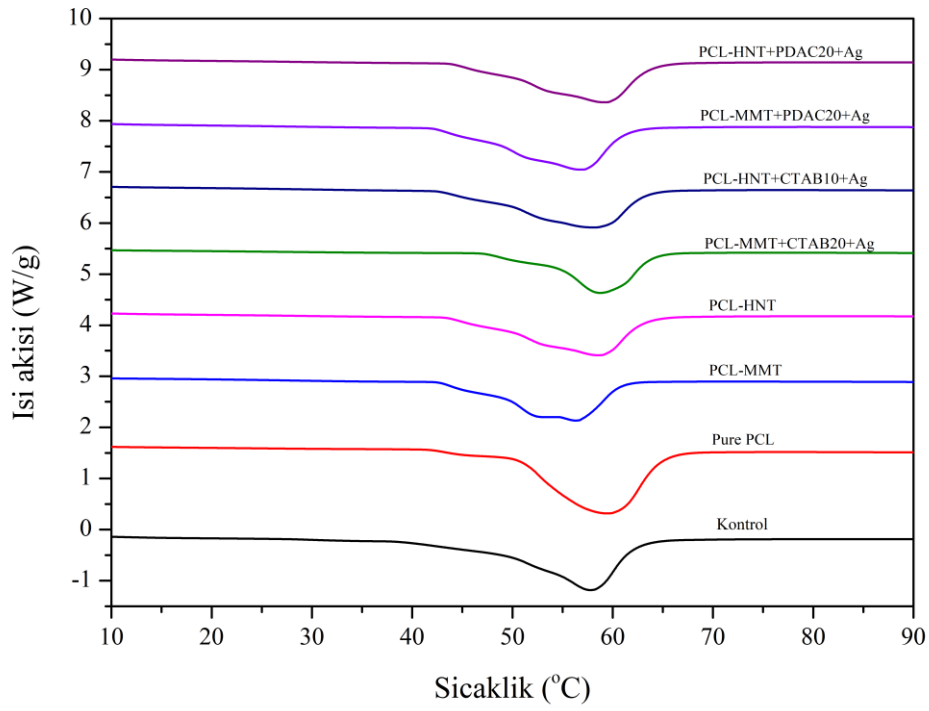
Tablo 3.12 Filmlerin termal özellikleri

Örnek	T _e (°C)	ΔH _f (J/g)	T _k (°C)	ΔH _k (J/g)	X _k (%)
Saf PCL	59,7±0,5 ^A	63,7±1,6 ^A	15,5±0,1 ^B	64,8±1,3 ^A	44,8±0,6 ^A
Kontrol	58,6±0,2 ^{BC}	57,1±0,8 ^B	15,3±0,3 ^B	49,6±1,1 ^B	41,3±0,4 ^{BC}
PCL-MMT	56,4±0,2 ^D	45,6±0,6 ^E	16,4±0,1 ^A	39,6±0,7 ^D	39,7±0,3 ^C
PCL-HNT	59,1±0,4 ^{AB}	50,5±1,5 ^D	16,8±0,2 ^A	44,0±0,7 ^C	41,6±0,8 ^B
PCL-MMT+CTAB20+Ag	58,7±0,2 ^{BC}	52,9±1,2 ^{CD}	16,5±0,1 ^A	36,1±0,6 ^E	41,3±0,6 ^{BC}
PCL-HNT+CTAB10+Ag	59,6±0,4 ^A	54,9±2,1 ^{BC}	16,5±0,2 ^A	44,1±1,2 ^C	41,9±1,1 ^B
PCL-MMT+PDAC20+Ag	59,1±0,5 ^{AB}	55,2±1,1 ^{BC}	16,4±0,2 ^A	40,6±1,1 ^D	41,6±0,6 ^B
PCL-HNT+PDAC20+Ag	58,1±0,2 ^C	58,1±1,2 ^B	16,5±0,3 ^A	42,1±1,0 ^{CD}	40,9±0,6 ^{BC}

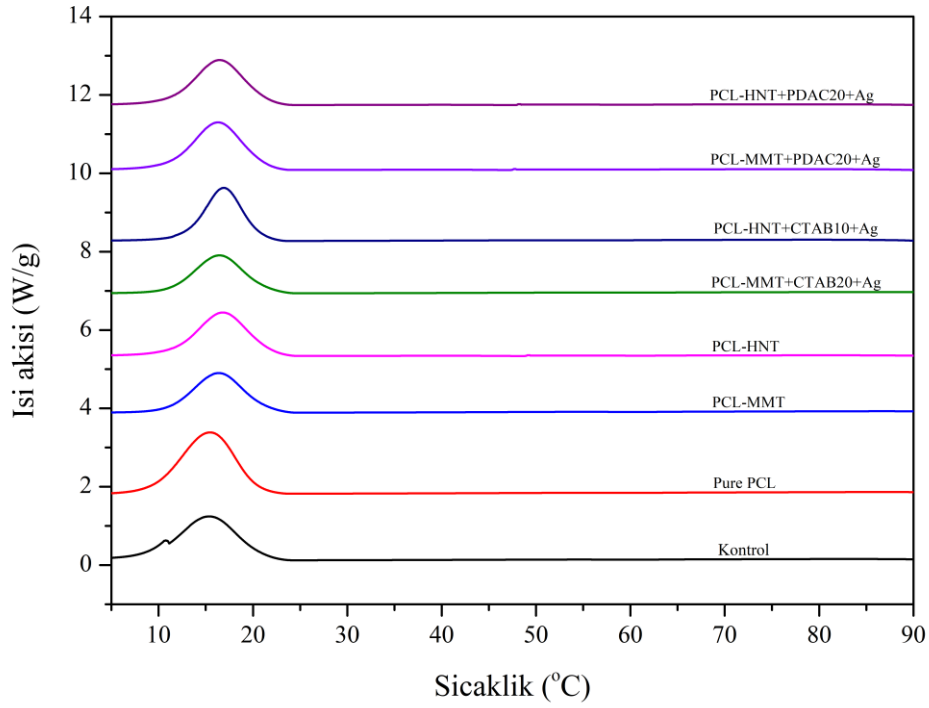
Saf PCL: Granül halindeki PCL; Kontrol: Nanokil içermeyen PCL film; T_e: erime sıcaklığı; ΔH_f: füzyon entalpisi; T_k: kristalizasyon sıcaklığı; ΔH_k: kristalizasyon entalpisi; X_k: kristalizasyon derecesi

A-E: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

**Şekil 3.13** Kontrol filminin DSC termogramı



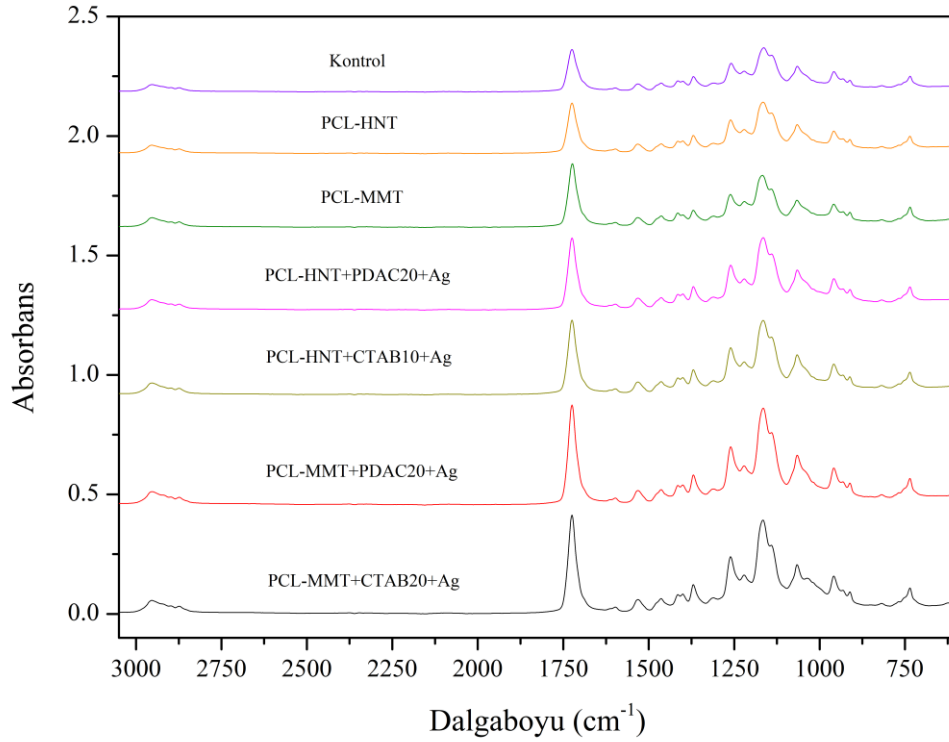
Şekil 3.14 Film örneklerinin erime termogramları



Şekil 3.15 Film örneklerinin kristalizasyon termogramları

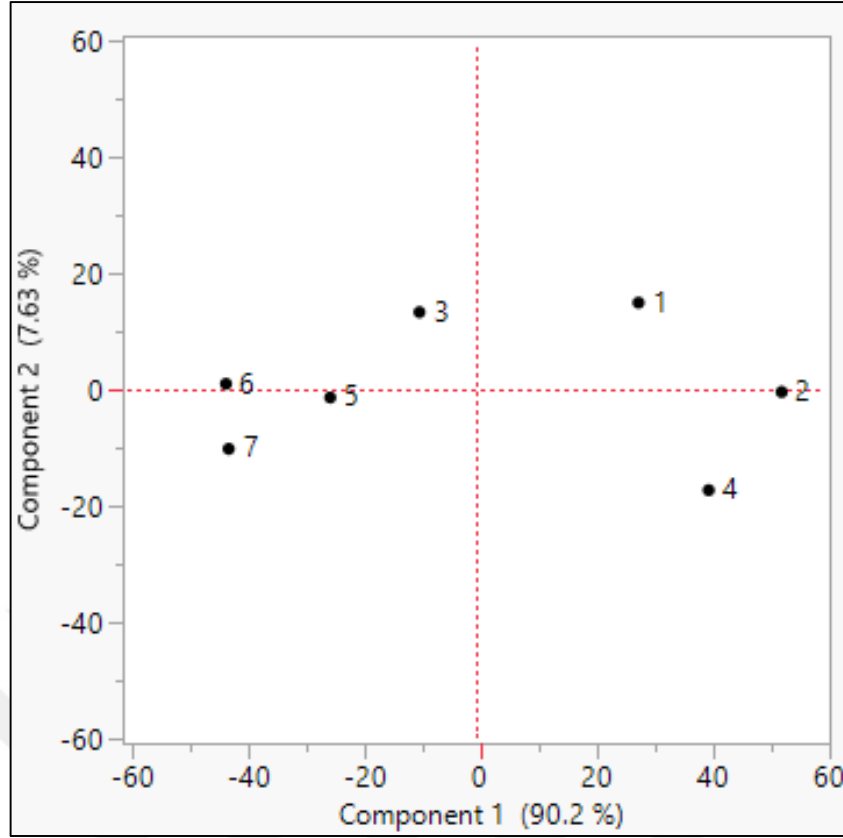
3.2.7 PKN'lerin Yapısal Özellikleri

Şekil 3.16'da film örneklerinin ATR-FTIR spektrumları yer almaktadır. 2958 ve 2870 cm^{-1} dalga boyundaki pikler sırası ile simetrik ve asimetrik CH_2 gerilme hareketini göstermektedir. 1727 cm^{-1} dalga boyundaki pik karbonilin ($\text{C}=\text{O}$) gerilme hareketini göstermektedir [201]. 1361, 1397 ve 1473 cm^{-1} , CH_2 bükülmesinin karakteristik piklerini göstermektedir. 1157 cm^{-1} dalga boyundaki pik, amorf fazda C-O ve C-C gerilmesini göstermektedir. 1170 ve 1240 cm^{-1} sırasıyla simetrik ve simetrik olmayan C-O-C gerilmesini göstermektedir. Ayrıca, 1042 ve 1107 cm^{-1} 'deki pikler C-O-C gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. 1293 cm^{-1} dalga boyunda kristal fazda C-O ve C-C gerilmesini gösteren çok küçük bir pik gözlemlenmiştir [202], [203]. Bu durum katı haldeki PCL'nin solvent yardımı ile çözünmesi ve ardından solvent uzaklaştırılarak tekrar katı hale gelmesi sırasında kristal yapının belli ölçüde amorf yapıya dönüşmüş olabileceğini göstermektedir. PCL spektrumu, kullanılan PCL'nin izotropik durumu (rastgele zincir yönelimi) göz önüne alınarak değerlendirilmelidir [201]. ATR-FTIR spektrumlarına göre, kontrol numunesine kıyasla gözlemlenebilir hiçbir değişiklik izlenmemiştir ve bu nedenle bu minimal değişiklikleri anlamak için PCA analizi yapılmıştır.



Şekil 3.16 Filmlerin ATR-FTIR spektrumları

Kemometrik yöntemlerden biri olan PCA, spektrum gibi çok fazla veri içeren data setlerinin boyutunu küçülterek anlamlı skorlar üretmektedir. Böylece, spektrum grafiği üzerinde gözle görülmeyen küçük değişimleri istatistiksel olarak yorumlamak daha kolay hale gelmektedir [204]. Film örneklerinin ATR-FTIR spektrumlarından elde edilen datalar PCA'nın x komponenti olarak girilmiştir. PCA'da y komponentine gerek duyulmadığından dalgaboyu verisi sisteme girilmemiştir. Spektrum datalarına herhangi bir ön işlem yapılmamıştır. PCA'da en iyi modeli oluşturabilmek için toplam varyansı %7,63 oranında açıklayan ikinci Principle Component (PC) kullanılmıştır. Film örneklerinin ATR-FTIR spektrumlarından elde edilen iki boyutlu Coomans grafiği Şekil 3.17'de verilmiştir. Grafiğe göre PCL-MMT+CTAB20+Ag, PCL-HNT+CTAB10+Ag ve PCL-HNT+PDAC20+Ag nispeten diğer örneklerden farklılaşarak ayrılmıştır. Saf MMT ve HNT içeren sırasıyla PCL-MMT ve PCL-HNT örnekleri, kontrol örneğine daha yakın çıkmıştır. GMN içeren film örnekleri gümüş iyonları sebebi ile yapısal olarak diğer örneklerden ayrılmıştır.



