

Nanokristal selüloz takviyeli biyobazlı filmlerde nem ve sıcaklık koşullarının mekanik ve bariyer özelliklere etkisi

Sevgin DIBLAN

Cite this article as:

Dıblan, S. (2025). Nanokristal selüloz takviyeli biyobazlı filmlerde nem ve sıcaklık koşullarının mekanik ve bariyer özelliklere etkisi. Food and Health, 11(4), 301-317. <https://doi.org/10.3153/FH25026>

Tarsus Üniversitesi, Mersin Tarsus
Organize Sanayi Bölgesi Teknik Meslek
Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü,
Tarsus/Mersin, Türkiye

Adana Alparslan Türkeş Bilim ve
Teknoloji Üniversitesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü, Adana, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

S.D. 0000-0002-7998-4801

Submitted: 08.02.2025

Revision requested: 24.03.2025

Last revision received: 07.05.2025

Accepted: 15.05.2025

Published online: 13.08.2025

Correspondence:

Sevgin DIBLAN

E-mail: sdiblan@tarsus.edu.tr



© 2025 The Author(s)

Available online at
<http://jfh.sciencificwebjournals.com>

ÖZ

Bu çalışma, nanokristal selüloz (NKS) katkılı biyobazlı kompozit filmlerin, farklı nem ve sıcaklık koşullarına bağlı, mekanik ve su buhar bariyer özelliklerindeki değişimleri incelemektedir. Peynir altı suyu protein konsantresi (WPK) ve kitosan (KS) bazlı kompozit filmler, farklı bağıl nem (%50, %75, %100) ve sıcaklık (-18°C, 4°C, 25°C) koşullarında değerlendirilmiş, NKS katkısının filmin mekanik ve bariyer stabilitesi üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. NKS eklenmiş WPK/KS/NKS filmlerde, NKS katkısının su buhar bariyer ($1.04 \text{ mm m}^{-2} \text{ h}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$) özelliklerini iyileştirdiğini ve film stabilitesini artırdığını gösterilmiştir. Depolama sıcaklığı arttıkça (4°C → 25°C) filmlerin uzama yüzdesinin azaldığı gözlemlenmiştir. Yüksek bağıl nemde (%100 RH) çekme dayanımı diğer filmler için %60'a varan oranda azalırken, NKS katkısının bu kaybı önlediği belirlenmiştir. NKS katkısı, film yüzey morfolojisini düzenleyerek su buharı geçişini sınırlamış, ancak antimikrobiyal aktivite üzerinde belirgin bir etki göstermemiştir. NKS katkısının, biyobazlı filmlerin su buhar bariyer ve mekanik özelliklerini geliştirerek gıda ambalajlarında kullanım potansiyelini artırabileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Nanokristal selüloz (NKS), Biyobazlı kompozit film, Mekanik ve bariyer özellikler, Film stabilitesi

ABSTRACT

Effect of humidity and temperature conditions on the mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose-reinforced bio-based films

This study investigates the effects of nanocrystalline cellulose (NKS) incorporation on the mechanical and water vapor barrier properties of bio-based composite films under varying humidity and temperature conditions. Composite films based on whey protein concentrate (WPK) and chitosan (KS) were evaluated at different relative humidity levels (50%, 75%, 100%) and temperatures (-18°C, 4°C, 25°C), and the impact of NKS on film stability was analyzed in terms of both mechanical and barrier performance. NKS-reinforced WPK/KS/NKS films were compared with NKS-free films in terms of water vapor permeability ($1.04 \text{ mm m}^{-2} \text{ h}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$) and enhanced overall film stability. As temperature increased (from 4°C to 25°C), a reduction in elongation percentage was observed. While tensile strength decreased by up to 60% in other films under high humidity conditions (100% RH), this loss was prevented in NKS-reinforced films. NKS also contributed to limiting water vapor transmission by modifying the surface morphology of the films; however, it did not show a significant effect on antimicrobial activity. These findings indicate that NKS-reinforced biobased films can enhance water vapor barrier and mechanical properties, making them promising candidates for food packaging applications.

Keywords: Nanocrystalline cellulose (NKS), Biobased composite film, Mechanical and barrier properties, Film stability

Giriş

Petrol bazlı plastikler, dayanıklılık, hafiflik, kolay şekil verme ve kolay uygulama gibi avantajları nedeniyle farklı endüstriyel alanlarda yaygın olarak tercih edilmektedir (Becker vd., 2010). Gıdaların servis edilmesi, dağıtımı veya depolanması sırasında ambalaj olarak petrol bazlı plastiklerin kullanımı, gıda endüstrisinin her alanında oldukça yaygındır. Burada belirtmek gerekir ki petrolden üretilen plastik ürünlerin yaklaşık olarak % 45'ini tek kullanımlık gıda ambalajları oluşturmaktadır (Khosravi vd., 2020). Bununla birlikte, gıda endüstrisi kaynaklı tek kullanımlık plastik ambalajların veya filmlerin doğada birikmesi, dünya çapında büyüyen bir kirlilik kaynağıdır. Ayrıca, plastik ambalaj kullanımının sadece çevresel kirlilik açısından değil, insan sağlığı açısından riskler barındırmaktadır (Bauer vd., 2019, Wagner ve Oehlmann 2009). Örneğin, PET şişelerde saklanan maden sularının tüketiminin, endokrin bozuculara maruziyeti artırabileceği bir çalışmada rapor edilmiştir (Wagner ve Oehlmann 2009). Bauer vd., (2019) ise ticari olarak marketlerde satılan 10 farklı markaya ait 15 farklı üründe 42 adet migrant tespit etmiş ve bu belirlenen maddelerden ikisinin ise düzenlemelerde belirtilen maksimum kalıntı limitinin üstünde olduğunu belirtmişlerdir. Buna ek olarak plastik atıklar doğada bozunmadan uzun süreler kalmakta ve zamanla mikropplastiklere dönüşerek içme suyu ve doğal su kaynaklarına karışabilmektedir (Huang vd., 2021). Ayrıca, bir anket çalışması sonucunda, gıda pazarındaki tüketicinin % 27'sinin ambalajın yapıldığı malzemeye dikkat ettiği ve yaklaşık %31'inin ambalajın içeriğindeki zararlı maddelerin tercihlerinde önemli olduğu bildirilmiştir (Bartczyk vd., 2019). Bu durum, tüketicilerin, ambalaj malzemelerinin hem çevre hem de bireysel sağlık üzerindeki olumsuz etkileri konusunda artan bir bilinç ile hareket ettiklerini göstermektedir. Bu durumlar neticesinde, biyolojik olarak parçalanabilen ve toksik olmayan ambalaj filmleri geliştirilmiştir ve son yıllarda bu alandaki araştırmalara hızla devam edilmektedir (Wu vd., 2019).

Biyolojik olarak parçalanabilen filmler, düşük maliyet, çevreci ve biyolojik olarak parçalanabilirlik gibi birçok avantaja sahiptir (de Andrade vd., 2019). Biyobazlı kompozit filmler, eğer gıda ürünlerinden oluşuyorsa veya gıdalarda kullanılması güvenli olarak kabul edilen katkı maddesi içeriyorsa yenilebilir filmler olarak adlandırılmaktadır (Han 2005, Mohamed vd., 2020). "Yenilebilir" ifadesi, doğrudan insan tüketimine uygun, sağlığa zararlı olmayan ve sindirilebilen gıda veya gıda bileşenlerini ifade etmektedir. Kısaca, eğer film üretiminde toksik etkisi olmayan ve Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) gibi uluslararası otoriteler tarafından Genellikle Güvenli Olarak Tanınan (GRAS) bileşenler kullanılıyorsa ve aynı zamanda bu bileşenler gıda