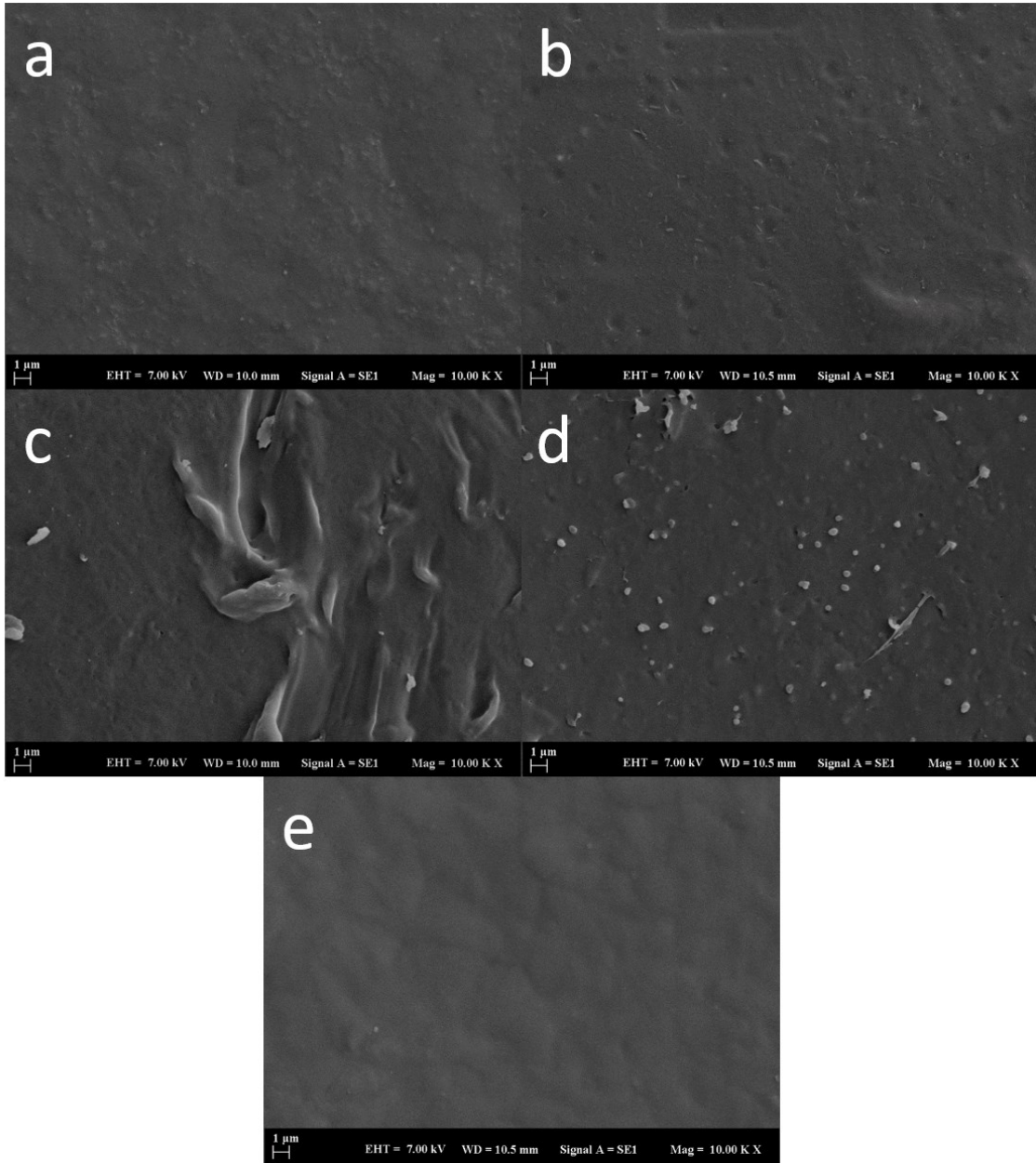
Şekil 3.17 Film örneklerinin ATR-FTIR spektrumlarından elde edilen iki boyutlu Coomans grafiği

Film (1): PCL-MMT+CTAB20+Ag; Film (2): PCL-HNT+CTAB10+Ag; Film (3): PCL-MMT+PDAC20+Ag; Film (4): PCL-HNT+PDAC20+Ag; Film (5): PCL-MMT; Film (6): PCL-HNT; Film (7): Kontrol

3.2.8 PKN'lerin Yüzey Yapısal Özellikleri

Üretimi gerçekleştirilen PKN'lerin yüzey morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacı ile SEM analizi yapılmıştır ve elde edilen mikrograflar Şekil 3.18'de verilmiştir. Mikrograflardaki MMT nanokilleri beyaz noktalar ve HNT nanokilleri düz çubuklar halinde görülmektedir. Organomodifiye edilmiş PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-HNT+CTAB10+Ag nanokilleri PCL filmler içerisine (sırası ile a ve b) iyi bir dağılım gösterirken, organomodifiye edilmemiş PCL-MMT ve PCL-HNT örnekleri aglomerasyon eğilimi göstermiştir. Bu durum bize kütlece %5 konsantrasyonundaki organokillerin polimerde iyi bir dispersiyon oluşturduğunu göstermektedir. Daha önce yapılan bir çalışmada, lineer-düşük yoğunluklu polietilen (LLPDE) içerisine dispers edilen MMT ve HNT nanokillerinin

SEM mikrograflarında, bu çalışma ile aynı konsantrasyonda düzgün bir dağılım gerçekleştiği rapor edilmiştir [205].



Şekil 3.18 Film yüzeylerinin SEM mikrografları. a) PCL-MMT+CTAB20+Ag, b) PCL-HNT+CTAB10+Ag, c) PCL-MMT, d) PCL-HNT ve e) Kontrol

3.2.9 PKN'lerin Antimikrobiyal Özellikleri

Gıda denemeleri için kullanılan film örneklerinin katı besiyerindeki bakteri türlerine karşı oluşturdıkları inhibisyon çapları Tablo 3.13'te verilmiştir. Kontrol, PCL-MMT ve PCL-HNT örnekleri beklendiği üzere bakteri türleri üzerine herhangi bir inhibisyon etkisi yapmamıştır. PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-

HNT+CTAB10+Ag örnekleri *S. aureus* üzerine diğer bakteri türlerine göre daha fazla etki etmiştir. Bu örneklerin *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *S.*

Typhimurium bakterileri üzerine etkileri *S. aureus*'a göre daha az olmakla beraber birbirine yakın çıkmıştır ($P>0,05$). PCL-MMT+PDAC20+Ag ve PCL-HNT+PDAC20+Ag numuneleri, tüm test bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkilerine ilişkin yakın sonuçlar sergilemiştir. Ancak bu iki film numunesi, PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-HNT+CTAB10+Ag ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha düşük antibakteriyel aktivite göstermiştir ($P<0,05$).

Tablo 3.13 Gıda denemelerinde kullanılan PKN'lerin inhibisyon çaplarına (mm) göre antimikrobiyal aktiviteleri

Örnek	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhimurium</i>
Kontrol	NI	NI	NI	NI
PCL-MMT	NI	NI	NI	NI
PCL-HNT	NI	NI	NI	NI
PCL-MMT+CTAB20+Ag	22,0±0,2 ^{Ba}	17,4±0,3 ^{Bb}	17,1±0,3 ^{Bb}	17,6±0,4 ^{Ab}
PCL-HNT+CTAB10+Ag	23,5±0,4 ^{Aa}	18,5±0,3 ^{Ab}	18,3±0,2 ^{Ab}	17,3±0,3 ^{Ac}
PCL-MMT+PDAC20+Ag	15,4±0,1 ^{Cab}	15,6±0,2 ^{Ca}	15,2±0,1 ^{Cb}	15,5±0,1 ^{Bab}
PCL-HNT+PDAC20+Ag	15,2±0,1 ^{Ca}	15,3±0,1 ^{Ca}	15,3±0,1 ^{Ca}	15,2±0,2 ^{Ba}

NI: inhibisyon zonu yok

A-C: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

a-b: Aynı satırdaki farklı küçük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

3.3 PKN'lerin Gıda ile Denemeleri

Film numunelerinin tamamı mekanik özellikler, oksijen ve su buharı geçirgenliği ile antibakteriyel aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-HNT+CTAB10+Ag film örnekleri, diğer modifiye film örneklerine göre daha uygun ve etkili sonuçlar vermiş ve gıda örneklerinin paketlenmesinde kullanılmak üzere seçilmiştir. Ayrıca karşılaştırma yapabilmek için PCL-MMT, PCL-HNT ve nanokil içermeyen kontrol numunesi de sığır kıyması üzerine uygulanmıştır.

3.3.1 PKN'lerin Sıgır Kıymasının Raf Ömrüne Etkisi

3.3.1.1 PKN'lerin Kıymanın Doğal Mikrobiyal Yüğü Üzerine Etkisi

PKN'lerin 4 ± 1 °C sıcaklıkta depolanmış kıyma örneklerinin TMAB yükü üzerine etkisi Tablo 3.14'te verilmiştir. Depolamanın başlangıç gününde (0. gün) kıymada TMAB yükü $6,10 \log_{10}$ (kob/g) olarak bulunmuştur. Bu değer depolamanın 1. gününde LDPE filmde diğerlerine göre daha yüksek çıkarken, PCL-HNT+CTAB10+Ag ile paketlenen örnekte en düşük çıkmıştır ($P<0,05$). Diğer film örnekleri ise yakın sonuçlar vermiştir. Bu durum 5. gün için de benzer sonuçlar göstermiştir. 8. gün sonunda en yüksek TMAB yükü LDPE filmde görülmüştür. Duyusal olarak değerlendirildiğinde ise sadece bu örnekte bozulma emaresi olan kokuşma olmuştur. Kontrol, PCL-MMT ve PCL-HNT film örnekleri birbirine yakın sonuçlar vermiştir. İçerisinde gümüş olan PCL-HNT+CTAB10+Ag film örneği ise 8. gün sonunda diğerlerine göre en düşük miktarda TMAB üremesine izin vermiştir ($P<0,05$). Souza ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, MMT ilave edilmiş kitosan filmlerde TMAB yükü saf kitosan filme göre daha düşük çıkmıştır [206]. Bu çalışmada da benzer şekilde sadece saf nanokil içeren filmlerdeki kıymalarda bakteri gelişimi kontrole göre daha düşük çıkmıştır. Bu durumun nanokillerin sağladığı daha etkin gaz bariyer özelliğinden kaynaklandığı söylenebilir. Gümüş içeren filmlerde ise nanokil katkılı filmlerin bariyer ve gümüşün antimikrobiyal özellikleri toplam inhibisyon etkisini artırmıştır.

Tablo 3.14 PKN'ler ile paketlenmiş kıyma örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) yükünün zamana karşı değişimi, $\log_{10}$ (kob/g)

Örnek	0. gün	1.gün	5.gün	8.gün
Kontrol	$6,10\pm 0,12^{Ad}$	$6,30\pm 0,02^{ABc}$	$6,95\pm 0,36^{ABb}$	$7,41\pm 0,36^{Ba}$
LDPE Film	$6,10\pm 0,12^{Ad}$	$6,52\pm 0,16^{Ac}$	$7,00\pm 0,32^{Ab}$	$8,30\pm 0,45^{Aa}$
PCL-MMT	$6,10\pm 0,12^{Ad}$	$6,22\pm 0,15^{ABc}$	$6,65\pm 0,26^{ABb}$	$7,10\pm 0,11^{BCa}$
PCL-HNT	$6,10\pm 0,12^{Ad}$	$6,24\pm 0,18^{ABc}$	$6,72\pm 0,14^{ABb}$	$7,24\pm 0,21^{Ba}$
PCL-MMT+CTAB20+Ag	$6,10\pm 0,12^{Ac}$	$6,29\pm 0,22^{ABb}$	$6,71\pm 0,26^{ABa}$	$6,78\pm 0,01^{CDa}$
PCL-HNT+CTAB10+Ag	$6,10\pm 0,12^{Ac}$	$6,19\pm 0,30^{Bc}$	$6,48\pm 0,21^{Bb}$	$6,62\pm 0,05^{Da}$

Kontrol: Nanokil içermeyen PCL film; LDPE Film: Düşük yoğunluklu polietilen film

A-D: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

a-d: Aynı satırdaki farklı küçük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

PKN'lerin 4 ± 1 °C sıcaklıkta depolanmış kıyma örneklerinin TK yükü üzerine etkisi Tablo 3.15'te verilmiştir. Koliform grubu bakteriler gıda güvenliği ve sanitasyonunu değerlendirmek için sıklıkla kullanılan mikrobiyolojik göstergelerdir ve gıda ürünlerinin raf ömrünü değerlendirmek için de kullanılabilir [207]. Depolamanın başlangıç gününde (0. gün) kıymada TK yükü $5,37 \log_{10}$ (kob/g) olarak bulunmuştur. Depolamanın 1. gününde TK yükünde dramatik bir artış olmamakla birlikte tüm film örneklerinde önemli bir fark görülmemiştir. Kıyma örneklerinin 5. gün TK yüklerine bakıldığında en yüksek değer LDPE filmle ambalajlanan örnekte olmuştur. Nanokil içeren örnekler kontrole göre önemli bir fark oluşturmamıştır. 8. gün sonunda yine en yüksek değer LDPE filmde olurken PCL-HNT+CTAB10+Ag ve PCL-HNT film örneklerinde diğerlerine göre daha düşük çıkmıştır ($P < 0,05$). İçerisinde nanokil olan örnekler genel olarak kontrol örneğine kıyasla daha düşük miktarda TK üremesine izin vermiştir. Kıyma haline getirilmiş tavuk eti ile yapılan bir çalışmada, kitosan/MMT nanokompozitleri ile paketlenen örneklerin TK miktarları bu çalışmadakine benzer bir şekilde kontrol kitosan filme göre daha düşük çıkmıştır [208].

Tablo 3.15 PKN'ler ile paketlenmiş kıyma örneklerinin toplam koliform bakteri (TK) yükünün zamana karşı değişimi, $\log_{10}$ (kob/g)

Örnek	0. gün	1.gün	5.gün	8.gün
Kontrol	$5,37 \pm 0,14^{Ad}$	$5,52 \pm 0,24^{Ac}$	$6,78 \pm 0,37^{Bb}$	$7,83 \pm 0,65^{Ba}$
LDPE Film	$5,37 \pm 0,14^{Ac}$	$5,39 \pm 0,31^{BCc}$	$7,30 \pm 0,26^{Ab}$	$8,44 \pm 0,71^{Aa}$
PCL-MMT	$5,37 \pm 0,14^{Ad}$	$5,49 \pm 0,33^{ABc}$	$6,51 \pm 0,36^{BCb}$	$7,30 \pm 0,69^{Ca}$
PCL-HNT	$5,37 \pm 0,14^{Ac}$	$5,41 \pm 0,13^{ABCc}$	$6,32 \pm 0,46^{Cb}$	$6,85 \pm 0,52^{Ea}$
PCL-MMT+CTAB20+Ag	$5,37 \pm 0,14^{Ac}$	$5,35 \pm 0,20^{Cc}$	$6,48 \pm 0,16^{BCb}$	$7,08 \pm 0,10^{Da}$
PCL-HNT+CTAB10+Ag	$5,37 \pm 0,14^{Ab}$	$5,44 \pm 0,05^{ABCb}$	$6,75 \pm 0,11^{Ba}$	$6,86 \pm 0,16^{Ea}$

Kontrol: Nanokil içermeyen PCL film; LDPE Film: Düşük yoğunluklu polietilen film

A-E: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

a-d: Aynı satırdaki farklı küçük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$).

PKN'lerin 4 ± 1 °C sıcaklıkta depolanmış kıyma örneklerinin LAB yükü üzerine etkisi Tablo 3.16'da verilmiştir. Depolamanın başlangıç gününde (0. gün) kıymada LAB yükü $4,48 \log_{10}$ (kob/g) olarak bulunmuştur. Depolamanın 1. ve 5.

günlerinde kıyma örneklerindeki LAB yüklerindeki değişim düşük seviyede olmuştur. Depolamanın son gününde en yüksek değer LDPE filmde elde edilmekle beraber örnekler arasında büyük farklar oluşmamıştır.