ile güvenli şekilde tüketilebilir ve fonksiyonel olarak bir gıda bileşeni olarak değerlendirilebiliyorsa, film, yenilebilir film veya kaplama olarak kabul edilebilir. Ancak bu tür filmler tasarlanırken ve üretilirken karşılaşılan en büyük zorluk, istenen mühendislik özelliklerini ve stabilitesini sağlamaktır. Bu filmler, petrol bazlı plastikler kadar mekanik olarak dayanıklı ve sağlam olamamaktadır (Otoni vd., 2017). Nitekim, biyobazlı filmler gıda ürünlerinin ve ortamın bağül neminden doğrudan etkilenebilmektedir. Şimdiye kadar bu kapsamda yapılan çalışmalar büyük ölçüde film formülasyonlarını, mekanik ve bariyer özellikler optimize etmeye ve standart laboratuvar koşullarında (tipik olarak ~23°C ve %50 RH) özelliklerini karakterize etmeye odaklanmıştır (Chen vd., 2023, Zhang vd., 2021). Ancak, üretilen bu filmlerin, örneğin, farklı nem ve sıcaklık koşulları veya ürün nemi gibi çevresel faktörler altındaki değişimine odaklı çalışmalar sınırlıdır. Yüksek nem hidrofilik filmleri plastikleştirilebilirken, sıcaklık dalgalanmaları polimer etkileşimlerini değiştirebilmekte ve mekanik özellikleri olumsuz etkileyebilmektedir. Aguirre-Loredo vd., (2016) denge nem içeriğinin (nem alma izotermi) kitosan filmlerin bariyer, mekanik ve termal özellikleri üzerindeki etkisini incelemiş ve su moleküllerinin polimer matrisi plastikleştirdiğini ve filmler yüksek bağül nem ortamlarıyla temas ettiğinde özelliklerini değiştirdiğini bildirmişlerdir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, nanokristal selülozun (NKS) biyobozunur veya biyobazlı ambalaj filmlerine eklenmesinin, yukarıda detaylı anlatılan önemli eksikliklerden olan mekanik dayanımı ve su buharı bariyer performansını önemli ölçüde artırdığını göstermektedir. Nanokristal selüloz, yüksek kristallik derecesi ve uzunluk-çap oranı sayesinde rijit, güçlendirici bir nano dolgu görevi yapmakta ve polimer matrisleri içinde bağlanarak dayanıklılığı artırmaktadır. Farklı selüloz kaynaklarından elde edilebilen, nanokristal selülozların (NKS), iyi gaz bariyeri özelliklerine sahip yenilebilir filmlerin yetersiz su buharı bariyer ve mekanik özelliklerini iyileştirebileceği belirtilmektedir (Bernhardt vd., 2017, de Andrade vd., 2019, Fortunati vd., 2013, Khosravi vd., 2020). NKS üretimi için sürdürülebilir seçenek, tarımsal atıklardır ve bu atıkların polimer kompozitlerde dolgu maddesi olarak kullanımı hakkında yakın zamanda birçok makale yayınlanmıştır (Bernhardt vd., 2017, Fortunati vd., 2012, Fortunati vd., 2013, Trache vd., 2020). Bu dolgu maddeleri ayrıca, kaynağı bakımından maliyet etkinliği, geri dönüştürülebilirlik, biyolojik olarak parçalanabilirlik, düşük yoğunluk ve yenilenebilir olma gibi özellikleri bulunmaktadır. Dolayısıyla, çalışma kapsamında tarımsal bir atık olan mısır bitkisinden elde edilen NKS'nin kullanılmasıyla, tarımsal atıkların katma değerli

bir ürüne dönüştürülmesi mümkündür. Ayrıca NKS, geri dönüştürülebilir ve sürdürülebilir bir malzeme olması nedeniyle, biyobazlı film tasarımında çevre dostu bir dolgu maddesi olarak önemli bir potansiyel taşımaktadır.

Protein ve karbohidratlar, biyobazlı filmler için yaygın olarak tercih edilen materyallerdir. Kitosan, β -(1,4)-2-asetoamido-2-deoksi-D-glukoz ve β -(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glukoz ünitelerinden meydana gelmiş bir kopolimeridir. Beyaz renkte, kokusuz ve tatsız, yarı şeffaf partikül veya toz halinde bir madde olup, çevreye uyumlu olması, ticari olarak kolaylıkla elde edilebilmesi ve birçok formda kullanılabilmesi nedeniyle, gıda endüstrisinde çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Koç ve Özkan 2011). Ayrıca (Food ve Administration kitosanının belirli kullanım koşulları altında güvenli olduğunu belirtmektedir (FDA, 2021). Kitosan, çeşitli ambalaj uygulamalarında şeffaf filmler oluşturabilir ancak olumsuz gerilme özelliklerine sahiptir (Aider 2010). Bunun yanında yetersiz su buharı bariyer özellik gösterdiği bildirilmiştir (Wang vd., 2022). Peynir altı suyu proteini (WPK) ile oluşturulan biyobazlı kompozit filmler şeffaf, esnek ve kokusuz film oluşturma kabiliyetine sahiptir. Bir süt proteini olan WPK GRAS olarak kabul edilmektedir (FDA, 2016, Liu vd., 2024). Bununla birlikte, içerdiği protein yapılarının yüksek hidrofilik karakteri nedeniyle bu filmler yüksek nem emilimi özelliği göstermektedir (Gökkaya Erdem vd., 2019, Wang vd., 2022). Bu tür filmlerdeki olumsuz özellikleri iyileştirmek amacıyla, farklı biyokompozit malzemelerin bir arada kullanılması ile sinerjik bir etki yaratılmaktadır. Tavares vd., (2021), kitosan ve peynir altı suyu protein izolatu filminin çekme mukavemetinin kitosan filme kıyasla yaklaşık iki kat arttığını ve su buharı geçirgenliğinin %15,9 oranında azaldığını göstermiştir.

Bu çalışma, daha önce kapsamlı bir şekilde araştırılmamış olan, değişen çevre koşulları altında çok bileşenli biyobazlı filmlerin dayanıklılığına odaklanmaktadır. Daha önceki çalışmalar, kitosanın WPK ve NKS ile birleştirilmesinin yüksek çekme mukavemeti ve iyi bariyer özellikleri sağlayabileceğini göstermiş olsa da (Wang vd., 2022) filmin nemli bir ortama veya soğutulmuş depolamaya maruz kaldığında bu özelliklerin nasıl dayandığı belirsizliğini korumaktadır. Farklı sıcaklık ve nem seviyelerinde mekanik özelliklerindeki değişiklikleri izleyerek, bu araştırma NKS takviyeli WPK/KS filminin sağlamlığı ve pratik performansı hakkında fikir verecektir. Bu tür veriler, herhangi bir zayıflığı (örneğin, yüksek RH'de mukavemette keskin bir düşüş) belirlemeye ve böylece bu filmin gerçek dünyadaki uygulanabilirliğini daha önce bildirilen filmlerden ayırt etmeye yardımcı olacaktır. Bu yaklaşım ile nanoselülozun ve ikili polimer ağının (kitosan-peynir altı suyu protein konsantresi) varlığının stres koşulları altında mekanik bütünlüğün korunmasına nasıl katkıda bulunduğunu

veya ek iyileştirmelerin gerekli olan durumları açıklaması amaçlanmaktadır. Sonuç olarak, bulgular bu çalışmayı önceki literatürden ayıracak ve yalnızca laboratuvarında yüksek performans göstermekle kalmayıp aynı zamanda çeşitli depolama ve kullanım koşullarında güvenilir olan biyobazlı ambalaj filmlerinin geliştirilmesini ilerletecektir.

Çalışmada test edilen farklı bağıl nem (%50, %75 ve %100) ve sıcaklık (-18°C, 4°C ve 25°C) koşulları, gıda ürünlerinin depolama ve dağıtım süreçlerinde karşılaşılabileceği tipik koşulları temsil etmektedir. Örneğin, %50 bağıl nem ve 25°C sıcaklık, kuru gıdaların raf koşullarında saklanması temsil ederken; %75 bağıl nem, orta derecede nemli ortamlarda saklanan gıdaların depolama koşullarını; %100 bağıl nem ise çok yüksek nemli ortamları, yoğunlaşmanın sıkça görüldüğü soğuk koşulları veya filmin doğrudan gıda ile temas ettiği durumları simüle etmektedir. Sıcaklık açısından ise -18°C dondurulmuş gıda ürünlerinin tipik saklama sıcaklığını; 4°C ise soğuk zincirde saklanan (örneğin süt ve süt ürünleri gibi) ürünlerin depolama koşulunu temsil etmektedir (Robertson 2005). Bu koşulların seçilmesiyle elde edilen sonuçların pratik uygulamalarda geçerliliğinin artırılması amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot

Materyal

Karides kabuklarından elde edilen, $\geq$ %75 deasetilasyon derecesine sahip kitosan Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD) firmasında tedarik edilmiştir. Peynir altı suyu protein konsantresi (protein oranı $>$ %85- WPK) lokal bir süt işletmesinden ücretsiz olarak sağlanmıştır. Çapraz bağlayıcı ajan (CLA) olarak kullanılacak fenolikçe zengin ekstrakt için üzüm çekirdeği, şarap üretim tesisi atığı olarak temin edilmiş, kurutulmuş, öğütülmüş ve -18°C'de depolanmıştır. Bir tarım atığı olarak temin edilen koçanları ayrılmış ve hayvan yemi oluşturmak üzere depolanan mısır kabuğu lokal bir çiftçiden temin edilmiştir. Bu tarım atığı nanokristal selüloz (NKS) ekstraksiyonundan önce alınan örneklerden homojen bir paçal oluşturulmuş ve de bu paçaldan 80°C'de 24 saat süresince kurutulmuştur. Daha sonra öğütülerek bir mısır kabuğu tozu üretilmiştir. Film üretiminde kullanılan gliserol Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Nanokristal Selüloz Eldesi

NKS eldesi için öncelikle mısır kabukları birkaç kez damıtılmış suyla yıkanmış ve 24 saat 80°C'de bir fırında kurutulmuştur. Daha sonra yaklaşık 5–10 mm uzunluğunda parçalara kadar küçültülmüştür. Bu işlemde sonra selüloz ekstraksiyonuna geçilmiştir. Bu amaçla Guo vd., (2020) yöntemi kullanılmıştır. Öğütülmüş mısır kabuğundan 30 g, hacimce 1:1

(v/v) oranında hazırlanmış hidrojen peroksit ve asetik asit çözeltilerinden oluşan 300 mL'lik karışıma eklenmiş ve bu karışım 60°C sıcaklıkta 24 saat muameleye tabi tutulmuştur. Elde edilen selülozun tamamı süzölmüş ve distile su ile yıkanmıştır. Elde edilen selüloz, ortam koşulları altında denge nem içeriğine kadar ortam koşulları altında kurutulmuştur.