Tablo 3.16 PKN'ler ile paketlenmiş kıyma örneklerinin toplam laktik asit bakterisi (LAB) yükünün zamana karşı değişimi, log₁₀ (kob/g)

Örnek	0. gün	1.gün	5.gün	8.gün
Kontrol	4,48±0,10 ^{Ac}	4,49±0,41 ^{Cc}	4,63±0,45 ^{Cb}	4,88±0,30 ^{Ba}
LDPE Film	4,48±0,10 ^{Ac}	4,81±0,37 ^{Ab}	4,87±0,50 ^{ABb}	5,01±0,48 ^{Aa}
PCL-MMT	4,48±0,10 ^{Abc}	4,38±0,36 ^{Dc}	4,51±0,44 ^{Db}	4,89±0,25 ^{Ba}
PCL-HNT	4,48±0,10 ^{Ac}	4,64±0,38 ^{Bb}	4,93±0,24 ^{Aa}	4,99±0,39 ^{Aa}
PCL-MMT+CTAB20+Ag	4,48±0,10 ^{Ac}	4,70±0,25 ^{ABb}	4,79±0,13 ^{Bb}	4,95±0,14 ^{ABa}
PCL-HNT+CTAB10+Ag	4,48±0,10 ^{Ab}	4,76±0,22 ^{Aa}	4,45±0,26 ^{Db}	4,86±0,12 ^{Ba}

Kontrol: Nanokil içermeyen PCL film; LDPE Film: Düşük yoğunluklu polietilen film

A-D: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

a-c: Aynı satırdaki farklı küçük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

Metalik iyon-değişimli killeri, negatif yüklü bakterileri yüzeylerindeki lipoproteinlerde bulunan karboksilatlar gibi fonksiyonel grupları nedeniyle çekmektedir [65]. İnhibisyon, yapısal ve fonksiyonel proteinlerle etkileşime girerek ve hücre zarının içindeki radikalleri indükleyerek gerçekleşmektedir [66]. Gümüşün antimikrobiyal aktivitesi ve etkinliği, bir substrattan ortama salınan gümüş iyonlarının miktarına bağlıdır [209]. Gümüş iyonlarının bakterilerin inhibisyonunda etkili olabilmesi için yeterli bir nem ortamı da olması gerekmektedir ve bundan dolayı kıyma ve film numunesinin yüzey teması önemli bir noktadır. Bakterilerin sınırlı inhibisyonu öncelikle et ve film numunelerinin temas yüzeyi arasındaki su miktarı ve salınan gümüş iyonlarının miktarı ile ilgilidir. Ek olarak gümüşün antimikrobiyal özellikleri, elementel gümüşün gıdalarda bulunan proteinlerdeki tiyol bileşikleriyle etkileşime girmesi sonucu azalmasından güçlü bir şekilde etkilenmektedir [210]. Fernandez ve arkadaşları, sığır etini 4 °C'de gümüş yüklü emici pedlerin varlığında modifiye atmosfer ambalajlama (MAP) yaparak saklamış ve 11 günlük depolama süresinin sonunda TMAB'nin kontrole göre yaklaşık 1 log₁₀ (kob/g) daha düşük olduğunu bulmuştur. TMAB'nin aksine, bu çalışmada gösterildiği gibi kontrol ve numuneler

arasında LAB'de önemli bir fark gözlenmemiştir [80]. Lee ve arkadaşları, *Pseudomonas putida* ile aşılanmış sığır eti, domuz eti ve hindi etlerinde bakteri üremesini azaltmak için gümüş-zeolit emdirilmiş ambalaj kâğıdının etkisini incelemiş ve 10 °C'de gelişme hızının %4 gümüş zeolit içeren ambalaj kâğıdında daha yavaş olduğunu bulmuştur [211]. Taze domuz filetosunun, ekstrüde edilerek ya da yüzeyine püskürtülerek üretilmiş gümüş ilaveli LDPE filmler ile kaplandığı bir çalışmada, test filmlerinin %1, 2 ve 3 gümüş konsantrasyonlarında toplam bakteri ve LAB üzerinde önemli bir antibakteriyel etki yapamadığı rapor edilmiştir [212]. Bu çalışmalar, gıda ambalaj filmlerine ilave edilen gümüş miktarının yanı sıra film oluşturma yönteminin önemini de kanıtlamıştır. Martinez-Abad ve arkadaşları, bir solvent döküm tekniği ile ağırlıkça %10 gümüş iyonları içeren etilen-vinil alkol (EVOH) kopolimer film ile *L. monocytogenes* aşılanmış tavuk kanatlarını, tavukgöğüslerini ve marine edilmiş domuz filetosunu 12 °C'de 72 saat boyunca inkübe etmiştir. Sonuç olarak EVOH film, yüksek protein içerikli gıda numunelerindeki *L. monocytogenes* üzerinde <1 log azalma ile düşük duyarlılık göstermiştir [210]. Daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada 8. gün sonunda TMAB'de yaklaşık 1 log azalma beklenen bir durum olmakla birlikte, filmlerin antimikrobiyal etkileri nanokillerdeki gümüş miktarı artırılarak güçlendirilebilir.

3.3.1.2 PKN'lerin Kıymanın pH Değeri Üzerindeki Etkisi

PKN'ler ile paketlenmiş kıyma örneklerinin depolama sırasındaki pH değeri değişimleri Tablo 3.17'de verilmiştir. Kıyma gibi su aktivitesi yüksek olan gıda ürünlerindeki pH değişimi ürünün mikrobiyal değişime uğradığının bir göstergesi olmaktadır. Depolamanın ilk gününde homojenize edilen kıyma örneğinin pH değeri 6,21 olarak tespit edilmiştir. 8. gün sonunda tüm örneklerin pH değerlerinde önemli ($P < 0,05$) farklılıklar ortaya çıkmış ve düşüş yaşanmıştır. pH değerindeki en büyük düşüş LDPE filmde yaşanmıştır. Kontrol örneği, depolama sonunda 5,87 pH değeri ile PKN'lerle ambalajlanan kıymalardan daha düşük pH değerine sahip olmuştur. Correa ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, jambon örneğinin depolanması sırasında başlangıçta 6,3 olan pH değeri 5 °C sıcaklıkta 20 gün depolama sonucunda 6,1 pH değerine inmiştir [213]. Kıyma

örneğindeki pH düşüşünün daha fazla olmasının sebebi ısıtma işlem görmüş olan jambona göre başlangıç mikrobiyal yükünün daha fazla olmasıdır. Ayrıca sığır kıymasının yüzey alanının jambon tarzı ürünlerden daha fazla olması, mikrobiyal bozulmanın daha hızlı gerçekleşmesine yol açmaktadır.

Tablo 3.17 PKN'ler ile paketlenmiş kıyma örneklerinin pH değerlerinin günlere göre değişimi

Örnek	0. gün	1.gün	5.gün	8.gün
Kontrol	6,21±0,01 ^{Aa}	6,12±0,01 ^{Cb}	5,89±0,01 ^{Ec}	5,87±0,01 ^{Dc}
LDPE Film	6,21±0,01 ^{Ab}	6,22±0,02 ^{Ab}	6,26±0,02 ^{Aa}	5,66±0,02 ^{Ec}
PCL-MMT	6,21±0,01 ^{Aa}	6,15±0,00 ^{Bb}	5,93±0,01 ^{CDc}	5,94±0,00 ^{ABc}
PCL-HNT	6,21±0,01 ^{Aa}	6,15±0,01 ^{Bb}	5,92±0,00 ^{Dc}	5,92±0,02 ^{BCc}
PCL-MMT+CTAB20+Ag	6,21±0,01 ^{Aa}	6,16±0,01 ^{Bb}	5,95±0,01 ^{BCc}	5,95±0,02 ^{Ac}
PCL-HNT+CTAB10+Ag	6,21±0,01 ^{Aa}	6,16±0,02 ^{Bb}	5,97±0,02 ^{Bc}	5,90±0,01 ^{Cd}

Kontrol: Nanokil içermeyen PCL film; LDPE Film: Düşük yoğunluklu polietilen film

A-E: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

a-d: Aynı satırdaki farklı küçük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

3.3.2 PKN'lerin Ekmeğin Raf Ömrüne Etkisi

3.3.2.1 PKN'lerin Ekmekteki Küf/Maya Gelişimine Etkisi

PKN'lerin oda sıcaklığında depolanmış ekmek örneklerinin küf/maya yükü üzerine etkisi Tablo 3.18'de verilmiştir. Depolamanın başlangıcında ve ilk gününde tüm örneklerde herhangi bir küf/maya gelişimi gözlemlenmemiştir. 5. gün sonunda en yüksek küf gelişimi LDPE film ile ambalajlanmış dilimli ekmeklerde, en düşük küf gelişimi ise PCL-HNT+CTAB10+Ag örneğinde olmuştur. Diğer örneklerde ise önemli bir fark oluşmamıştır. 8. günde küf gelişimi LDPE filmde sarılmış ekmeklerde yine daha yüksek olurken, diğer örneklerde birbirine yakın sonuçlar çıkmıştır.

Plackett ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, PCL/L-polilaktid polimer karışımına Cloisite® nanokili katılarak elde edilen filmler ile peynir ambalajlanmıştır. Siklodekstrin ile enkapsüle edilmiş α -allil izotiyosiyonat içeren filmlerin *Penicillium commune*, *P. roqueforti* ve *P. nalgiovense* inhibisyonunu sağladığı rapor edilmiştir [214].

Tablo 3.18 PKN'ler ile paketlenmiş dilimlenmiş ekmek örneklerinin toplam küf/maya yükünün zamana karşı değişimi, log10 (kob/g)

Örnek	0. gün	1.gün	5.gün	8.gün
Kontrol	N	N	4,50±0,02 ^B	6,90±0,02 ^B
LDPE Film	N	N	5,95±0,02 ^A	9,13±0,06 ^A
PCL-MMT	N	N	4,34±0,04 ^B	6,89±0,01 ^{BC}
PCL-HNT	N	N	4,46±0,01 ^B	6,83±0,04 ^{BC}
PCL-MMT+CTAB20+Ag	N	N	4,29±0,07 ^B	6,72±0,03 ^C
PCL-HNT+CTAB10+Ag	N	N	3,98±0,02 ^C	6,81±0,03 ^{BC}

Kontrol: Nanokil içermeyen PCL film; LDPE Film: Düşük yoğunluklu polietilen film; N: üreme yok Küf/maya üremesi gözlenmeyen örnekler (<0,00) olarak verilmiştir.

A-C: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir (P<0,05).

3.3.2.2 PKN'lerin Ekmeğin Tekstürel Özelliklerine Etkisi

Ekmek örneklerinin depolama sırasında tekstürel özelliklerinde meydana gelen değişim Tablo 3.19'da verilmiştir. Bu tabloda, ekmeğin üretildiği ilk günde (0. gün) ve belirli depolama sürelerinde ambalajlarından çıkarılan ekmek örneklerinin tekstürel özelliklerinden sertlik, elastikiyet, kohesivlik, sakızimsılık, çiğnenebilirlik ve anlık elastikiyet özellikleri ölçülmüştür. Ekmeğin tüketilebilirlik açısından en önemli özelliklerinden biri olan sertlik değeri 0. gün 2,618 N iken 1. gün tüm örneklerde bayatlama ile birlikte 4-5 kat artmıştır. Kontrol örneğinin sertlik değeri 13,753 N ile en yüksek olurken en düşük değeri PCL-MMT örneği 7,610 N ile vermiştir. Diğer PKN'lerdeki ekmeklerin sertlik değerleri de kontrolden düşük çıkmıştır. 4. günde ise yine PKN'ler kontrole göre daha düşük değerler vermiştir. Bu durumun nanokil ilavesinin daha önce de anlatıldığı gibi filmlerin gaz geçirgenliğini azaltmasından dolayı ürünün bayatlama hızını yavaşlatmasından kaynaklandığı söylenebilir. Ekmek örneklerinin esneklik değeri 0. günde 2,061 olarak ölçülmüşken bu değer 1.ve 4. günlerde giderek azalmıştır. 1. günde kontrolün esnekliği PKN'lerin tamamına oranla daha düşük çıkmıştır (1,000). PKN'lerde bu değer yaklaşık 2 katı kadar olmuştur. 4. günde tüm örnekler birbirine yakın esneklik değerleri sergilemiştir. LDPE film ile paketlenen ekmek, PCL ile paketlenenlere göre daha farklı karakteristik mekanik özellikler göstermiştir. LDPE film ile kaplanan ekmekte en farklı değişimler sertlik, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerlerinde olmuştur.

Tablo 3.19 PKN'ler ile paketlenmiş ekmek örneklerinin mekanik özellikleri

Süre	Örnek	Sertlik (N)	Elastikiyet	Kohesivlik
0. gün	Filmsiz	2,618±0,035	2,061±0,002	0,922±0,001
1. gün	Kontrol	13,753±1,860	1,000±0,010	0,818±0,037
	LDPE Film	9,749±0,168	2,373±0,142	0,865±0,014
	PCL-MMT	7,610±0,124	2,169±0,110	0,908±0,001
	PCL-HNT	10,213±0,155	2,092±0,088	0,852±0,001
	PCL-MMT+CTAB20+Ag	8,259±0,165	1,809±0,291	0,875±0,015
	PCL-HNT+CTAB10+Ag	8,165±0,160	1,985±0,096	0,913±0,007
4. gün	Kontrol	35,388±3,894	0,964±0,017	0,790±0,027
	LDPE Film	14,885±0,068	0,998±0,001	0,756±5,234
	PCL-MMT	29,531±3,746	0,971±0,014	0,814±0,020
	PCL-HNT	28,516±3,669	0,998±0,001	0,812±0,146
	PCL-MMT+CTAB20+Ag	23,849±0,666	1,041±0,045	0,856±0,023
	PCL-HNT+CTAB10+Ag	30,458±3,905	0,964±0,017	0,790±0,025
Süre	Örnek	Sakımsızlık (N)	Çiğnenebilirlik (N)	Anlık Elastikiyet
0. gün	Filmsiz	2,413±0,027	4,972±0,715	0,612±0,011
1. gün	Kontrol	11,253±1,156	11,253±1,246	0,538±0,033
	LDPE Film	8,429±0,0058	20,000±1,112	0,614±0,010
	PCL-MMT	6,912±0,108	14,990±1,017	0,646±0,003
	PCL-HNT	8,699±0,027	18,199±1,002	0,592±0,014
	PCL-MMT+CTAB20+Ag	7,231±0,025	13,080±2,040	0,624±0,012
	PCL-HNT+CTAB10+Ag	7,453±0,090	14,796±0,874	0,674±0,002
4. gün	Kontrol	28,075±2,405	27,203±1,922	0,534±0,026
	LDPE Film	11,251±0,608	11,217±0,616	0,522±0,015
	PCL-MMT	24,029±3,788	23,337±4,107	0,535±0,003
	PCL-HNT	23,159±2,246	23,121±2,259	0,574±0,005
	PCL-MMT+CTAB20+Ag	20,416±0,008	21,254±2,117	0,563±0,011
	PCL-HNT+CTAB10+Ag	24,075±4,043	23,203±4,453	0,534±0,017

Kontrol: Nanokil içermeyen PCL film; LDPE Film: Düşük yoğunluklu polietilen film

3.3.2.3 PKN'lerin Ekmeğin Rengi Üzerine Etkisi

Ekmek örneklerinin iç kısımlarının renklerindeki değişim depolama sürelerine göre Tablo 3.20'de verilmiştir. Örneklerin L^* , a^* ve b^* değerlerine bakıldığında, örnekler arasında belirgin farklılıklar ortaya çıkmamıştır. Örneklerin hesaplanan ΔE^* renk değerlerine bakıldığında 8. günün sonunda en büyük değişim PCL-MMT+CTAB20+Ag numunesinde 3,51 ile olurken en az değişimin kontrol numunesinde 1,44 ile olduğu görülmüştür. Sonuçlar genel olarak incelendiğinde, depolama süresi sonunda ekmeklerin renklerinde önemli değişimler meydana gelmemiştir.