Nanokristal Selüloz (NKS) çözeltisi sülfürik asit ile ön işlem görmüş liflerin hidrolizi ile elde edilmiştir. Bunun için Fortunati vd., (2012) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Hidroliz, 45°C'de %30 w/w sülfürik asit ile kuvvetli bir şekilde karıştırılarak 30 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. Asit hidrolizinin hemen ardından, süspansiyon, reaksiyonu durdurmak için su ile 20 kat seyreltilmiştir. Süspansiyon, selüloz kristallerini konsantre etmek ve fazla sulu asidi çıkarmak için 20 dakika boyunca 4500 rpm 'de santrifüjlenmiş ve elde edilen çökelti yıkanmış ve yeniden santrifüj edilmiştir. Birkaç santrifüj ve yıkama döngüsünden sonra NaOH ile pH 7'ye ayarlanmıştır.

Fizikokimyasal Analizler

Bu çalışmada, mısır kabuğu örneklerinin nem, kül ve yağ içerikleri % olarak AOAC (1995) yöntemine göre belirlenmiştir. Toplam selüloz içeriği için, 3 g mısır kabuğuna %5 (v/v) sülfürik asit eklenmiş ve 30 dakika süreyle kaynatılmıştır. Ardından numune Macherey und Nagel No: 840W filtre kağıdı kullanılarak süzölmüştür. Numuneden asit tamamen uzaklaştırıldıktan sonra, %5 (w/v) sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ile 30 dakika kaynatılmıştır. Numune, önceden tartılmış filtre kağıdına süzölerek sırasıyla damıtılmış su, %95 etil alkol ve eter ile birkaç defa yıkanmıştır. Ham selülozun miktarı, filtre kağıdı üzerinde kurutularak belirlenmiştir (Özkaya 1998). Kül içermeyen ham selüloz miktarının tayini için, kurutulmuş numuneler krozelere alınarak kül fırınında 600°C'de yakılmış ve elde edilen artık miktarı tartılarak belirlenmiştir.

Kompozit Film Üretimi

Peynir altı suyu protein filmlerinin üretimi (WPK-film): %10 (w/v) oranında peynir altı suyu proteini (WPK) çözeltisi hazırlanarak 1.5 saat boyunca çözünürlüğü arttırmak amacıyla manyetik karıştırıcı ile oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Ardından proteinlerin kısmi denatürasyonunu sağlamak amacıyla, çözelti 90°C'de 30 dakika boyunca karıştırılarak ısıtılma tabi tutulmuştur (Fitriani vd., 2022). Daha sonra çözeltiye WPK miktarının ağırlıkça %45'i oranında plastikleştirici olarak gliserol eklenmiş ve ilave 30 dakika karıştırılmıştır. Çözelti, ultrason prob cihazı (Vibracell VCX 750, Sonics, Oklahoma, OK, ABD) kullanılarak 700 W güç ve %80 genlikte, 5 dakika süreyle ultrasonik homojenizasyona tabi tutulmuştur.

Uygulama sonrası 15 mL film çözeltisi 90 mm çapında petri kabına dökülmüş ve 25°C'de 3 gün boyunca kurumaya bırakılmıştır.

Kitosan filmlerinin üretimi (KS-film): Saf su, %0.5 (v/v) asetik asit ile asitlendikten sonra, bu ortamda %1 (w/v) oranında kitosan çözeltisi hazırlanmış ve 60°C'de 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra çözeltiye kitosan miktarının ağırlıkça %30'u oranında plastikleştirici olarak gliserol eklenmiş ve karıştırılmaya ilave 30 dakika boyunca devam edilmiştir (Khezerlou vd., 2023, Wang vd., 2013). Uygulama sonrası 15 mL film çözeltisi 90 mm çapında petri kabına dökülmüş ve 25°C'de 3 gün boyunca kurumaya bırakılmıştır.

Kompozit film üretimi: Film üretim ön denemeleri sonucunda, WPK/KS bazlı kompozit filmlerinin üretimi için bir yöntem geliştirilmiştir. Kompozit filmler için her iki film ana maddesinin (WPK ve KS) çözeltileri hazırlanmıştır ve çözelti üretim süreçleri yukarıda bahsedilen yöntemle yapılmıştır. Çözeltiler bu aşamaya kadar hazırlandıktan sonra, WPK, KS, CLA ve NKS miktarları sırasıyla 2 mL (%10 w/v) WPK çözeltisi, 5 mL (%1 w/v) KS çözeltisi, %0,24 CLA ve %0,50 NKS (her ikisi WPK ve KS'nin toplam kuru madde ağırlığına göre) oranında kullanılmıştır. Öncelikle WPK ve KS çözeltileri birleştirilmiş ve Ultrason prob (Vibracell VCX 750, Sonics, Oklahoma, OK, ABD) kullanılarak, 700 W güçte %80 genlikte 5 dakika süreyle ultrasonik homojenizasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra belirtilen miktarlardaki CLA ve NKS eklenmiş solüsyonlar 30 dakika karıştırılmıştır. Çözeltide bulunan çözünmüş gazların uzaklaştırması amacıyla karışım 30 dakika boyunca ultrasonik su banyosunda bekletilmiş, ardından 90 mm çapında plastik petri kutularına, 15 mL olacak şekilde dökülmüştür. Filmler oda koşullarında kurutulmuştur. Yapılan analizlerin öncesinde filmler oda sıcaklığında ve %50 bağıl nemde 10 gün boyunca koşullandırılmıştır.

Çalışmada NKS ilaveli WPK/KS/NKS filminin kontrolleri olarak WPK, KS ve NKS eklenmemiş WPK/KS filmi kullanılmıştır.

Yöntem

Film Kalınlığı

Film örneklerinin kalınlık ölçümleri, 1 µm hassasiyete sahip dijital bir mikrometre (Mahr GmbH., Göttingen, Polonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her film grubuna ait ortalama kalınlık değerleri, beş rastgele noktada yapılan ölçümlerin ortalaması olarak verilmiştir.

Su Buhar Geçirgenliği (WVP)

Filmlerin su buharı geçirgenliği gravimetrik olarak belirlenmiştir (Gökkaya Erdem vd., 2019). Analiz öncesi numuneler

oda koşullarında ($24 \pm 2^\circ\text{C}$ ve $50 \pm 2\%$ RH) on gün boyunca koşullandırılmıştır. 4.7 cm iç çapa ve 2 cm derinliğe sahip vezin kapları üzerine filmler yerleştirilmiştir. Ölçüm için iç ortamın bağıl nemi %100 dış ortamın ise silikajel kullanılarak %0'a ayarlanmıştır. Her film için 3 ölçüm alınmıştır. Hesaplama için aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

$$WVP = \frac{\Delta m \times d}{A \times \Delta t \times \Delta p}$$

WVP: Su buharı geçirgenliği (g mm/m² h kPa)

Δm : Ağırlık farkı (g)

Δt : Zaman (saat)

A: Alan (m²)

d: Film kalınlığı (mm)

ΔP : su buharı basınç farkı (kPa)

Nem Tayini

Her bir film örneğinden rastgele seçilen en az üç farklı noktadan, 2 cm × 2 cm boyutlarında kesilmiş parçalar hazırlanmıştır. Bu parçalar cam petri kaplarına yerleştirilmiş ve sabit kuru ağırlığa ulaşana kadar $105 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de etüvde kurutulmuştur. (Bhatia vd., 2025, Gökçaya Erdem vd., 2019).

Filmlerin Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi

Mekanik özellik ölçümü, American Society for Testing and Materials (ASTM) D882-91 test yöntemi ile yapılmıştır. Kopma anındaki çekme dayanımı, kopma anındaki uzama ASTM Standart Yöntemi D 882-02.21'e göre bir Texture Analyzer TA-XT2 (Stable Microsystems, Godalming, Birleşik Krallık) kullanılarak belirlenmiştir. Filmler 1 cm genişliğinde ve 6 cm uzunluğunda şeritler halinde kesilmiştir. Her film için 3 ölçüm alınmıştır.

X Işını Kırınımı (XRD)

XRD (40 kV ve 30 mA) kullanılarak, film ana maddelerinin (KS, WPK, CLA ve NKS) ve filmlerin XRD modelleri incelenmiştir. Analiz 10° ile 60° arasındaki 2θ aralığında yapılmıştır.

Farklı Sıcaklıklarda ve Bağıl Nemlerde Film Stabilitesi

Filmlerin mekanik özellikleri, -18°C , 5°C ve 25°C 'de takip edilmiştir. Yapılan çalışmada filmler üretilmiş, öncelikle 25°C 'de 10 gün şartlandırılmıştır. Daha sonra filmlerin bir kısmı 4°C ve 25°C 'de 1 ay bekletilmiştir ve bekletilmemiş ancak şartlandırılmış kontrol filmlere karşı mekanik ve bariyer özelliklerindeki değişim için analizler gerçekleştirilmiştir. Farklı bağıl nem (%50, %75 ve %100) değerlerinde mekanik

özelliklerindeki değişimin incelenmesi için ise, filmler doygun tuz çözeltisi ile dengelenmiş desikatör ortamında, 25°C sıcaklıkta dengeye gelinceye kadar bekletilmiştir. Bu süre her bağıl nem için 24 saat olarak ön denemeler ile belirlenmiştir (örneklerin ağırlık değişimleri takip edilerek) ve buradan sonra mekanik analiz testlerine tabi tutulmuştur.

Su buhar geçirgenliği ölçümü için bölüm 2.4.2'de verilen yöntem uygulanırken, mekanik dayanım testleri için 2.4.4'te verilen yöntem kullanılmıştır.

Filmlerin Optik Özellikleri

CIELAB renk parametreleri (L^* , a^* ve b^*) ölçümü yapan renk ölçer (Konica Minolta CM-5, Tokyo, Japan) ile film örneklerinin optik özellikleri belirlenmiştir. CIE Lab renk sisteminde L değeri, aydınlık derecesini (lightness) ifade etmekte ve 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişmektedir. a^* değeri, yeşil-kırmızı eksenini temsil etmektedir; negatif a^* değerleri yeşil, pozitif a^* değerleri kırmızı yönünü göstermektedir. b^* değeri ise mavi-sarı eksenini belirtir; negatif b^* değerleri mavi, pozitif b^* değerleri sarı renk tonunu ifade etmektedir. a^* ve b^* değerlerinin 0'a yakın olması, cismin nötr (renksiz, akromatik) olduğunu göstermektedir (Dıblan 2013). Her numune için üç ölçüm yapılmıştır. Toplam renk farkı (AE) aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\Delta E = \sqrt{(L_{Ref} - L_{*film})^2 + (a_{Ref} - a_{*film})^2 + (b_{Ref} - b_{*film})^2}$$

Beyazlık indeksi (WI) hesabı içinse aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L_{*film})^2 + (a_{*film})^2 + (b_{*film})^2}$$

Örneklerin opaklığı ise Gökçaya Erdem vd., (2019) tarafından verilen yöntemle göre yapılmıştır. Bu amaçla filmlerin 550 nm'deki absorpsanları ölçülmüş (Genesys 180 UV-Vis Spectrophotometer, Thermo Scientific) ve opaklık bu absorpsanın kalınlığa bölünmesi ile hesaplanmıştır. Ayrıca 200-800 nm arasında ışık bariyer özellikleri de ortaya koymuştur (Yang vd., 2025).

Filmlerin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Filmlerin antimikrobiyal aktivitesi agar difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Bu amaçla, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922) kültürleri kullanılmıştır. Kültürler aktifleştirildikten sonra peptonlu su içerisinde 10^8 CFU/mL şekilde hazırlanmış ve bu solüsyondan Muller Hinton Agar'a ekimleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra yaklaşık 10 mm çapında kesilmiş filmler, kültürleri içe-

ren agar yüzeyine koyulmuş ve 24-48 saat 37°C'de inkübasyonu tabi tutulmuştur. Süre sonunda filmlerin oluşturdıkları zonlar incelenerek antimikrobiyal etki belirlenmiştir.

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

Diamond ATR (Azaltılmış Toplam Yansıma) ile FT-IR spektroskopisi, numunelerin spektrumlarını toplamak için kullanılmıştır. Filmlerin IR spektrumları, Perkin Elmer Spectrum Two (Perkin Elmer Inc., ABD) cihazı kullanılarak elde edilmiştir. Numune, absorpsiyon odasına yerleştirilmiş ve numuneler 4000/cm ile 450/cm arasındaki orta-infrared (mid-infrared) aralığında üç kez taranmıştır.

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmanın çeşitli aşamalarında örneklemeler arasındaki anlamlı farklılıklar olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiş, farklılık görülen durumlarda örnekler, anlamlılık düzeyine göre Duncan çoklu karşılaştırma testi ile gruplandırılmıştır ($p < 0.05$).

Bulgular ve Tartışma

Ham madde Analizleri

Yapılan analizlere göre mısır kabuğu tozunun ve üzüm çekirdeklerinin nem miktarı sırasıyla 0.02 ± 0.003 ve 0.16 ± 0.01 (w/w) olarak bulunmuştur. Ayrıca örneklerin yağ içeriği aynı sıra ile 0.46 ± 0.07 ; 0.99 ± 0.06 (w/w) olarak belirlenmiştir. Nanokristal selüloz ekstraksiyonu için önemli bir kriter olduğu için mısır kabuğundaki ham selüloz tayini de yapılmıştır. Buna göre çalışma kapsamında temin edilen mısır bitkisindeki ham selüloz miktarı 66.17 ± 0.2 (külsüz 65.20 ± 0.3) olduğu görülmüştür. Örneklerin kül miktarları ise mısır kabuğu tozu için 3.12 ± 0.5 ve üzüm çekirdeği için 5.49 ± 0.5 olarak hesaplanmıştır.

Film Ön Denemeleri

Film üretim metodu geliştirmek amacıyla metot denemeleri yapılmıştır. Bu amaçla, sadece kitosan içeren KS film, sadece peyniraltı suyu protein konsantresi bazlı WPK film ve bu iki film materyallerinin karışımını içeren film üretim denemeleri yapılmıştır.

Şekil 1' de KS, WPK ve WPK/KS filmlerinin görüntüleri bulunmaktadır. Bu ön denemeler çapraz bağlayıcı ajan yani CLA eklenmesine gerek olup olmadığının tespiti ve film formülasyonunun belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Şekil 1' de iki kompoziti içeren ancak CLA içermeyen film görülmektedir. Çapraz bağlayıcı ajan eklenmeden üretilen bu WPK/KS filmlerinde birçok noktada çatlaklar gözlemlenmiştir. Bu çatlakların film kuruması esnasında gerçekleştiği ve protein ile

polisakkarit yapıları arasında güçlü bağların meydana gelmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ancak film karışımına çapraz bağlayıcı ilave edildiğinde (CLA) elde edilen filmlerde yapısal deformasyonların oluşmadığı gözlenmiştir (Şekil 2). Çapraz bağlayıcı ajan eklenmeden üretilen WPK/KS filmlerin üzerinde oluşan çatlaklar sebebiyle sonraki çalışmalarda bu film bileşimi kontrol filmi olarak kullanılmamıştır. Çünkü film üzerinde oluşan çatlaklar yenilebilir olsun ya da olmasın içerisinde yer alan gıda materyaline yeterli korumayı sağlayamayacaktır. Bu sebeple WPK, KS, NKS ve CLA içeren optimum filmin (WPK/KS/NKS film olarak adlandırılmıştır) kontrolleri olarak sadece WPK içeren WPK film, sadece KS içeren KS film, ve CLA içeren ancak NKS içermeyen kompozit (WPK ve KS karışımı) WPK/KS film örnekleri üretilmiştir.

Ön denemeler sonucu, WPK, KS, CLA ve NKS miktarları sırasıyla 2 mL (%10 w/v) WPK çözeltisi, 5 mL (%1 w/v) KS çözeltisi, %0.24 CLA ve %0.50 NKS (her ikisi WPK ve KS'nin toplam kuru madde ağırlığına göre) oranında kullanılmıştır. Bu formülasyonu kullanarak üretilmiş filmlerin görüntüleri Şekil 2'de sunulmaktadır.

Şekil 2'de, NKS içeren WPK/KS/NKS filmine ait görüntünün yanı sıra, bu filmin kontrolleri olarak kullanılan WPK, KS ve NKS içermeyen WPK/KS filmleri de sunulmuştur. Film görüntülerine ilişkin yapılan ilk değerlendirme yalnızca nitel bir ön gözlem niteliğindedir ve herhangi bir kantitatif yöntemle analiz edilmemiştir. Bu değerlendirme, yalnızca analizlerden önce filmlerin görsel özelliklerine dair genel bir fikir edinmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. İlgili nicel analizler çalışmanın devamında, Optik özellikler bölümünde detaylandırılmıştır. Görsel değerlendirilmesine göre, WPK filminin diğer filmlere kıyasla daha kalın, kırılkan, bulanık sarı renkli ve opak yapıda olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşılık, KS filmi daha esnek, sağlam, saydam ve pürüzsüz yüzeyli bir yapı sergilemiştir. WPK/KS filmlerinin, WPK filmine göre daha saydam olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, NKS ilavesiyle birlikte filmlerde opaklıkta gözle görülür bir artış meydana gelmiştir (Şekil 2).

Film Özellikleri

Film Kalınlığı

Film kalınlıkları Tablo 1'de verilmiştir. Kalınlık film içeriğine göre önemli derecede değişiklik göstermiştir ($p < 0.05$). En kalın film WPK film iken en ince film KS filmidir. Kompozit filmlerden NKS içermeyen WPK/KS film bu iki film arasında bir kalınlığa sahipken, film bileşenine NKS eklendiğinde kalınlıkta görülen değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$).