Tablo 3.20 PKN'ler ile paketlenmiş ekmek örneklerinin renk değerlerinin günlere göre değişimi

Örneklerin L^* renk değerleri				
Örnek	0. gün	1.gün	5.gün	8.gün
Kontrol	73,64±0,04 ^{Aa}	72,74±2,22 ^{Aa}	72,18±0,02 ^{Ba}	73,73±2,43 ^{Aa}
LDPE Film	73,64±0,04 ^{Aa}	75,87±1,11 ^{Aa}	75,82±0,05 ^{Aa}	76,33±0,72 ^{Aa}
PCL-MMT	73,64±0,04 ^{Ab}	77,03±0,13 ^{ABab}	77,11±0,04 ^{Aa}	74,07±1,18 ^{ABab}
PCL-HNT	73,64±0,04 ^{Aa}	75,23±0,39 ^{Aa}	75,62±0,48 ^{Aa}	73,98±0,41 ^{Aa}
PCL-MMT+CTAB20+Ag	73,64±0,04 ^{ABab}	71,75±0,75 ^{Ab}	74,84±0,08 ^{ABab}	76,20±1,08 ^{Aa}
PCL-HNT+CTAB10+Ag	73,64±0,04 ^{Aa}	71,67±0,73 ^{Aa}	74,92±1,10 ^{ABa}	74,83±0,34 ^{Aa}
Örneklerin a^* renk değerleri				
Örnek	0. gün	1.gün	5.gün	8.gün
Kontrol	-0,86±0,07 ^{ABab}	-1,14±0,06 ^{Ab}	-0,37±0,07 ^{Aa}	-0,53±0,19 ^{ABab}
LDPE Film	-0,86±0,07 ^{Aa}	-1,26±0,06 ^{Ab}	-1,08±0,06 ^{Cab}	-1,00±0,01 ^{ABab}
PCL-MMT	-0,86±0,07 ^{Aa}	-1,02±0,10 ^{Aa}	-0,83±0,05 ^{BCa}	-0,66±0,11 ^{Aa}
PCL-HNT	-0,86±0,07 ^{Aa}	-0,83±0,07 ^{Aa}	-1,09±0,06 ^{Ca}	-0,86±0,18 ^{Aa}
PCL-MMT+CTAB20+Ag	-0,86±0,07 ^{ABab}	-1,18±0,16 ^{Ab}	-0,65±0,06 ^{ABab}	-0,61±0,03 ^{Aa}
PCL-HNT+CTAB10+Ag	-0,86±0,07 ^{Aa}	-1,05±0,07 ^{Aa}	-0,86±0,02 ^{BCa}	-0,82±0,18 ^{Aa}
Örneklerin b^* renk değerleri				
Örnek	0. gün	1.gün	5.gün	8.gün
Kontrol	14,79±0,64 ^{Aa}	16,70±0,77 ^{Aa}	15,49±0,56 ^{Aa}	16,19±1,08 ^{Aa}
LDPE Film	14,79±0,64 ^{Aa}	15,57±0,37 ^{Aa}	14,57±0,43 ^{Aa}	15,78±0,88 ^{Aa}
PCL-MMT	14,79±0,64 ^{Aa}	16,42±0,57 ^{Aa}	16,57±1,33 ^{Aa}	16,80±0,85 ^{Aa}
PCL-HNT	14,79±0,64 ^{Aa}	17,15±0,11 ^{Aa}	16,63±1,17 ^{Aa}	16,78±0,60 ^{Aa}
PCL-MMT+CTAB20+Ag	14,79±0,64 ^{Aa}	16,27±0,63 ^{Aa}	15,50±0,36 ^{Aa}	17,19±0,01 ^{Aa}
PCL-HNT+CTAB10+Ag	14,79±0,64 ^{Aa}	17,37±0,03 ^{Aa}	15,68±1,45 ^{Aa}	16,90±0,05 ^{Aa}
Örneklerin ΔE^* renk değerleri				
Örnek	0. gün	1.gün	5.gün	8.gün
Kontrol	-	2,13±0,25 ^{BCa}	1,69±0,23 ^{Db}	1,44±0,23 ^{Ec}
LDPE Film	-	2,39±0,36 ^{Ab}	2,20±0,12 ^{Cc}	2,86±0,11 ^{Ba}
PCL-MMT	-	3,76±0,27 ^{Ab}	3,90±0,56 ^{Aa}	2,06±0,41 ^{Dc}
PCL-HNT	-	2,84±0,12 ^{ABa}	2,71±0,32 ^{Ba}	2,01±0,33 ^{Db}
PCL-MMT+CTAB20+Ag	-	2,42±0,30 ^{Cb}	1,41±0,22 ^{Dc}	3,51±0,16 ^{Aa}
PCL-HNT+CTAB10+Ag	-	3,25±0,45 ^{BCa}	1,56±0,15 ^{Dc}	2,42±0,12 ^{Cb}

Kontrol: Nanokil içermeyen PCL film; LDPE Film: Düşük yoğunluklu polietilen film

A-F: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

a-d: Aynı satırdaki farklı küçük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

3.3.2.4 PKN'lerin Ekmeğin pH Değeri Üzerine Etkisi

PKN'ler ile paketlenmiş ekmek içi örneklerinin depolama sırasındaki pH değeri değişimleri Tablo 3.21'de verilmiştir. Ekmek örneğinin su aktivitesi kıymaya göre daha düşük olduğundan mikrobiyal bozulma daha çok küf/maya kaynaklı olmaktadır. Ekmeklerdeki pH değişimi ürünün mikrobiyal değişime uğradığının bir göstergesi olmaktadır. Depolamanın ilk gününde homojenize edilen ekmek örneğinin pH değeri 6,52 olarak tespit edilmiştir. 8. gün sonunda tüm örneklerde bazı farklılıklar ortaya çıkmış ve en düşük pH değerleri PCL-MMT ve PCL-HNT+CTAB10+Ag numunelerinde çıkmıştır ($P<0,05$).

Tablo 3.21 PKN'ler ile paketlenmiş ekmek örneklerinin pH değerlerinin günlere göre değişimi

Örnek	0. gün	1.gün	5.gün	8.gün
Kontrol	6,52±0,01 ^{Aa}	6,45±0,00 ^{Bb}	6,40±0,00 ^{Dc}	6,37±0,02 ^{Bd}
LDPE Film	6,52±0,01 ^{Aa}	6,44±0,01 ^{Bb}	6,50±0,03 ^{Ba}	6,40±0,02 ^{Ac}
PCL-MMT	6,52±0,01 ^{Aa}	6,45±0,02 ^{Bb}	6,50±0,02 ^{Ba}	6,34±0,01 ^{Cc}
PCL-HNT	6,52±0,01 ^{Aa}	6,48±0,01 ^{Bb}	6,50±0,02 ^{Bab}	6,37±0,02 ^{Bc}
PCL-MMT+CTAB20+Ag	6,52±0,01 ^{Aa}	6,43±0,01 ^{Bb}	6,54±0,02 ^{Aa}	6,39±0,00 ^{ABc}
PCL-HNT+CTAB10+Ag	6,52±0,01 ^{Aa}	6,43±0,01 ^{Bc}	6,47±0,01 ^{Cb}	6,32±0,00 ^{Cd}

Kontrol: Nanokil içermeyen PCL film; LDPE Film: Düşük yoğunluklu polietilen film

A-D: Aynı sütundaki farklı büyük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

a-d: Aynı satırdaki farklı küçük harfler, sonuçların istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu göstermektedir ($P<0,05$).

Bu tez çalışmasında doğada mikroorganizmalar tarafından çözülerek doğaya uzun vadede zarar vermeyecek ve aynı zamanda içerisine konulan gıdaların raf ömrünü artıracak gümüş ile aktive edilmiş nanokil katkı PCL bazlı nanokompozit filmlerin üretilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma; nanokillerin modifiye edilerek antimikrobiyal özellik kazandırılması, biyobozunur özellikteki PCL polimeri temelli nanokompozit filmler üretilmesi ve bazı model gıdaların üretilen filmler ile kaplanarak mikrobiyal kalite analizlerinin yapılması olarak üç temel bölüme ayrılmıştır. İlk aşamada doğada yaygın olarak bulunabilen MMT ve HNT nanokilleri farklı moleküler uzunluğa ve yapıya sahip katyonik sürfektanlar (CTAB ve PDAC) ile organomodifiye edilerek bazal boşlukları artırılmıştır. Böylece nanokillerin polimer zincirleri arasında daha etkili şekilde disperse olabilmesi sağlanmıştır. Nanokillere antimikrobiyal bir yapı kazandırabilmek için uzun yıllardır antimikrobiyal özelliği kanıtlanmış olan gümüş iyonları kullanılmıştır. İkinci aşamada antimikrobiyal özellik kazandırılmış nanokiller biyobozunur nitelikteki PCL polimerinin içerisine katılarak nanokompozit filmler üretilmiş ve filmlerin karakterizasyon işlemleri yapılmıştır. Çalışmanın 3. ve son aşamasında ise sığır kıyması ve ekmek örnekleri, üretilen nanokompozit filmler ile kaplanarak mikrobiyal kalite analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler, istatistiksel olarak değerlendirilip sonuçlar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda bazı önemli bilimsel veriler elde edilmiştir. Bu sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

MMT ve HNT katyonik sürfektanlar CTAB ve PDAC ile organomodifiye edildiğinde, yüzeylerinin pozitif elektrik yükü ile yüklendiği görülmüştür. Nanokillerdeki yüzey yükünün değişimi, sürfektan konsantrasyonları ile orantılı olarak artmış ve belli bir noktada sabitlenmiştir.

Gümüş iyonları, saf MMT ve HNT nanokillerinin yüzey elektrik yüklerini pozitif yönde artırmıştır. Ancak OMN'lerin yüklerindeki değişimler uygulanan sürfektana göre farklılıklar göstermiştir.

Saf nanokillerin ortalama parçacık boyutları OMN ve GMN'lere göre daha yüksek çıkmıştır. Sürfektanlar ile pozitif yüklenen nanokillerin boyutları azalmıştır.

Pellet halindeki saf MMT'nin saf su ile temas açısı saf HNT'ye göre daha yüksek çıkmıştır. Nanokillerin gümüş ile etkileşiminden sonra temas açılarında önemli bir değişim görülmemiştir. Ancak organomodifikasyondan sonra nanokillerin hidrofobiklik özelliklerinin arttığı tespit edilmiştir.

XRD analizinde elde edilen sonuçlar, nanokillerin galeri boşluğunun (d-aralık) arttığını göstermektedir. CTAB sürfektanının uygulanması ile nanokillerde PDAC'ye göre galeri boşluğunun daha fazla arttığı gözlemlenmiştir.

Gümüş nitrat modifikasyonu sonucunda nanokillerin ATR-FTIR spektrumlarında gümüş nitratin ana piki (1344 cm^{-1}) tespit edilmiştir. Spektrumdaki veriler iyonik yapıdaki gümüşün nanokillerin yapısına girdiğini göstermiştir.

ICP-MS analizinde nanokillerin yapısındaki gümüş iyonlarının miktarı tespit edilebilmiştir. Gümüş iyonları en çok MMT+Ag'nin yapısında bulunmuştur. CTAB ile organomodifiye edilen nanokiller görece PDAC'ye göre daha az miktarda gümüş iyonları içermiştir.

ATR-FTIR ile yapılan in vitro salım testlerinde nanokillerden gıda simülantı olan saf suya gümüş iyonlarının ilk 4 saatte hızlı bir geçişinin olduğu, daha sonrasında ise geçişin yavaşladığı ve sabit kaldığı tespit edilmiştir. MMT+Ag ve HNT+Ag numuneleri organomodifiye nanokillere göre saf suya daha hızlı gümüş iyonlarını salmıştır. Bir başka deyişle, organomodifiye nanokiller içerdikleri gümüş iyonlarını sisteme daha yavaş ve uzun sürede salmaktadır.

Organomodifikasyon işlemi ile MMT'de toplam renk değişimi belirgin olmakla birlikte HNT'de minimal bir değişim olmuştur. Gümüş ilavesi sonucunda MMT'nin mavi renge kaymasından dolayı b^* değeri azalmıştır. HNT'de b^* değerindeki azalış daha düşük olmuştur. Gümüş ilavesi, montmorillonitin toplam renk değişimini büyük ölçüde etkilemiştir.

SEM mikrografları, nanokiller üzerindeki organmodifikasyon sürecinin morfolojik değişikliklerini göstermiştir. Gümüş ile nanokillerin etkileşimi TEM görüntülerinde daha koyu bölgeler olarak gözlenmiş ve nanokillerin dış yüzeyinde gümüş nanoparçacıklar meydana gelmiştir. Bu sonuçlar sürfektanlar ve gümüşün etkileştiğini ve nanokillerin yüzeyinde herhangi bir kimyasal işlem olmadan gümüş nanopartiküllerinin oluştuğunu göstermektedir.

GMN'ler kütlece %5 seviyesinde NB sıvı besiyerine ilave edildiğinde gıda kaynaklı patojenler olan *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium* gelişimini tamamen engellemiştir. MMT+CTAB20 ve HNT+CTAB10 numuneleri gümüş içermemesine rağmen *S. aureus*'un inhibisyonu üzerinde içerdikleri katyonik sürfektan sebebi ile etkili olmuştur.

MMT+Ag örneği 0,6 mg/mL MIC ve MBC değerleri ile en çok inhibisyon ve bakterisidal etki göstermiştir. In vitro salım testlerinde aynı örneğin en hızlı bir şekilde sisteme gümüş iyonlarını salması, bu durumu açıklayan bir etkidir.

PCL bazlı nanokompozit film örneklerinin kalınlıkları 0,032 mm – 0,042 mm arasında değişmiştir. Film örnekleri arasında kalınlıkları açısından önemli farklar bulunmamıştır.