WPK filminin %10 (w/v) oranındaki yüksek konsantrasyonlu çözelti kullanılarak hazırlanmıştır, dolayısıyla en yüksek kalınlığa sahip olmuştur. Buna karşılık, KS filmi %1'lik çok daha seyreltilmiş bir çözeltiden üretildiği için en ince kalınlıktadır (0.08 ± 0.02 mm). WPK/KS ve WPK/KS/NKS filmleri ise arada değerlere sahip olup, iki çözelti karıştırıldığında orta kalınlıkta filmler oluşmuştur. Al-Hilifi vd., (2023) yaptıkları araştırmada benzer olarak, film çözeltisindeki artan peynir altı suyu protein hidrolizatı konsantrasyonunun ile doğru orantılı değişen film kalınlıkları olduğunu bildirmişlerdir.

Su Buhar Bariyeri

WPK, KS, WPK/KS ve WPK/KS/NKS filmlerinin WVP değerleri ölçülmüştür. Filmlerin WVP değerleri sırasıyla 1.56 ± 0.08 ; 0.99 ± 0.00 ; 1.17 ± 0.04 ve 1.04 ± 0.04 mm m⁻² h⁻¹ kPa⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Tablo 1). WVP değerleri arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). İstatistiki değerlendirmeye göre sadece WPK film diğer filmlerden önemli derecede farklıdır. En düşük değere KS sahip iken en yüksek WVP değerine WPK filmi sahip olmuştur. Bu sonuçlardan kitosan ilavesinin WPK filminin su buharı geçirgenliği özelliğini iyileştirdiği görülmektedir. Ayrıca fark anlamlı olmasa da NKS filminin WVP değerinin hem NNKS filminin WVP değerlerinden daha düşük olduğu göze çarpmaktadır.

Bilbao-Sáinz vd., (2010) hidroksipropil metilselüloz (HPMC) filmlerine mikrokristalin selüloz eklemiş ve filmlerin WVP değerlerinin artan selüloz konsantrasyonuyla azalma eğiliminde olduğunu bildirmiştir. Bunun sebebi olarak hidrofilik olmasına rağmen, selüloz, tek tek zincirler arasında bulunan çok sayıda güçlü molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağı içermesi neticesinde suda veya tipik organik çözücülerde iyi çözünmemesi olabileceği düşünülmüştür.

Nem buharı, filmlerden çok sayıda transfer ile geçer: adsorpsiyon, difüzyon ve desorpsiyon, bunlar aynı çizgide meydana gelebilir veya film bileşenlerine göre farklılık gösterebilir (Diblan vd., 2020). Yüksek su buharı basıncında, hidrofilik bileşenler daha yüksek oranda su buharını adsorplama eğilimindedir ve bu, malzeme içindeki serbest hacimde artışa ve daha fazla su girişinin artmasına yol açmaktadır. Suyun plastikleştirici etkileri bu olaya katkıda bulunmakta ve muhtemelen WVP'nin yükselmesine neden olmaktadır. Bunlar göz önünde bulundurularak, NKS'nin dolgu maddesi gibi davranabileceği ve su buharı dahil olmak üzere çeşitli gazlara engel olabileceği sonucuna varılabilir (Khosravi vd., 2020).

Optik Özellikler

Filmlerin optik özellikleri Tablo 2'de verilmiştir. Aydınlık derecesi olarak ifade edilebilen L* değeri en yüksek KS filmde iken en düşük değer WPK/KS/NKS filmde ölçülmüştür. Filmler arasında saydamlığı en düşük filmin de yine WPK olduğu görülmektedir. WPK filminin a* değeri yeşil ekseninde renk verirken diğer filmlerin renkleri nötre yakındır. Benzer olarak WPK film, oldukça sarı skalada ölçüm vermiş ancak diğer filmler daha düşük b* skala özellikleri göstermiştir. WPK ve KS'nin kompozit film oluşturduktan sonra daha nötr bir renk skalasına yerleştiği yorumu Tablo 2'ye göre yapılabilmektedir (Li vd., 2023).

KS film en yüksek beyazlık indeksine (WI) sahipken bunu WPK film takip etmektedir. Ancak kompozit WPK/KS film ve WPK/KS/NKS filmler en düşük WI değerlerine sahiptir. Bununla birlikte, filmler arasında en düşük opaklık değerini KS, en yüksek opaklık değerini de WPK/KS/NKS filmi göstermiştir. Tüm filmlerin opaklık değerleri arasındaki farklar ise önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Filmlerin opaklık değerinin polimer zincirleri arasındaki moleküler boşlukların azalması ile artabileceği düşünülmektedir. WPK/KS/NKS filminin yüksek opaklık değeri de WPK/KS filmine kıyasla NKS eklenmesi ile aradaki boşlukların kapanması ile ilişkilendirilebilir. Bu değer ile birlikte, filmlerin ışık (UV+ görünür bölge) bariyer yeteneklerini değerlendirmek, filmlerin ışık ile birlikte katalize olabilen reaksiyonları engellemesi açısından önem taşımaktadır.

Filmlerin farklı dalga boylarındaki ışık geçirgenlik ölçümleri Şekil 3'de görülmektedir. En yüksek geçirgenlik değerine KS film sahipken en düşük değere WPK film sahiptir. Kompozit filmler incelendiğinde ise, NKS ilavesinden sonra filmlerin UV bölgede (200-400 nm) geçirgenlik özelliklerinin geliştiği görülmektedir. Bu sonuç Li vd., (2023) ile uyumludur. Burada belirtmek gerekir ki KS filmin yüksek ışık geçirgenliği, WPK ile kompozitlenmesi sonrası oldukça iyileşmiştir. WPK filmin kolorimetrik özellikleri ile uyumlu olarak, özellikle görünür bölge olan yaklaşık 380 ila 750 nm arasında geçirgenlik değerinin hızla düştüğü görülmektedir. Daha kısa UV bölge dalga boylarında ise WPK filmine benzer olarak WPK/KS/NKS filmi yüksek bloklama yeteneği göstermiştir. Bu sonuçlar filmlerin opaklık değerleri (Tablo 2) ile örtüşmektedir.

Tablo 1. Film özellikleri*

	Kalınlık (mm)	Nem (%)	WVP (g mm m ⁻² h ⁻¹ kPa ⁻¹)	Çekme Dayanımı (MPa)	Çekme Uzunluğu (%)
WPK film	0.24±0.02 ^a	14.2±0.3 ^d	1.56±0.08 ^a	0.2±0.0 ^c	12.5±0.8 ^b
KS film	0.08±0.02 ^c	36.0±0.7 ^a	0.99±0.00 ^b	8.2±1.2 ^a	71.1±10.9 ^a
WPK/KS film	0.15±0.01 ^b	22.1±0.2 ^c	1.17±0.04 ^b	1.7±0.1 ^{bc}	76.2±8.4 ^a
WPK/KS/NKS film	0.17±0.01 ^b	23.6±0.6 ^b	1.04±0.04 ^{ab}	2.1±0.2 ^b	92.7±14.3 ^a

*Aynı kolonda farklı harflere sahip örnekler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p<0.05$). WVP, su buhar geçirgenliği; WPK film, peynir altı suyu protein konsantrinden üretilmiş film; KS film, kitosandan üretilmiş film; WPK/KS film, peynir altı suyu protein konsantrisi ve kitosan kompozit filmi, WPK/KS filmine nanokristal selüloz eklenmiş film.

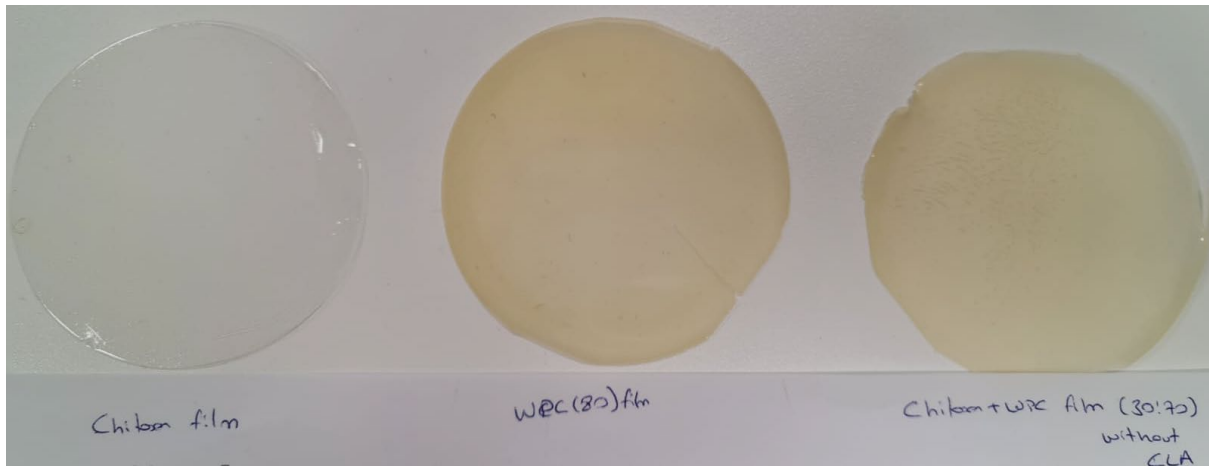
Tablo 2. Filmlerin L^* , a^* , b^* değerleri, beyazlık indeksi (WI) ve opaklığı