Nanokompozit filmler kontrole göre daha yüksek çekme direncine ve kopma anındaki uzama değerine sahip olmuştur. PCL-HNT'in kontrole göre çekme direnci ve kopma anındaki uzama miktarı sırası ile %40 ve %262 oranında artmıştır. PCL-MMT+CTAB20+Ag'nin kontrole göre çekme direnci ve kopma anındaki uzama miktarı ise sırası ile %32 ve %228 oranında artmıştır.

PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-MMT+PDAC20+Ag filmlerinin toplam renk farklılıkları, kontrol filmine göre en yüksek çıkmıştır. En düşük değişim PCL-MMT ve PCL-HNT örneklerinde gerçekleşmiştir. Filmlerdeki renk değişimi, film matriksine katılan nanokillerin renk özelliklerinden etkilenmiştir.

PCL-HNT ve PCL-HNT+CTAB10+Ag en düşük WVP değerlerine sahip olmuştur ve aralarında önemli bir fark ($P < 0,05$) bulunmamaktadır. Nanokompozit filmler WVP'de kontrole göre daha düşük değerler vermiştir.

Filmlerin oksijen geçirgenliğinin bir göstergesi olarak yapılan peroksit sayısı tayininde PCL-HNT+CTAB10+Ag ile kaplanmış yağ numunesi en düşük peroksit sayısına sahip olmuştur. Diğer nanokompozit filmler de kontrole göre daha az oksijen geçirgenliği sergilemiştir.

PCL polimerine nanokil ilave edilmesi polimerin erime sıcaklığını değiştirmezken kristalizasyon sıcaklığını yaklaşık 1 °C artırmıştır. Füzyon entalpilerinden hesaplanan kristalinite derecesi en yüksek saf PCL'de %44,84 olarak çıkmıştır. Nanokompozit filmlerin kristaliniteleri saf PCL'ye göre daha düşük çıkmıştır.

PCL filmlerin ATR-FTIR spektroskopisi spektrumlarında belirgin bir farklılık görülmemiştir. Bu nedenle daha iyi bir ayırım yapabilmek amaçlı yapılan PCA ile gümüş iyonları içeren PCL filmlerin Coomans grafiğinde gruplandığı ve diğer örneklerden ayrıldığı görülmüştür.

SEM mikrograflarında MMT+CTAB20+Ag ve HNT+CTAB10+Ag'nin, saf MMT ve HNT'ye göre PCL polimer matriksinde daha homojen bir dağılım gösterdiği görülmüştür.

PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-HNT+CTAB10+Ag ölçülen inhibisyon zonu çaplarına göre *S. aureus* üzerine diğer bakteri türlerine göre daha fazla etki göstermiştir. Kontrol, PCL-MMT ve PCL-HNT, dört bakteri türü üzerinde herhangi bir etki gösterememiştir.

PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-HNT+CTAB10+Ag filmlerinin +4 °C'de depolanan sığır kıymasının TMAB yükü üzerindeki inhibisyon etkisi kontrol ve LDPE filme göre daha yüksek çıkmıştır.

PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-HNT+CTAB10+Ag filmlerinin +4 °C'de depolanan sığır kıymasının TK üzerindeki inhibisyon etkisi kontrol ve LDPE filme göre daha yüksek çıkmıştır.

Kontrol, LDPE ve PKN'ler +4 °C'de depolanan sığır kıymasındaki LAB gelişimi üzerinde önemli bir etkiye yol açmamıştır.

+4 °C'de depolanan sığır kıymasındaki pH değeri, başlangıçta 6,21 iken 8. gün sonunda LDPE filmde 5,66 ve kontrolde 5,87 olarak tespit edilmiştir. Bu değer,

PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-HNT+CTAB10+Ag'de sırası ile 5,95 ve 5,90 olmuştur.

PCL-HNT+CTAB10+Ag oda sıcaklığında (+25 °C) depolanan ekmek örneklerindeki küf/maya gelişimini en çok inhibe eden film olmuştur. En düşük inhibisyon etkisi LDPE filmde görülmüştür. PCL bazlı nanokompozit filmlerin ekmekte küf/maya gelişimini inhibe etme noktasında aralarında fark meydana gelmemiştir.

Nanokompozit filmlerle ambalajlanan ekmekler, depolamanın 1. ve 4. günlerinde PCL ve LDPE kontrol filmlerine göre daha düşük sertlik değerleri sergilemiştir.

PCL bazlı nanokompozit filmler, ekmeklerin renklerinde kayda değer düzeyde bir farklılık meydana getirmemiştir.

Ekmekteki pH değeri başlangıçta 6,52 iken, 8. gün sonunda LDPE filmde 6,40 ve kontrolde 6,37 olmuştur. Bu değerler PCL-MMT+CTAB20+Ag ve PCL-HNT+CTAB10+Ag'de sırası ile 6,39 ve 6,32 olmuştur.

Sonuç olarak; yapılan bu çalışmada üretimi ve karakterizasyonları gerçekleştirilen PCL bazlı antimikrobiyal özellik taşıyan nanokompozit filmlerin özellikle mikrobiyal bozulmaya karşı hassas olan gıdaların muhafazasında kullanılabileceği tespit edilmiştir. Bu çalışmada su içerikleri ve yapısal özellikleri farklı olan sığır kıyması ve ekmek örnekleri üzerinde çalışılmıştır. Filmler bu gıdaların haricinde peynir, salam, tavuk eti, meyve, sebze gibi geniş bir yelpazedeki gıda ürünlerinin ambalajlanmasında da kullanılabilir. Bunun yanında diğer ambalaj materyallerinin gıda ile temas eden iç yüzeylerinde bir katman olarak kullanılabilir. Bu katmanlı yapı sayesinde ambalaj filmlerine antimikrobiyal bir yapı kazandırılabilir.

Petrol türevi pek çok ambalaj malzemesi doğada çözünmediği için çevre problemlerine sebep olmaktadır. PCL polimeri kullanılarak üretilen nanokompozit filmler, mikroorganizmalar tarafından kullanılarak parçalanabilir nitelik taşıdığı için plastik atık kaynaklı çevre problemlerine bir çözüm olabilir.

-
- [1] M. Sundarrajan, A. Jeelani, V. Santhanam, S. Durgadevi, ve S. Abirami, “Effect of Concentration, pH and Time on the Morphology of Silver Nanoparticles Synthesized by Green Method using Phyllanthus Niruri and Solanum Nigrum Leaf Extracts”, International Journal of Current Research and Review, c. 10, sayı 21, ss. 25–29, 2018.
- [2] F. Uddin, “Clays, nanoclays, and montmorillonite minerals”, Metallurgical and Materials Transactions A: Physical Metallurgy and Materials Science, c. 39, sayı 12, ss. 2804–2814, 2008.
- [3] M. Ozdemir ve J. D. Floros, “Active food packaging technologies”, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, c. 44, sayı 3, ss. 185–193, 2004.
- [4] C. E. Tas *vd.*, “Halloysite Nanotubes/Polyethylene Nanocomposites for Active Food Packaging Materials with Ethylene Scavenging and Gas Barrier Properties”, Food and Bioprocess Technology, c. 10, sayı 4, ss. 789–798, 2017.
- [5] E. Villena de Francisco ve R. M. García-Estapa, “Nanotechnology in the agrofood industry”, Journal of Food Engineering, c. 238, sayı May, ss. 1–11, 2018.
- [6] E. Joussein, S. Petit, J. Churchman, B. Theng, D. Righi, ve B. Delvaux, “Halloysite clay minerals – a review”, Clay Minerals, c. 40, sayı 4, ss. 383–426, 2005.
- [7] C. Volzone, J. O. Rinaldi, ve J. Ortega, “Retention of gases by hexadecyltrimethylammonium-montmorillonite clays”, Journal of Environmental Management, c. 79, sayı 3, ss. 247–252, 2006.
- [8] A. Abbas, A. S. Sallam, A. R. A. Usman, ve M. I. Al-Wabel, “Organoclay-based nanoparticles from montmorillonite and natural clay deposits: Synthesis, characteristics, and application for MTBE removal”, Applied Clay Science, c. 142, ss. 21–29, 2017.
- [9] S. Cai, B. Pourdeyhimi, E. G. Lobo, ve J. Accepted, “A High Throughput Fabrication Method to Produce a Silver Nanoparticles-Doped-Nanoclay Polymer Composite with Novel Synergistic Antibacterial Effects at the Material Interface”, American Chemical Society, 2017.
- [10] H. D. Jang, S. K. Kim, ve S. J. Kim, “Effect of particle size and phase composition of titanium dioxide nanoparticles on the photocatalytic properties”, Journal of Nanoparticle Research, c. 3, sayı 2–3, ss. 141–147, 2001.
- [11] V. K. Bajpai *vd.*, “Prospects of using nanotechnology for food preservation, safety, and security”, Journal of Food and Drug Analysis, c. 26, sayı 4, ss. 1201–1214, 2018.
- [12] M. Ghorbanpour, “Silver-doped Nanoclay with Antibacterial Activity”, Journal of Ultrafine Grained and Nanostructured Materials, c. 50, sayı 2, ss.

124–131, 2017.

- [13] A. F. Hamad, J. H. Han, B. C. Kim, ve I. A. Rather, “The intertwine of nanotechnology with the food industry”, *Saudi Journal of Biological Sciences*, c. 25, sayı 1, ss. 27–30, 2018.
- [14] T. V. Duncan, “Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors”, *Journal of Colloid and Interface Science*, c. 363, sayı 1, ss. 1–24, 2011.
- [15] I. Majid, G. Ahmad Nayik, S. Mohammad Dar, ve V. Nanda, “Novel food packaging technologies: Innovations and future prospective”, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, ss. 454–462, 2016.
- [16] K. K. Gaikwad, S. Singh, ve Y. S. Lee, “High adsorption of ethylene by alkali-treated halloysite nanotubes for food-packaging applications”, *Environmental Chemistry Letters*, c. 16, sayı 3, ss. 1055–1062, 2018.
- [17] K. Majeed *vd.*, “Potential materials for food packaging from nanoclay/natural fibres filled hybrid composites”, *Materials and Design*, c. 46, ss. 391–410, 2013.
- [18] G. Choudalakis ve A. D. Gotsis, “Permeability of polymer/clay nanocomposites: A review”, *European Polymer Journal*, c. 45, sayı 4, ss. 967–984, 2009.
- [19] B. Başara ve S. Saklar, “Halloysit İnterkalasyonu”, 2015.
- [20] H. Lun, J. Ouyang, ve H. Yang, “Natural halloysite nanotubes modified as an aspirin carrier”, *RSC Advances*, c. 4, sayı 83, ss. 44197–44202, 2014.
- [21] S. Saklar, H. Ağrılı, O. Zimitoğlu, B. Başara, ve U. Kaan, “Kuzeybatı Anadolu Halloysit/Kaolinitlerinin Karakterizasyon Çalışmaları”, *Maden Tetkik ve Arama Dergisi*, c. 145, ss. 48–61, 2012.
- [22] R. Kamble, M. Ghag, S. Gaikwad, ve B. K. Panda, “Review article halloysite nanotubes and applications : A review”, *Journal of Advanced Scientific Research*, c. 3, sayı 2, ss. 25–29, 2012.
- [23] A. Dantas de Oliveira ve C. Augusto Gonçalves Beatrice, “Polymer Nanocomposites with Different Types of Nanofiller”, *Nanocomposites - Recent Evolutions*, sayı January, 2019.
- [24] H. A. Patel, R. S. Somani, H. C. Bajaj, R. V Jasra, H. C. Bajaj, ve R. V Jasra, “Synthesis and characterization of organic bentonite using Gujarat and Rajasthan clays Published by : Current Science Association Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/24097684> Synthesis and characterization of organic benton”, *Current Science Association*, c. 92, sayı 7, ss. 1004–1009, 2018.
- [25] F. A. Banat, B. Al-Bashir, S. Al-Asheh, ve O. Hayajneh, “Adsorption of phenol by bentonite”, *Environmental Pollution*, c. 107, sayı 3, ss. 391–398, 2000.
- [26] A. R. Zarei ve F. Barghak, “Fast and efficient adsorption of Ag nanoparticles by sodium montmorillonite nanoclay from aqueous systems”, *Journal of Chemical Research*, c. 39, sayı 9, ss. 542–545, 2015.

- [27] S. Sinha Ray ve M. Okamoto, "Polymer/layered silicate nanocomposites: A review from preparation to processing", *Progress in Polymer Science* (Oxford), c. 28, sayı 11, ss. 1539–1641, 2003.
- [28] K. Yano, A. Usuki, ve A. Okada, "Synthesis and properties of polyimide-clay hybrid films", *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, c. 35, sayı 11, ss. 2289–2294, 1997.
- [29] C. Zhou ve Y. Wang, "Structure–activity relationship of cationic surfactants as antimicrobial agents", *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, c. 45, ss. 28–43, 2020.
- [30] K. K. Gaikwad, S. Singh, ve Y. S. Lee, "Oxygen scavenging films in food packaging", *Environmental Chemistry Letters*, c. 16, sayı 2, ss. 523–538, 2018.
- [31] Ş. Uğur, Ö. Yargı, A. Elaissari, ve Ö. Pekcan, "Oxygen diffusion into polymer-clay composite films as a function of clay content and temperature", *Macromolecular Symposia*, c. 281, sayı 1, ss. 168–173, 2009.
- [32] L. E. Nielsen, "Models for the Permeability of Filled Polymer Systems", *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry*, c. 1, sayı 5, ss. 929–942, 1967.
- [33] C. Volzone ve J. Ortiga, "Adsorption of gaseous SO₂ and structural changes of montmorillonite", *Applied Clay Science*, c. 44, sayı 3–4, ss. 251–254, 2009.
- [34] M. A. Busolo ve J. M. Lagaron, "Oxygen scavenging polyolefin nanocomposite films containing an iron modified kaolinite of interest in active food packaging applications", *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, c. 16, ss. 211–217, 2012.
- [35] C. Volzone, J. G. Thompson, A. Melnitchenko, J. Ortiga, ve S. R. Palethorpe, "Selective gas adsorption by amorphous clay-mineral derivatives", *Clays and Clay Minerals*, c. 47, sayı 5, ss. 647–657, 1999.
- [36] A. Hiltner, R. Y. F. Liu, Y. S. Hu, ve E. Baer, "Oxygen transport as a solid-state structure probe for polymeric materials: A review", *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, c. 43, sayı 9, ss. 1047–1063, 2005.
- [37] D. Cheikh, H. Majdoub, ve M. Darder, "An overview of clay-polymer nanocomposites containing bioactive compounds for food packaging applications", *Applied Clay Science*, c. 216, sayı November 2021, s. 106335, 2022.
- [38] J. Zhu *vd.*, "The influence of alkyl chain length on surfactant distribution within organo-montmorillonites and their thermal stability", *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, c. 109, sayı 1, ss. 301–309, 2012.
- [39] Y. Xia, M. Rubino, ve R. Auras, "Release of nanoclay and surfactant from polymer-clay nanocomposites into a food simulant", *Environmental Science and Technology*, c. 48, sayı 23, ss. 13617–13624, 2014.
- [40] G. Lagaly, "Interaction of alkylamines with different types of layered