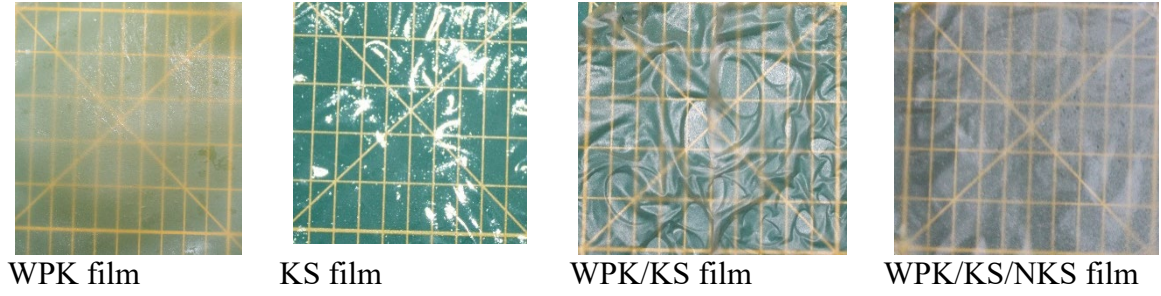
	L^*	a^*	b^*	C^*	ΔE	WI	Opaklık
WPK film	54.8±0.3 ^b	-2.2±0.1 ^d	5.2±0.0 ^a	5.2±0.0 ^a	55.0±0.2 ^b	54.5±0.2 ^b	2.3±0.0 ^c
KS film	87.9±0.0 ^a	-0.4±0.0 ^c	0.4±0.0 ^d	0.4±0.0 ^d	87.9±0.0 ^a	87.6±0.4 ^a	0.5±0.0 ^d
WPK/KS film	41.9±0.2 ^c	-0.03±0.0 ^a	2.3±0.0 ^c	2.3±0.0 ^c	41.9±0.2 ^c	41.8±0.2 ^c	3.5±0.0 ^b
WPK/KS/NKS film	40.2±0.3 ^d	-0.1±0.0 ^b	2.8±0.1 ^b	3.1±0.1 ^b	40.2±0.3 ^d	40.2±0.3 ^d	3.7±0.3 ^a

*Farklı harflere ait olan değerler istatistiksel olarak anlamlı şekilde birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

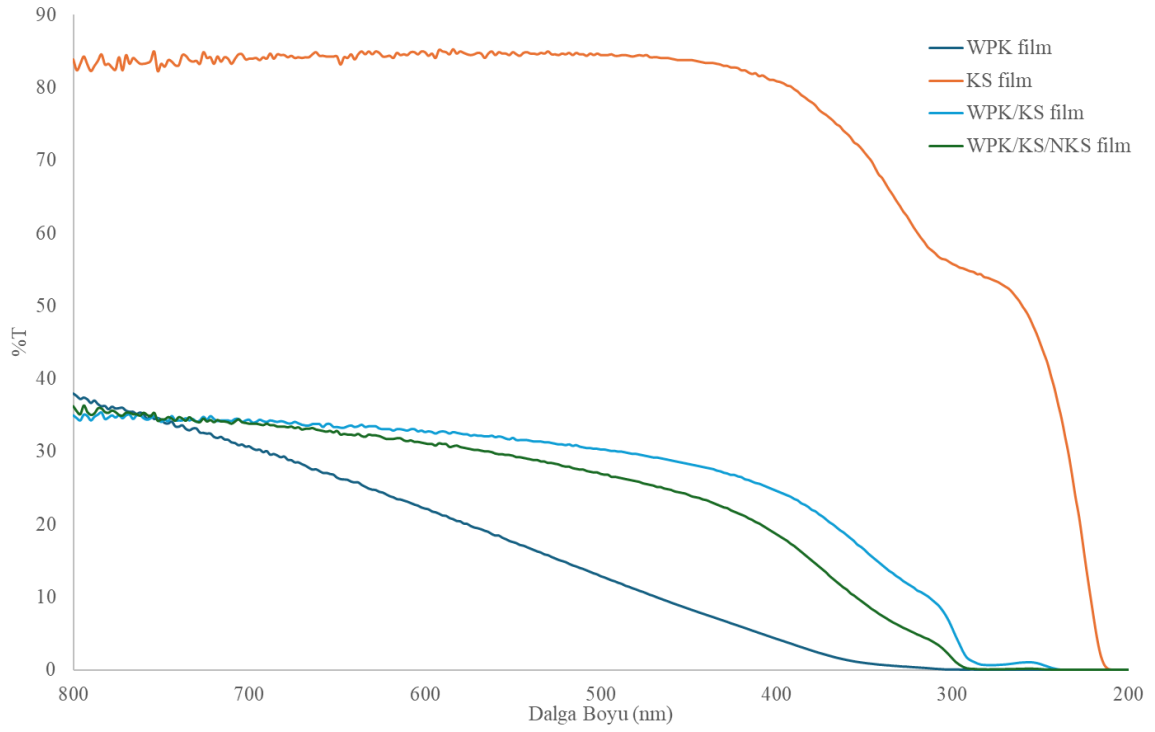
Tablo 3. Farklı bağıl nemlerde filmlerin çekme dayanımı (MPa) ve çekme uzunluğu (%) özelliklerinde görülen değişim

Bağıl Nem	50%		75%		100%	
	Çekme Dayanımı (MPa)	Çekme Uzunluğu (%)	Çekme Dayanımı (MPa)	Çekme Uzunluğu (%)	Çekme Dayanımı (MPa)	Çekme Uzunluğu (%)
WPK film	0.3	10.2	0.1	3.4	-	-
KS film	8.5	64.7	7.4	74.2	3.4	100
WPK/KS film	1.6	77.3	2.1	80.9	1.0	84.7
WPK/KS/NKS film	2.5	91.0	3.0	95.6	2.5	99.5

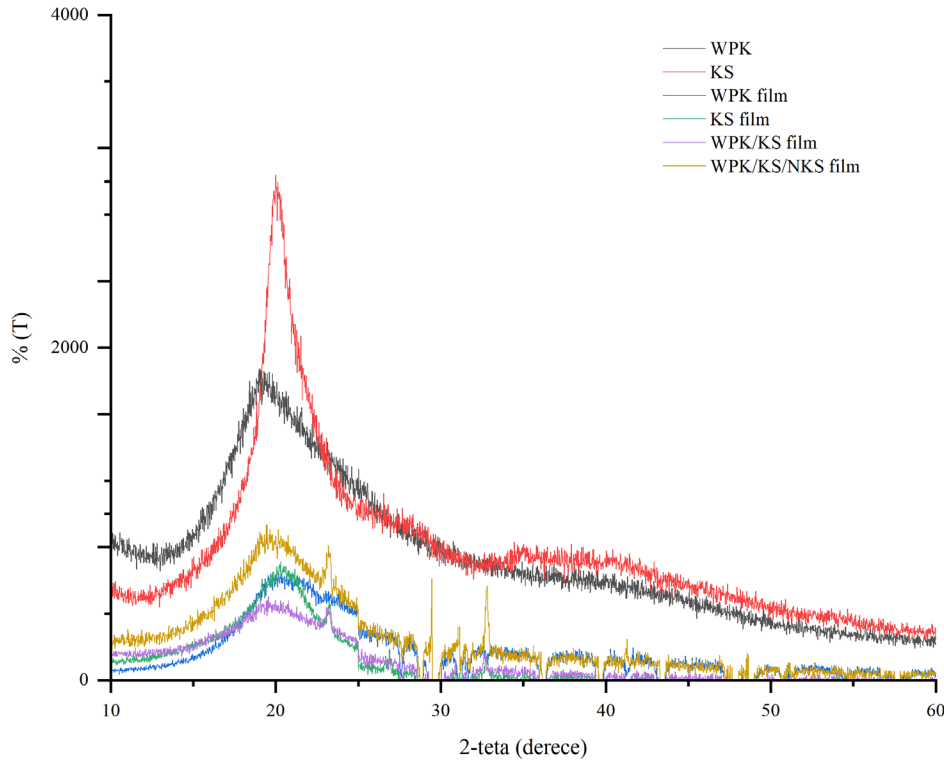
**Şekil 1.** Ön deneme sırasında üretilen KS-film, WPK-film, WPK/KS film (CLA eklenmemiştir)



Şekil 2. Film görüntüleri



Şekil 3. Filmlerin farklı dalga boylarındaki ışıık geçirgenliğı (%T) değeri



Şekil 4. Film bileşenleri ve filmlerin X-ışını ölçümleri

Antimikrobiyal Aktivite

Her ne kadar filmler kompozisyonunda bulunan KS, CLA ve NKS bileşenlerinin bireysel antimikrobiyal etkileri olabileceğine dair çalışmalar rapor edilse de çalışmamızda bu etki tespit edilememiştir. Bunun nedenleri arasında NKS ve CLA'nın film içerisindeki konsantrasyonunun düşük olması olabileceği düşünülebilir. KS'nin antimikrobiyal etkisi katyonik yapısından ileri gelmektedir. Film üretimi esnasında KS'nin negatif yüklü CLA ile elektrostatik bağlanması muhtemeldir ve bunun sonucunda da KS katyonik yapısını, dolayısıyla antimikrobiyal etkisi yitirmiş olabileceği düşünülmektedir.