- compounds”, *Solid State Ionics*, c. 22, sayı 1, ss. 43–51, 1986.
- [41] N. Raghavendra, H. N. Narasimha Murthy, K. R. Vishnu Mahesh, R. Sridhar, ve M. Krishna, “Organomodification of Indian bentonite clay and its influence on fire behavior of nanoclay/vinylester composites”, *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part N: Journal of Nanoengineering and Nanosystems*, c. 229, sayı 2, ss. 55–65, 2015.
 - [42] H. M. C. d. Azeredo, “Nanocomposites for food packaging applications”, *Food Research International*, c. 42, sayı 9, ss. 1240–1253, 2009.
 - [43] J. Y. Huang, Y. Y. Chieng, X. Li, ve W. Zhou, “Experimental and Mathematical Assessment of Migration from Multilayer Food Packaging Containing a Novel Clay/Polymer Nanocomposite”, *Food and Bioprocess Technology*, c. 8, sayı 2, ss. 382–393, 2015.
 - [44] S. Ray, S. Y. Quek, A. Easteal, ve X. D. Chen, “The potential use of polymer-clay nanocomposites in food packaging”, *International Journal of Food Engineering*, c. 2, sayı 4, 2006.
 - [45] K. W. McMillin, “Advancements in meat packaging”, *Meat Science*, c. 132, sayı February, ss. 153–162, 2017.
 - [46] P. Theinsathid, W. Visessanguan, J. Kruenate, Y. Kingcha, ve S. Keeratipibul, “Antimicrobial Activity of Lauric Arginate-Coated Polylactic Acid Films against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* on Cooked Sliced Ham”, *Journal of Food Science*, c. 77, sayı 2, 2012.
 - [47] S. M. Ojagh, M. Rezaei, S. H. Razavi, ve S. M. H. Hosseini, “Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water”, *Food Chemistry*, c. 122, sayı 1, ss. 161–166, 2010.
 - [48] D. Salarbashi *vd.*, “Development of new active packaging film made from a soluble soybean polysaccharide incorporated *Zataria multiflora* Boiss and *Mentha pulegium* essential oils”, *Food Chemistry*, c. 146, ss. 614–622, 2014.
 - [49] D. Salarbashi *vd.*, “Development of new active packaging film made from a soluble soybean polysaccharide incorporating ZnO nanoparticles”, *Carbohydrate Polymers*, c. 140, ss. 220–227, 2016.
 - [50] J. Díaz-Visurraga, M. Melendrez, A. García, M. Paulraj, ve G. Cardenas, “Semitransparent Chitosan-TiO₂ Nanotubes Composite Film for Food Package Applications”, *Journal of Applied Polymer Science*, c. 116, 2010.
 - [51] G. Cárdenas, J. Díaz V., M. F. Meléndrez, C. Cruzat C., ve A. García Cancino, “Colloidal Cu nanoparticles/chitosan composite film obtained by microwave heating for food package applications”, *Polymer Bulletin*, c. 62, sayı 4, ss. 511–524, 2009.
 - [52] L. Zang, J. Qiu, C. Yang, ve E. Sakai, “Preparation and application of conducting polymer/Ag/clay composite nanoparticles formed by in situ UV-induced dispersion polymerization”, *Scientific Reports*, c. 6, sayı June 2015, ss. 1–12, 2016.

- [53] A. Llorens, E. Lloret, P. A. Picouet, R. Trbojevich, ve A. Fernandez, “Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging”, *Trends in Food Science and Technology*, c. 24, sayı 1, ss. 19–29, 2012.
- [54] C. E. Realini ve B. Marcos, “Active and intelligent packaging systems for a modern society”, *Meat Science*, c. 98, sayı 3, ss. 404–419, 2014.
- [55] P. A. Luning, L. Bango, J. Kussaga, J. Rovira, ve W. J. Marcelis, “Comprehensive analysis and differentiated assessment of food safety control systems: a diagnostic instrument”, *Trends in Food Science and Technology*, c. 19, sayı 10, ss. 522–534, 2008.
- [56] J.-W. Rhim ve P. K. W. Ng, “Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications.”, *Critical reviews in food science and nutrition*, c. 47, sayı 4, ss. 411–433, 2007.
- [57] S. Y. Liau, D. C. Read, W. J. Pugh, J. R. Furr, ve A. D. Russell, “Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions.”, *Letters in applied microbiology*, c. 25, sayı 4, ss. 279–283, 1997.
- [58] W. Sim, R. T. Barnard, M. A. T. Blaskovich, ve Z. M. Ziora, “Antimicrobial silver in medicinal and consumer applications: A patent review of the past decade (2007–2017)”, *Antibiotics*, c. 7, sayı 4, ss. 1–15, 2018.
- [59] M. Morris, H. Kerry, M. Cruz, ve E. Cummins, “An antimicrobial food package”, WO2014001541A1, 2014. [Çevrimiçi]. Available at: <http://www.google.com/patents/WO2014001541A1>
- [60] L. F. Giraldo, P. Camilo, ve T. Kyu, “Incorporation of silver in montmorillonite-type phyllosilicates as potential antibacterial material”, *Current Opinion in Chemical Engineering*, c. 11, ss. 7–13, 2016.
- [61] S. M. Magaña *vd.*, “Antibacterial activity of montmorillonites modified with silver”, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, c. 281, sayı 1–2, ss. 192–199, 2008.
- [62] A. Hamad, K. S. Khashan, ve A. Hadi, “Silver Nanoparticles and Silver Ions as Potential Antibacterial Agents”, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, sayı 0123456789, 2020.
- [63] J. R. Morones *vd.*, “The bactericidal effect of silver nanoparticles.”, *Nanotechnology*, c. 16, sayı 10, ss. 2346–2353, 2005.
- [64] A. Fernández *vd.*, “Preservation of aseptic conditions in absorbent pads by using silver nanotechnology”, *Food Research International*, c. 42, sayı 8, ss. 1105–1112, 2009.
- [65] C. H. Hu ve M. S. Xia, “Adsorption and antibacterial effect of copper-exchanged montmorillonite on *Escherichia coli* K88”, *Applied Clay Science*, c. 31, sayı 3–4, ss. 180–184, 2006.
- [66] A. Kędziora, M. Speruda, E. Krzyżewska, J. Rybka, A. Łukowiak, ve G. Bugla-Płoskońska, “Similarities and Differences between Silver Ions and Silver in

- Nanoforms as Antibacterial Agents”, *International Journal of Molecular Sciences*, c. 19, sayı 2, s. 444, 2018.
- [67] R. H. Deurenberg ve E. E. Stobberingh, “The evolution of *Staphylococcus aureus*.”, *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, c. 8, sayı 6, ss. 747–763, 2008.
 - [68] K. B. Holt ve A. J. Bard, “Interaction of silver(I) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag^+ .”, *Biochemistry*, c. 44, sayı 39, ss. 13214–13223, 2005.
 - [69] H. S. Toh, C. Batchelor-Mcauley, K. Tschulik, ve R. G. Compton, “Chemical interactions between silver nanoparticles and thiols: a comparison of mercaptohexanol against cysteine”, *Science China Chemistry* 2014 57:9, c. 57, sayı 9, ss. 1199–1210, 2014.
 - [70] D. Jiraroj, S. Tungasmita, ve D. N. Tungasmita, “Silver ions and silver nanoparticles in zeolite A composites for antibacterial activity”, *Powder Technology*, c. 264, ss. 418–422, 2014.
 - [71] J. H. Johnston, T. Borrmann, D. Rankin, M. Cairns, J. E. Grindrod, ve A. Mcfarlane, “Nano-structured composite calcium silicate and some novel applications”, *Current Applied Physics*, c. 8, sayı 3–4, ss. 504–507, 2008.
 - [72] C. Costa, A. Conte, G. G. Buonocore, ve M. A. Del Nobile, “Antimicrobial silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf life of fresh fruit salad”, *International Journal of Food Microbiology*, c. 148, sayı 3, ss. 164–167, 2011.
 - [73] A. L. Incoronato, G. G. Buonocore, A. Conte, M. Lavorgna, ve M. A. Del Nobile, “Active systems based on silver-montmorillonite nanoparticles embedded into bio-based polymer matrices for packaging applications”, *Journal of Food Protection*, c. 73, sayı 12, ss. 2256–2262, 2010.
 - [74] M. A. Busolo, P. Fernandez, M. J. Ocio, ve J. M. Lagaron, “Novel silver-based nanoclay as an antimicrobial in polylactic acid food packaging coatings”, *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, c. 27, sayı 11, ss. 1617–1626, 2010.
 - [75] M. M. Salim ve N. A. N. N. Malek, “Characterization and antibacterial activity of silver exchanged regenerated NaY zeolite from surfactant-modified NaY zeolite”, *Materials Science and Engineering C*, c. 59, ss. 70–77, 2016.
 - [76] S. C. Motshekga, S. S. Ray, M. S. Onyango, ve M. N. B. Momba, “Development of silver and zinc oxide decorated nanoclay containing polymeric composites for water disinfection applications”, *AIP Conference Proceedings*, c. 1664, 2015.
 - [77] EFSA, “Scientific opinion on the re-evaluation of silver (E 174) as food additive”, 2016.

- [78] Türk Gıda Kodeksi, “Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği”, 2013.
- [79] B. Galeano, E. Korff, ve W. L. Nicholson, “Inactivation of vegetative cells, but not spores, of *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, and *B. subtilis* on Stainless steel surfaces coated with an antimicrobial silver- and zinc-containing zeolite formulation”, *Applied and Environmental Microbiology*, c. 69, sayı 7, ss. 4329–4331, 2003.
- [80] A. Fernández, P. Picouet, ve E. Lloret, “Reduction of the spoilage-related microflora in absorbent pads by silver nanotechnology during modified atmosphere packaging of beef meat.”, *Journal of food protection*, c. 73, sayı 12, ss. 2263–2269, 2010.
- [81] V. Siracusa, P. Rocculi, S. Romani, ve M. D. Rosa, “Biodegradable polymers for food packaging: a review”, *Trends in Food Science and Technology*, c. 19, sayı 12, ss. 634–643, 2008.
- [82] N. Peelman *vd.*, “Application of bioplastics for food packaging”, *Trends in Food Science & Technology*, c. 32, sayı 2, ss. 128–141, 2013.
- [83] M. Aider, “Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review”, *LWT - Food Science and Technology*, c. 43, sayı 6, ss. 837–842, 2010.
- [84] V. G. L. Souza ve A. L. Fernando, “Nanoparticles in food packaging: Biodegradability and potential migration to food—A review”, *Food Packaging and Shelf Life*, c. 8, ss. 63–70, 2016.
- [85] L. N. Ludueña, J. M. Kenny, A. Vázquez, ve V. A. Alvarez, “Effect of clay organic modifier on the final performance of PCL/clay nanocomposites”, *Materials Science and Engineering A*, c. 529, sayı 1, ss. 215–223, 2011.
- [86] R. Ortega-Toro, A. Muñoz, P. Talens, ve A. Chiralt, “Improvement of properties of glycerol plasticized starch films by blending with a low ratio of polycaprolactone and/or polyethylene glycol”, *Food Hydrocolloids*, c. 56, ss. 9–19, 2016.
- [87] C. R. Reshmi, S. P. Sundaran, A. Juraij, ve S. Athiyanathil, “Fabrication of superhydrophobic polycaprolactone/beeswax electrospun membranes for high-efficiency oil/water separation”, *RSC Advances*, c. 7, sayı 4, ss. 2092–2102, 2017.
- [88] S. Khalid *vd.*, “Development and characterization of biodegradable antimicrobial packaging films based on polycaprolactone, starch and pomegranate rind hybrids”, *Food Packaging and Shelf Life*, c. 18, sayı September, ss. 71–79, 2018.
- [89] V. K. Khatiwala, N. Shekhar, S. Aggarwal, ve U. K. Mandal, “Biodegradation of Poly(ϵ -caprolactone) (PCL) Film by *Alcaligenes faecalis*”, *Journal of Polymers and the Environment*, c. 16, sayı 1, ss. 61–67, 2008.
- [90] M. A. Woodruff ve D. W. Hutmacher, “The return of a forgotten polymer - Polycaprolactone in the 21st century”, *Progress in Polymer Science (Oxford)*, c. 35, sayı 10, ss. 1217–1256, 2010.

- [91] Z. Gan, Q. Liang, J. Zhang, ve X. Jing, “Enzymatic degradation of poly(ϵ -caprolactone) film in phosphate buffer solution containing lipases”, *Polymer Degradation and Stability*, c. 56, sayı 2, ss. 209–213, 1997.
- [92] E. Rudnik, “Compostable Polymer Properties and Packaging Applications”, içinde *Plastic Films in Food Packaging: Materials, Technology and Applications*, William Andrew Publishing, 2012, ss. 217–248.
- [93] O. Coulembier, P. Degée, J. L. Hedrick, ve P. Dubois, “From controlled ring-opening polymerization to biodegradable aliphatic polyester: Especially poly(β -malic acid) derivatives”, *Progress in Polymer Science*, c. 31, sayı 8, ss. 723–747, 2006.
- [94] L. N. Ludueña, V. A. Alvarez, ve A. Vazquez, “Processing and microstructure of PCL/clay nanocomposites”, *Materials Science and Engineering A*, c. 460–461, ss. 121–129, 2007.
- [95] W. H. Hsu *vd.*, “Biodegradable polymer-nanoclay composites as intestinal sleeve implants installed in digestive tract for obesity and type 2 diabetes treatment”, *Materials Science and Engineering C*, c. 110, sayı January, s. 110676, 2020.
- [96] C. Shuai *vd.*, “Organic montmorillonite produced an interlayer locking effect in a polymer scaffold to enhance interfacial bonding”, *Materials Chemistry Frontiers*, c. 4, sayı 8, ss. 2398–2408, 2020.
- [97] Ö. Açıışlı, S. Karaca, ve A. Gürses, “Investigation of the alkyl chain lengths of surfactants on their adsorption by montmorillonite (Mt) from aqueous solutions”, *Applied Clay Science*, c. 142, ss. 90–99, 2017.
- [98] C. Del Hoyo, C. Dorado, M. S. Rodríguez-Cruz, ve M. J. Sánchez-Martín, “Physico-chemical study of selected surfactant-clay mineral systems”, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, c. 94, sayı 1, ss. 227–234, 2008.
- [99] A. Gürses, S. Karaca, F. Aksakal, ve M. Açıkyıldız, “Monomer and micellar adsorptions of CTAB onto the clay/water interface”, *Desalination*, c. 264, sayı 1–2, ss. 165–172, 2010.
- [100] M. Abdennouri *vd.*, “Photocatalytic degradation of pesticides by titanium dioxide and titanium pillared purified clays”, *Arabian Journal of Chemistry*, c. 9, ss. S313–S318, 2016.
- [101] A. L. Incoronato, A. Conte, G. G. Buonocore, ve M. A. Del Nobile, “Agar hydrogel with silver nanoparticles to prolong the shelf life of Fior di Latte cheese.”, *Journal of dairy science*, c. 94, sayı 4, ss. 1697–1704, 2011.
- [102] Y. Yukselen ve Y. Erzin, “Artificial neural networks approach for zeta potential of Montmorillonite in the presence of different cations”, *Environmental Geology*, c. 54, sayı 5, ss. 1059–1066, 2008.
- [103] M. A. Sahari, H. R. Moghimi, Z. Hadian, M. Barzegar, ve A. Mohammadi, “Physicochemical properties and antioxidant activity of α -tocopherol loaded nanoliposome’s containing DHA and EPA”, *Food Chemistry*, c. 215, ss. 157–

164, 2017.

- [104] L. Zhao, F. Temelli, J. M. Curtis, ve L. Chen, “Encapsulation of lutein in liposomes using supercritical carbon dioxide”, *Food Research International*, c. 100, ss. 168–179, 2017.
- [105] N. Giovambattista, P. G. Debenedetti, ve P. J. Rossky, “Effect of surface polarity on water contact angle and interfacial hydration structure”, *Journal of Physical Chemistry B*, c. 111, sayı 32, ss. 9581–9587, 2007.
- [106] S. Dede ve L. A. Filiz, “Nanofibre Encapsulation of Limonene and Modeling Its Release Mechanisms”, *Acta Alimentaria*, c. 48, sayı 1, ss. 56–64, 2019.
- [107] B. Szczepanik *vd.*, “The effect of chemical modification on the physico-chemical characteristics of halloysite: FTIR, XRF, and XRD studies”, *Journal of Molecular Structure*, c. 1084, ss. 16–22, 2015.
- [108] T. Büyüksırt ve H. Kuleaşan, “Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Gıda Analizlerinde Kullanımı”, *GIDA / The Journal of FOOD*, c. 39, sayı 4, ss. 235–241, 2014.
- [109] A. Suzzoni, L. Barre, E. Kohler, P. Levitz, L. J. Michot, ve J. M’Hamdi, “Interactions between kaolinite clay and AOT”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, c. 556, sayı July, ss. 309–315, 2018.
- [110] G. Ozulku, R. M. Yildirim, O. S. Toker, S. Karasu, ve M. Z. Durak, “Rapid detection of adulteration of cold pressed sesame oil adulterated with hazelnut, canola, and sunflower oils using ATR-FTIR spectroscopy combined with chemometric”, *Food Control*, c. 82, ss. 212–216, 2017.
- [111] M. He, L. Huang, B. Zhao, B. Chen, ve B. Hu, “Advanced functional materials in solid phase extraction for ICP-MS determination of trace elements and their species - A review”, *Analytica Chimica Acta*, c. 973, ss. 1–24, 2017.
- [112] B. Meermann ve V. Nischwitz, “ICP-MS for the analysis at the nanoscale-a tutorial review”, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, c. 33, sayı 9, ss. 1432–1468, 2018.
- [113] R. G. McGuire, “Reporting of Objective Color Measurements”, *HortScience*, c. 27, sayı 12, ss. 1254–1255, 2019.
- [114] J.-W. Rhim, S.-I. Hong, H.-M. Park, ve P. K. W. Ng, “Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, c. 54, sayı 16, ss. 5814–5822, 2006.
- [115] L. A. Savas ve M. Hancer, “Montmorillonite reinforced polymer nanocomposite antibacterial film”, *Applied Clay Science*, c. 108, ss. 40–44, 2015.
- [116] N. Sahiner ve S. B. Sengel, “Environmentally benign halloysite clay nanotubes as alternative catalyst to metal nanoparticles in H₂ production from methanolysis of sodium borohydride”, *Fuel Processing Technology*, c. 158, ss. 1–8, 2017.

- [117] I. Ozturk, F. Tornuk, O. Sagdic, ve O. Kisi, “Application of non-linear models to predict inhibition effects of various plant hydrosols on *Listeria monocytogenes* inoculated on fresh-cut apples”, *Foodborne Pathogens and Disease*, c. 9, sayı 7, ss. 607–616, 2012.
- [118] F. Tornuk, I. Ozturk, O. Sagdic, A. Yilmaz, ve O. Erkmén, “Application of predictive inactivation models to evaluate survival of *Staphylococcus aureus* in fresh-cut apples treated with different plant hydrosols”, *International Journal of Food Properties*, c. 17, sayı 3, ss. 587–598, 2014.
- [119] J.-H. Kim ve S.-W. Oh, “A colorimetric lateral flow assay based on multiplex PCR for the rapid detection of viable *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium without enrichment”, *LWT*, c. 152, s. 112242, 2021.
- [120] B. Devleesschauwer, S. M. Pires, I. Young, A. Gill, ve S. E. Majowicz, “Associating sporadic, foodborne illness caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* with specific foods: a systematic review and meta-analysis of case-control studies”, *Epidemiology and Infection*, c. 147, s. e235, 2019.
- [121] J. Barrett ve C. N. Fhogartaigh, “Bacterial gastroenteritis”, *Medicine*, c. 45, sayı 11, ss. 683–689, 2017.
- [122] S. S. Shekarforoush, S. Basiri, H. Ebrahimnejad, ve S. Hosseinzadeh, “Effect of chitosan on spoilage bacteria, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in cured chicken meat”, *International Journal of Biological Macromolecules*, c. 76, ss. 303–309, 2015.
- [123] F. Tornuk ve M. Z. Durak, “A Novel Method for Fresh-Cut Decontamination: Efficiency of Vaporized Ethyl Pyruvate in Reducing *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157: H7 from Fresh Parsley”, *Journal of Food Processing and Preservation*, c. 39, sayı 6, ss. 1518–1524, 2015.
- [124] P. Appendini ve J. H. Hotchkiss, “Review of antimicrobial food packaging”, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, c. 3, sayı 2, ss. 113–126, 2002.
- [125] P. Parvekar, J. Palaskar, S. Metgud, R. Maria, ve S. Dutta, “The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of silver nanoparticles against *Staphylococcus aureus*”, *Biomaterial Investigations in Dentistry*, c. 7, sayı 1, ss. 105–109, 2020.
- [126] F. Benhacine, N. Abdellaoui, O. Arous, ve A. S. Hadj-Hamou, “Behaviours of poly(ϵ -caprolactone)/silver-montmorillonite nanocomposite in membrane ultrafiltration for wastewater treatment”, *Environmental Technology (United Kingdom)*, c. 41, sayı 16, ss. 2049–2060, 2020.
- [127] P. Kanmani ve J. Rhim, “International Journal of Biological Macromolecules Development and characterization of carrageenan / grapefruit seed extract composite films for active packaging”, *International Journal of Biological Macromolecules*, c. 68, ss. 258–266, 2014.
- [128] ASTM D882-12, “Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting”, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012.

- [129] I. S. Jahit, N. N. M. Nazmi, M. I. N. Isa, ve N. M. Sarbon, "Preparation and physical properties of gelatin/CMC/chitosan composite films as affected by drying temperature", *International Food Research Journal*, c. 23, sayı 3, ss. 1068–1074, 2016.
- [130] Z. Mahcene *vd.*, "Development and characterization of sodium alginate based active edible films incorporated with essential oils of some medicinal plants", *International Journal of Biological Macromolecules*, c. 145, ss. 124–132, 2020.
- [131] N. Moussaif, C. Crespo, J. G. Meier, ve M. A. Jimenez, "Synergistic reinforcement of nanoclay and mesoporous silicate fillers in polycaprolactone: The effect of nanoclay on the compatibility of the components", *Polymer*, c. 53, sayı 17, ss. 3741–3748, 2012.
- [132] A. K. Pal, F. Wu, M. Misra, ve A. K. Mohanty, "Reactive extrusion of sustainable PHBV/PBAT-based nanocomposite films with organically modified nanoclay for packaging applications: Compression moulding vs. cast film extrusion", *Composites Part B: Engineering*, c. 198, sayı May, s. 108141, 2020.
- [133] V. Crescenzi, G. Manzini, G. Calzolari, ve C. Borri, "Thermodynamics of fusion of poly- β -propiolactone and poly- ϵ -caprolactone. comparative analysis of the melting of aliphatic polylactone and polyester chains", *European Polymer Journal*, c. 8, sayı 3, ss. 449–463, 1972.
- [134] U. Siripatrawan ve B. R. Harte, "Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract", *Food Hydrocolloids*, c. 24, sayı 8, ss. 770–775, 2010.
- [135] M. Mor-Mur ve J. Yuste, "Emerging bacterial pathogens in meat and poultry: An overview", *Food and Bioprocess Technology*, c. 3, sayı 1, ss. 24–35, 2010.
- [136] F. Ortega, M. A. García, ve V. B. Arce, "Nanocomposite films with silver nanoparticles synthesized in situ: Effect of corn starch content", *Food Hydrocolloids*, c. 97, sayı March, 2019.
- [137] S. Memiş, F. Tornuk, F. Bozkurt, ve M. Z. Durak, "Production and characterization of a new biodegradable fenugreek seed gum based active nanocomposite film reinforced with nanoclays", *International Journal of Biological Macromolecules*, c. 103, ss. 669–675, 2017.
- [138] M. Alizadeh-Sani, E. Mohammadian, ve D. J. McClements, "Eco-friendly active packaging consisting of nanostructured biopolymer matrix reinforced with TiO₂ and essential oil: Application for preservation of refrigerated meat", *Food Chemistry*, c. 322, sayı August 2019, s. 126782, 2020.
- [139] E. Osman, *Basic Methods for the Microbiological Analysis of Foods*. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 2011.
- [140] P. N. Skandamis ve G. J. E. Nychas, "Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres", *Journal of Applied Microbiology*, c. 91, sayı 6, ss. 1011–1022, 2001.

- [141] M. Ozgolet, M. Yaman, M. Zeki Durak, ve S. Karasu, “The effect of five different sourdough on the formation of glyoxal and methylglyoxal in bread and influence of in vitro digestion”, *Food Chemistry*, c. 371, sayı January 2021, s. 131141, 2022.
- [142] J. L. P. dos Santos, A. O. Bernardi, L. L. Pozza Morassi, B. S. Silva, M. V. Copetti, ve A. S. Sant’Ana, “Incidence, populations and diversity of fungi from raw materials, final products and air of processing environment of multigrain whole meal bread”, *Food Research International*, c. 87, ss. 103–108, 2016.
- [143] S. Perez-Quirce, P. A. Caballero, A. J. Vela, M. Villanueva, ve F. Ronda, “Impact of yeast and fungi (1 → 3)(1 → 6)-β-glucan concentrates on viscoelastic behavior and bread making performance of gluten-free rice-based doughs”, *Food Hydrocolloids*, c. 79, ss. 382–390, 2018.
- [144] A. M. Fernández Solarte *vd.*, “Insight into surface and structural changes of montmorillonite and organomontmorillonites loaded with Ag”, *Comptes Rendus Chimie*, c. 22, sayı 2–3, ss. 142–153, 2019.
- [145] R. Zhu, T. Wang, F. Ge, W. Chen, ve Z. You, “Intercalation of both CTMAB and Al13 into montmorillonite”, *Journal of Colloid and Interface Science*, c. 335, sayı 1, ss. 77–83, 2009.
- [146] S. B. Ogunlaja ve R. Pal, “Effects of bentonite nanoclay and cetyltrimethyl ammonium bromide modified bentonite nanoclay on phase inversion of water-in-oil emulsions”, *Colloids and Interfaces*, c. 4, sayı 1, 2020.
- [147] K. J. Shah, S. Y. Pan, A. D. Shukla, D. O. Shah, ve P. C. Chiang, “Mechanism of organic pollutants sorption from aqueous solution by cationic tunable organoclays”, *Journal of Colloid and Interface Science*, c. 529, ss. 90–99, 2018.
- [148] S. L. Lemke, P. G. Grant, ve T. D. Phillips, “Adsorption of Zearalenone by Organophilic Montmorillonite Clay”, c. 8561, sayı 97, 1998.
- [149] R. K. Pujala, *Dispersion Stability, Microstructure and Phase Transition of Anisotropic Nanodiscs*. Springer International Publishing, 2014. [Çevrimiçi]. Available at: www.springer.com/materials/book/978-3-319-04554-2
- [150] B. P. Binks ve S. O. Lumsdon, “Catastrophic Phase Inversion of Water-in-Oil Emulsions Stabilized by Hydrophobic Silica”, *Langmuir*, c. 16, sayı 6, ss. 2539–2547, 2000.
- [151] B. P. Binks ve S. O. Lumsdon, “Influence of Particle Wettability on the Type and Stability of Surfactant-Free Emulsions”, *Langmuir*, c. 16, sayı 23, ss. 8622–8631, 2000.
- [152] M. Abdollahi, M. Rezaei, ve G. Farzi, “A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan”, *Journal of Food Engineering*, c. 111, sayı 2, ss. 343–350, 2012.
- [153] A. M. Motawie *vd.*, “Physico-chemical characteristics of nano-organo

- bentonite prepared using different organo-modifiers”, *Egyptian Journal of Petroleum*, c. 23, sayı 3, ss. 331–338, 2014.
- [154] P. H. Camani, J. P. M. Toguchi, A. P. S. M. Fiori, ve D. dos S. Rosa, “Impact of unmodified (PGV) and modified (Cloisite20A) nanoclays into biodegradability and other properties of (bio)nanocomposites”, *Applied Clay Science*, c. 186, sayı July 2019, 2020.
- [155] H. Zaitan, D. Bianchi, O. Achak, ve T. Chafik, “A comparative study of the adsorption and desorption of o-xylene onto bentonite clay and alumina”, *Journal of Hazardous Materials*, c. 153, sayı 1–2, ss. 852–859, 2008.
- [156] M. Muzamil, N. Khalid, M. D. Aziz, ve S. A. Abbas, “Synthesis of silver nanoparticles by silver salt reduction and its characterization”, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, c. 60, sayı 1, 2014.
- [157] N. Si, T. Province, S. Bordeepong, D. Bhongsuwan, T. Pungrassami, ve T. Bhongsuwan, “Characterization of halloysite from Thung Yai District ”, c. 33, sayı 5, ss. 599–607, 2011.
- [158] M. Cushen, J. Kerry, M. Morris, M. Cruz-Romero, ve E. Cummins, “Silver migration from nanosilver and a commercially available zeolite filler polyethylene composites to food simulants”, *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, c. 31, sayı 6, ss. 1132–1140, 2014.
- [159] H. Song, B. Li, Q. B. Lin, H. J. Wu, ve Y. Chen, “Migration of silver from nanosilver-polyethylene composite packaging into food simulants”, *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, c. 28, sayı 12, ss. 1758–1762, 2011.
- [160] J. Christopher, J. P. Kerry, M. Cruz-romero, S. Azlin-hasim, M. Morris, ve E. Cummins, “Migration assessment of silver from nanosilver spray coated low density polyethylene or polyester fi lms into milk”, *Food Packaging and Shelf Life*, c. 15, sayı July 2017, ss. 144–150, 2018.
- [161] M. Cushen, J. Kerry, M. Morris, M. Cruz-Romero, ve E. Cummins, “Migration and exposure assessment of silver from a PVC nanocomposite”, *Food Chemistry*, c. 139, sayı 1–4, ss. 389–397, 2013.
- [162] G. A. Ikhtiyarova, A. S. Özcan, Ö. Gök, ve A. Özcan, “Characterization of natural- and organobentonite by XRD, SEM, FT-IR and thermal analysis techniques and its adsorption behaviour in aqueous solutions”, *Clay Minerals*, c. 47, sayı 1, ss. 31–44, 2012.
- [163] N. Ameer, G. Ferouani, Z. Belkadi, R. Bachir, J. J. Calvino, ve A. Hakkoum, “A novel approach for the preparation of silver nanoparticles supported on titanate nanotubes and bentonite-application in the synthesis of heterocyclic compound derivatives”, *Materials Research Express*, c. 6, sayı 12, 2019.
- [164] E. Nyankson, O. Olasehinde, V. T. John, ve R. B. Gupta, “Surfactant-Loaded Halloysite Clay Nanotube Dispersants for Crude Oil Spill Remediation”, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, c. 54, sayı 38, ss. 9328–9341, 2015.