XRD

Film üretiminde kullanılan bileşenlerin film içerisindeki yapısal değişikliğini belirlemek amacıyla, film materyalleri ve filmler için ayrı ayrı XRD görüntülemesi yapılmıştır. Bu ölçüme ait XRD grafiği Şekil 4'de verilmiştir. Grafikte KS ve WPK tozlarının ikisi de karakteristik piklerini sırasıyla 20° ve 19° noktalarında vermiştir. Bu iki bileşen yarı-kristal yapı

göstermektedir (Mahardika vd., 2024). Grafikte görüldüğü gibi, KS ve WPK toz halinde iken daha kristal yapıda olmasına rağmen film üretiminden sonra daha amorf özellik göstermiştir (Ertan vd., 2023).

WPK/KS/NKS filme ait grafik incelendiğinde, NKS ilavesi sonrası kristal yapıda artış görülmektedir. Bu sonuç PVA filmlere farklı oranlarda NKS ilave edilen bir çalışma ile örtüşmektedir: NKS ilaveli filmin yüksek kristal derecesi, kimyasal ve mekanik işlemlerle selülozun nanoselüloza küçültülmesi sürecinin, selülozun orijinal kristal yapısını korumada başarılı olduğunu işaret etmektedir (Mahardika vd., 2024).

Farklı Sıcaklıklarda Mekanik Dayanım ve Su Buhar Bariyer Özelliklerindeki Değişim

Farklı sıcaklıkların filmlerin mekanik ve WVP özellikleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Filmler üretildikten sonra tümü ilk aşamada 25°C'de 10 gün süreyle şartlandırılmıştır. Ardından örneklerin bir kısmı 4°C'de, diğer kısmı ise oda sı-

caklığında (25°C) 1 ay süreyle depolanmıştır. Bu süre sonunda elde edilen sonuçlar, yine 10 gün şartlandırılmış ve depolanmadan analiz edilen taze filmler ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. -18°C'de saklanan film örnekleri ise, çözünme sonunda kırılma yapı göstermeleri ve film yapısını koruyamaması nedeniyle analizlere dahil edilmemiştir.

Şekil 5'te görüldüğü gibi sıcaklar ile mekanik özelliklerde farklılık meydana gelmiştir. Bu fark özellikle uzama katsayısında daha belirgindir (Şekil 5b). Kompozit filmler için 25°C'de depolamadan negatif olarak etkilendiği görülmektedir. Önceki çalışmalar ile uyumlu olarak çekme dayanımı ise iyileşmiştir (Kerch ve Korkhov 2011). Bu durumda, 25°C'de bekletilen filmlerin iç bağları kuvvetlenirken, yani çekme dayanımı iyileşirken, tam tersi olarak bu sebeple uzama katsayısında düşüş meydana gelmiş olabilir. Uzama katsayısı önemli bir kriterdir, çünkü üretilen filmin kırılabilirliğini göstermektedir ve doğrudan filmin uygulanabilirliğini etkilemektedir. Dolayısıyla Şekil 5 incelendiğinde, uzun süre buzdolabı veya oda sıcaklığında bekletilen filmlerin mekanik özelliklerinde değişim meydana geldiği ortaya konmuştur. Ayrıca bu değişimin 4°C'de daha az olduğu göz önüne alınmalıdır.

Bundan bir adım sonrası olarak, bu derecelerde depolamanın filmin nem ve su bariyeri yani WVP özelliklerindeki değişimi incelenmiştir (Şekil 6). Farklı sıcaklıklarda depolama özellikle KS filminin nem içeriğinde önemli değişime neden olmuştur. Bunun yanında diğer filmlerin nem değerlerinin sıcaklık değişiminden etkilenmediği söylenebilir. WVP değerleri incelendiğinde ise önemli bir değişiklik olmamıştır.

Bu noktada KS filminin bu koşullardaki davranışını detaylı değerlendirmek gerekmektedir. Depolama sıcaklığına bağlı olarak KS filmlerinin nem içeriğinin azaldığı belirlenmiştir. Literatür verileri, polimer filmlerin mekanik özelliklerinin nem içeriğiyle doğrudan ilişkili olduğunu ortaya koymakta ve bunun da su moleküllerinin polimer zincirleri arasındaki plastikleştirici etkisinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Aguirre-Loredo vd., 2016, Gökkaya Erdem vd., 2021). Çalışmada elde edilen mekanik dayanım sonuçları bu sonucu desteklenmektedir. Ancak KS filmlerinin WVP değerlerinde değişiklik gözlenmemiştir. Nem içeriğinde meydana gelen azalmaya rağmen polimer matrisindeki buhar geçiş yollarında belirgin bir değişim oluşmamış olabilir. Bu durum, WVP'nin yalnızca nem miktarı ile değil, aynı zamanda polimer zincirleri arası boşluklar, kristallik derecesi ve yapısal organizasyon gibi parametrelerle ilişkilendirilebileceğini göstermektedir (Karboviak vd., 2008). Nitekim, Şekil 5'te görüldüğü üzere 25°C'de bekletilen KS filmler, bekletilmemiş kontrole kıyasla daha yüksek çekme dayanımı ve daha düşük uzama göstermiştir.

Bu, depolama sırasında nem kaybının muhtemelen zincirler arası etkileşimleri artırarak daha sert ve kompakt bir polimer ağına yol açtığını düşündürmektedir. Ancak buna rağmen, WVP'de önemli bir değişim görülmemiştir. Bu da mekanik özelliklerde gözlemlenen yeniden yapılanmanın, buhar difüzyon yollarını değiştirecek ölçüde olmamış olabileceğine işaret etmektedir. Benzer şekilde, Caner vd., (1998) tarafından yapılan çalışmada da farklı plastikleştirici tipleri ve konsantrasyonları kullanılarak mekanik özelliklerde anlamlı değişiklikler elde edilmesine rağmen WVP değerlerinde anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu bulgu, çalışmamızdaki sonuçlarla örtüşmekte; WVP'nin yalnızca nem içeriğinden değil, aynı zamanda matris içi mikroyapısal düzen ve serbest hacim dağılımından da etkilendiği yönündeki hipotezi desteklemektedir.

Farklı Bağl Nemlerde Mekanik Dayanım Değişimi

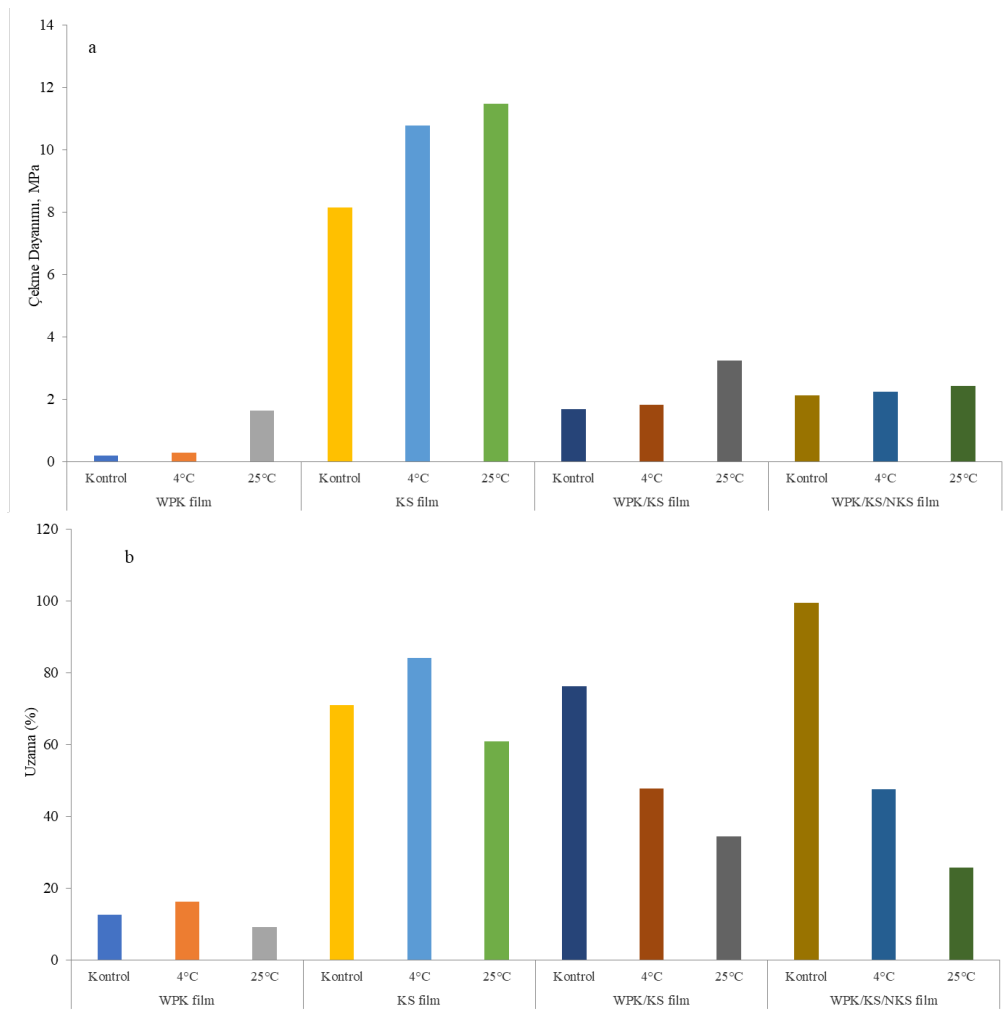
Mekanik mukavemet testi, filmlerin farklı çekme özelliklerine sahip olduğunu göstermiştir (Tablo 1). KS filminin en yüksek çekme mukavemetine (8.2 ±1.2 MPa) sahip olduğu gözlemlenmiştir. Öte yandan, WPK filmi en düşük mukavemete sahiptir. Kompozit film üretimi sonrası, WPK/KS filminde mekanik özelliklerde iyileşmeye sebep olmuştur. NKS eklendikten sonra bu özellikte bir iyileşme gözlemlenmiştir, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0.05). Bu hafif artış, filmlerdeki düşük NKS konsantrasyonundan kaynaklanabileceği düşünülse de, minimal de olsa bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Teoride yüksek kristalinitesi nedeniyle NKS'nin eklenmesi, filmlerin mekanik özelliklerini iyileştirmektedir (de Andrade vd., 2019). Öte yandan, WPK ve KS kombinasyonu ile, bu kompozit filmde de özellikleri açısından göreceli bir iyileşme gözlemlenmiştir. Uzama özelliklerindeki iyileşme, NKS eklenmesiyle devam etmiştir. Bu nedenle kompozit film üretiminde WPK filmlerin film özelliklerinde ve kullanılabilirliğinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Jiang vd., (2019), NKS konsantrasyonunun artmasıyla WPK filmlerinin mekanik özelliklerinde orta düzeyde iyileşme olduğunu bildirmiştir. Ancak kompozit filme NKS eklenmesiyle uzama özelliklerinde iyileşme olmasına rağmen, bu fark bu çalışmada anlamlı bulunmamıştır. Bu durum, NKS'nin mekanik özellikler üzerinde yeterli etkiye sahip olmamasına, NKS'nin WPK ve/veya KS ile yeterli şekilde bağ kurmak için yeterince uzun olmamasına, dolayısıyla zayıf bağlanmaya ve zayıf bağlanma nedeniyle yüksek düzeyde iyileşme sağlanamamasına bağlanabilir. Çalışmalar, NKS'nin filmlerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisinin esas olarak iyi dispersiyondan ve film formülasyonundaki NKS oranından etkilendiğini göstermektedir (Xu vd., 2024). Dispersiyon yetersizse veya oran çok yüksek veya düşükse, iyileşme önemsiz olabilir. Ancak