- [165] A. Roy, B. S. Butola, ve M. Joshi, "Synthesis, characterization and antibacterial properties of novel nano-silver loaded acid activated montmorillonite", *Applied Clay Science*, c. 146, sayı February, ss. 278–285, 2017.
- [166] K. Malachová, P. Praus, Z. Rybková, ve O. Kozák, "Antibacterial and antifungal activities of silver, copper and zinc montmorillonites", *Applied Clay Science*, c. 53, sayı 4, ss. 642–645, 2011.
- [167] T. C. Dakal, A. Kumar, R. S. Majumdar, ve V. Yadav, "Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles", *Frontiers in Microbiology*, c. 7, sayı NOV, ss. 1–17, 2016.
- [168] K. Malachová, P. Praus, Z. Pavlíčková, ve M. Turicová, "Activity of antibacterial compounds immobilised on montmorillonite", *Applied Clay Science*, c. 43, ss. 364–368, 2009.
- [169] M. Infante, A. Pinazo, ve J. Seguer, "Non-conventional surfactants from amino acids and glycolipids: Structure, preparation and properties", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, c. 123–124, ss. 49–70, 1997.
- [170] V. Muriel-Galet, G. López-Carballo, R. Gavara, ve P. Hernández-Muñoz, "Antimicrobial food packaging film based on the release of LAE from EVOH", *International Journal of Food Microbiology*, c. 157, sayı 2, ss. 239–244, 2012.
- [171] N. Pessanha, K. Kawase, ve G. Coelho, "Preparation and Characterization of Silver/Organo-clay Nanocomposites", *Chemical and Materials Engineering*, c. 2, ss. 173–178, 2014.
- [172] K. Shameli *vd.*, "Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity", *International Journal of Nanomedicine*, c. 5, sayı 1, ss. 875–887, 2010.
- [173] B. Benli ve C. Yalın, "The influence of silver and copper ions on the antibacterial activity and local electrical properties of single sepiolite fiber: A conductive atomic force microscopy (C-AFM) study", *Applied Clay Science*, c. 146, sayı July, ss. 449–456, 2017.
- [174] N. S. Flores-López, J. Castro-Rosas, R. Ramírez-Bon, A. Mendoza-Córdova, E. Larios-Rodríguez, ve M. Flores-Acosta, "Synthesis and properties of crystalline silver nanoparticles supported in natural zeolite chabazite", *Journal of Molecular Structure*, c. 1028, ss. 110–115, 2012.
- [175] G. Carja, Y. Kameshima, A. Nakajima, C. Dranca, ve K. Okada, "Nanosized silver-anionic clay matrix as nanostructured ensembles with antimicrobial activity", *International Journal of Antimicrobial Agents*, c. 34, sayı 6, ss. 534–539, 2009.
- [176] M. A. Haq, A. Hasnain, F. A. Jafri, M. F. Akbar, ve A. Khan, "Characterization of edible gum cordia film: Effects of beeswax", *LWT - Food Science and Technology*, c. 68, ss. 674–680, 2016.

- [177] S. Shojaee-Aliabadi *vd.*, “Characterization of κ -carrageenan films incorporated plant essential oils with improved antimicrobial activity.”, Carbohydrate polymers, c. 101, sayı 1, ss. 582–91, 2014.
- [178] E. Sogut ve A. C. Seydim, “Development of Chitosan and Polycaprolactone based active bilayer films enhanced with nanocellulose and grape seed extract”, Carbohydrate Polymers, c. 195, sayı April, ss. 180–188, 2018.
- [179] N. S ve S. Joseph, “Effect of unmodified and modified montmorillonite on the properties of PCL based ultrafiltration membrane for water treatment applications”, Journal of Water Process Engineering, c. 21, sayı July 2017, ss. 61–68, 2018.
- [180] W. Yang *vd.*, “Biodegradable poly (lactic acid)-poly (ϵ -caprolactone)-nanolignin composite films with excellent flexibility and UV barrier performance”, Composites Communications, c. 22, sayı September, s. 100497, 2020.
- [181] E. Z. E. Zawawi, A. H. N. Hafizah, A. Z. Romli, N. Y. Yuliana, ve N. N. Bonnia, “Effect of nanoclay on mechanical and morphological properties of poly(lactide) acid (PLA) and polypropylene (PP) blends”, Materials Today: Proceedings, c. 46, sayı xxxx, ss. 1778–1782, 2020.
- [182] A. Kassa, A. Benhamida, M. Kaci, ve S. Bruzaud, “Effects of montmorillonite, sepiolite, and halloysite clays on the morphology and properties of polycaprolactone bionanocomposites”, Polymers and Polymer Composites, c. 28, sayı 5, ss. 338–347, 2020.
- [183] D. Saaoui, S. Benali, R. Mincheva, A. Habi, P. Dubois, ve J. M. Raquez, “Impact of organoclays on the phase morphology and the compatibilization efficiency of immiscible poly(ethylene terephthalate)/poly(ϵ -caprolactone) blends”, Journal of Applied Polymer Science, c. 137, sayı 24, ss. 1–10, 2020.
- [184] H. Elghaoui *vd.*, “Structure, thermal and mechanical properties of poly (ϵ -caprolactone)/organomodified clay bionanocomposites prepared in open air by in situ polymerization”, Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry, c. 57, sayı 12, ss. 865–875, 2020.
- [185] B. Zhu, T. Bai, P. Wang, Y. Wang, C. Liu, ve C. Shen, “Selective dispersion of carbon nanotubes and nanoclay in biodegradable poly(ϵ -caprolactone)/poly(lactic acid) blends with improved toughness, strength and thermal stability”, International Journal of Biological Macromolecules, c. 153, ss. 1272–1280, 2020.
- [186] A. Kurt ve T. Kahyaoglu, “Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan”, Carbohydrate Polymers, c. 104, sayı 1, ss. 50–58, 2014.
- [187] H.-M. Park, X. Li, C.-Z. Jin, C.-Y. Park, W.-J. Cho, ve C.-S. Ha, “Preparation and Properties of Biodegradable Thermoplastic Starch/Clay Hybrids”, Macromolecular Materials and Engineering, c. 287, sayı 8, ss. 553–558, 2002.
- [188] R. Sothornvit, J. W. Rhim, ve S. I. Hong, “Effect of nano-clay type on the

- physical and antimicrobial properties of whey protein isolate/clay composite films”, *Journal of Food Engineering*, c. 91, sayı 3, ss. 468–473, 2009.
- [189] S. Shojaee-Aliabadi *vd.*, “Characterization of nanobiocomposite kappa-carrageenan film with Zataria multiflora essential oil and nanoclay”, *International Journal of Biological Macromolecules*, c. 69, ss. 282–289, 2014.
- [190] J. Crank, *The Mathematics of Diffusion*, 2nd Editio. London: Clarendon Press, Oxford, 1975.
- [191] G. Gorrasi *vd.*, “Vapor barrier properties of polycaprolactone montmorillonite nanocomposites: Effect of clay dispersion”, *Polymer*, c. 44, sayı 8, ss. 2271–2279, 2003.
- [192] A. Khezrian ve Y. Shahbazi, “Application of nanocomposite chitosan and carboxymethyl cellulose films containing natural preservative compounds in minced camel’s meat”, *International Journal of Biological Macromolecules*, c. 106, ss. 1146–1158, 2018.
- [193] F. Tornuk, M. Hancer, O. Sagdic, ve H. Yetim, “LLDPE based food packaging incorporated with nanoclays grafted with bioactive compounds to extend shelf life of some meat products”, *LWT - Food Science and Technology*, c. 64, sayı 2, ss. 540–546, 2015.
- [194] D. A. Pereira de Abreu, P. Paseiro Losada, I. Angulo, ve J. M. Cruz, “Development of new polyolefin films with nanoclays for application in food packaging”, *European Polymer Journal*, c. 43, sayı 6, ss. 2229–2243, 2007.
- [195] N. P. Risyon, S. H. Othman, R. K. Basha, ve R. A. Talib, “Characterization of polylactic acid/halloysite nanotubes bionanocomposite films for food packaging”, *Food Packaging and Shelf Life*, c. 23, s. 100450, 2020.
- [196] M. D. Sanchez-Garcia ve J. M. Lagaron, “Novel clay-based nanobiocomposites of biopolyesters with synergistic barrier to UV light, gas, and vapour”, *Journal of Applied Polymer Science*, c. 118, sayı 1, ss. 188–199, 2010.
- [197] A. K. Pal ve V. Katiyar, “Nanoamphiphilic Chitosan Dispersed Poly(lactic acid) Bionanocomposite Films with Improved Thermal, Mechanical, and Gas Barrier Properties”, *Biomacromolecules*, c. 17, sayı 8, ss. 2603–2618, 2016.
- [198] Z. G. Tang, J. T. Callaghan, ve J. A. Hunt, “The physical properties and response of osteoblasts to solution cast films of PLGA doped polycaprolactone”, *Biomaterials*, c. 26, sayı 33, ss. 6618–6624, 2005.
- [199] S. Ramazani ve M. Karimi, “Aligned poly(ϵ -caprolactone)/graphene oxide and reduced graphene oxide nanocomposite nanofibers: Morphological, mechanical and structural properties”, *Materials Science and Engineering C*, c. 56, ss. 325–334, 2015.
- [200] D. D. Siqueira, C. B. B. Luna, E. M. Araújo, E. A. Dos Santos Filho, D. D. De

- Souza Morais, ve R. M. R. Wellen, “Biodegradable compounds of poly (ϵ -caprolactone)/montmorillonite clays”, *Materials Research*, c. 22, ss. 1–10, 2020.
- [201] T. Elzein, M. Nasser-Eddine, C. Delaite, S. Bistac, ve P. Dumas, “FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces”, *Journal of Colloid and Interface Science*, c. 273, sayı 2, ss. 381–387, 2004.
- [202] E. M. Abdelrazek, A. M. Hezma, A. El-khodary, ve A. M. Elzayat, “Spectroscopic studies and thermal properties of PCL/PMMA biopolymer blend”, *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, c. 3, sayı 1, ss. 10–15, 2016.
- [203] A. Elzubair, C. N. Elias, J. C. M. Suarez, H. P. Lopes, ve M. V. B. Vieira, “The physical characterization of a thermoplastic polymer for endodontic obturation”, *Journal of Dentistry*, c. 34, sayı 10, ss. 784–789, 2006.
- [204] D. Üçüncüoğlu, K. Ilaslan, I. H. Boyaci, ve D. S. Özay, “Rapid detection of fat adulteration in bakery products using Raman and near-infrared spectroscopies”, *European Food Research and Technology*, c. 237, sayı 5, ss. 703–710, 2013.
- [205] F. Tornuk, O. Sagdic, M. Hancer, ve H. Yetim, “Development of LLDPE based active nanocomposite films with nanoclays impregnated with volatile compounds”, *Food Research International*, c. 107, sayı August 2017, ss. 337–345, 2018.
- [206] V. G. L. Souza, J. R. A. Pires, É. T. Vieira, I. M. Coelho, M. P. Duarte, ve A. L. Fernando, “Activity of chitosan-montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary essential oil: From in vitro assays to application in fresh poultry meat”, *Food Hydrocolloids*, c. 89, sayı May 2018, ss. 241–252, 2019.
- [207] J. M. Jay, M. J. Loessner, ve D. A. Golden, *Modern food microbiology*. Springer Science & Business Media, 2008.
- [208] J. R. A. Pires, V. G. L. de Souza, ve A. L. Fernando, “Chitosan/montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary and ginger essential oil as packaging for fresh poultry meat”, *Food Packaging and Shelf Life*, c. 17, sayı December 2017, ss. 142–149, 2018.
- [209] K. Kawahara, K. Tsuruda, M. Morishita, ve M. Uchida, “Antibacterial effect of silver-zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions”, *Dental Materials*, c. 16, sayı 6, ss. 452–455, 2000.
- [210] A. Martínez-Abad, J. M. Lagaron, ve M. J. Ocio, “Development and characterization of silver-based antimicrobial ethylene-vinyl alcohol copolymer (EVOH) films for food-packaging applications”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, c. 60, sayı 21, ss. 5350–5359, 2012.
- [211] J. Lee, Y. H. Lee, K. Jones, E. Sharek, ve M. A. Pascall, “Antimicrobial packaging of raw beef, pork and turkey using silver-zeolite incorporated into the material”, *International Journal of Food Science and Technology*, c. 46, sayı 11, ss. 2382–2386, 2011.

- [212] L. Kuuliala *vd.*, “Preparation and antimicrobial characterization of silver-containing packaging materials for meat”, *Food Packaging and Shelf Life*, c. 6, ss. 53–60, 2015.
- [213] J. P. Correa, V. Molina, M. Sanchez, C. Kainz, P. Eisenberg, ve M. B. Massani, “Improving ham shelf life with a polyhydroxybutyrate/polycaprolactone biodegradable film activated with nisin”, *Food Packaging and Shelf Life*, c. 11, ss. 31–39, 2017.
- [214] D. V. Plackett *vd.*, “Characterization of L-poly lactide and L-poly lactide-polycaprolactone co-polymer films for use in cheese-packaging applications”, *Packaging Technology and Science*, c. 19, sayı 1, ss. 1–24, 2006.



TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Makaleler

1. İlaslan, K. ve Tornuk, F., “Characterization of silver ions-doped organomodified nanoclays”, Arabian Journal for Science and Engineering, 2022.
<https://doi.org/10.1007/s13369-022-07046-3>
2. İlaslan, K., Tornuk, F. ve Durak, M. Z., “Development of polycaprolactone biodegradable films reinforced with silver-doped organoclay and effect on the microbiological quality of ground beef meat”, Journal of Food Processing and Preservation, 00, e16862, 2022. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16862>

Konferans Bildirileri

1. İlaslan, K., Tornuk, F. ve Durak, M. Z., “Effect of Silver Ions Doped Nanoclays on Food-Borne Pathogens”, II. International Biology Congress "Biocong.manas2022", Kırgızistan, Bişkek, 2022.

Projeler

1. Yürütücü: Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK, Proje Kodu: FDK-2019-3584, Proje Adı: Modifiye Nanokillerin Biyobozunur Gıda Ambalajlarında Kullanımı, Araştırmacı: Kerem İLASLAN, Destekleyen Kurum: Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü, Başlama Tarihi: 22.05.2019.