NKS'nin filmlerin bariyer özellikleri üzerinde böyle bir etkisinin olmadığı, bunun da aynı mekanizma ile açıklanabileceği belirtilmelidir: Filmin içindeki bağlanmamış NKS'ler dolgu maddesi görevi görerek su moleküllerinin geçişini zorlaştırmış olabilir.

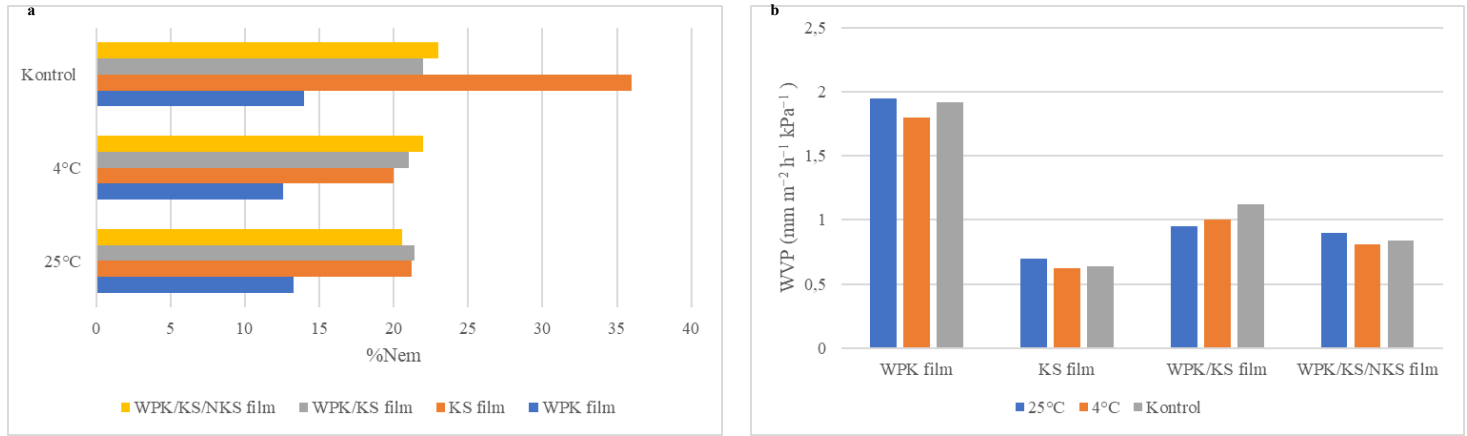
Çalışmada elde edilen filmlerin farklı bağıl nem (%50, %75 ve %100) değerlerinde mekanik özelliklerindeki değişim de incelenmiştir. Bu amaçla filmler doymuş tuz çözeltisi ile dengelenmiş desikatör ortamında dengeye gelinceye kadar bekletilmiştir. Bu süre her bağıl nem için 24 saat olarak ön deneylerle belirlenmiş (örneklerin ağırlık değişimleri takip edilerek) ve buradan sonra mekanik dayanım testlerine tabi tutulmuştur. Bu inceleme sonuçları Tablo 3'de görülmektedir.

Burada hatırlatmak gerekir ki; mekanik dayanım analizlerin önce biyobazlı filmler genellikle %50 bağıl nemde 10 gün şartlandırılmaktadır. Bu denemede ise, örnekler 24 h'lik bir döngüye tabi tutulduğu için, 50% bağıl nem ile diğer örnekleri karşılaştırmak için örnek 24 h bekletildikten sonra mekanik testlere alınmıştır.

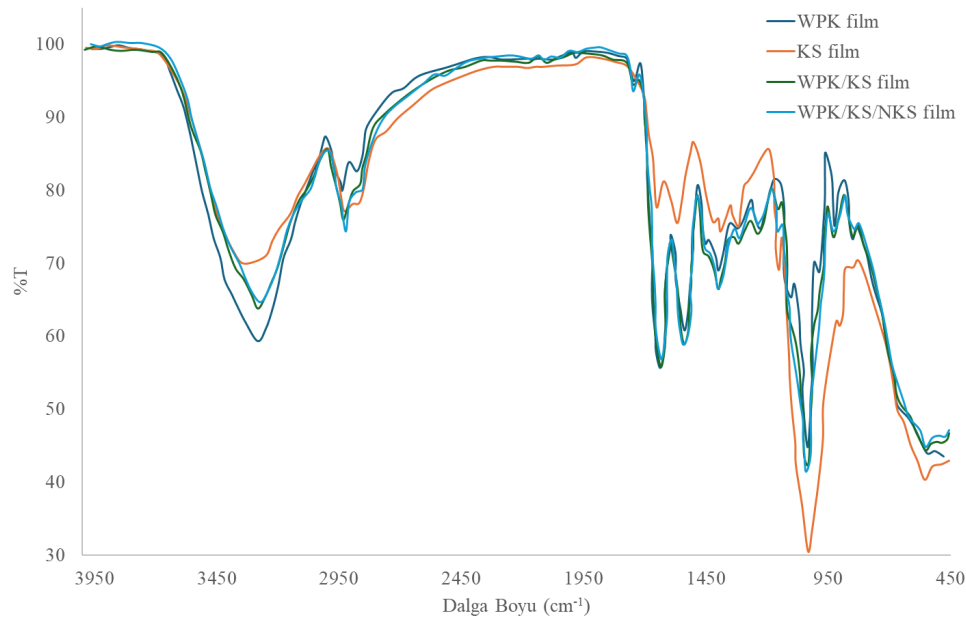
Bağıl nemin filmler üzerindeki etkisindeki değişim incelendiğinde, filmlerin uzama değerlerinin arttığı belirlenirken, beklendiği gibi çekme dayanımında azalma meydana gelmiştir. Bunun filmlerin yüksek bağıl nemli ortamlarda aldıkları su moleküllerinin plastikleştirici gibi davranmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yüksek bağıl nemlerde WPK film özelliğini kaybetmiştir.



Şekil 5. Farklı depolama koşullarında mekanik özelliklerde görülen değişim (a) Çekme Dayanımı (b) Uzama



Şekil 6. Farklı sıcaklıklarda filmlerde görülen nem (a) ve WVP (b) değişimi (kontrol depolanmamış film örnekleridir)



Şekil 7. Filmlerin FTIR spektrumu

FTIR

Filmler arasındaki fizikokimyasal özelliklerdeki farklılıkları belirlemek için film örneklerinin FTIR spektrumları incelenmiştir. Filmlerin çoğu nispeten benzer FTIR spektrumlarına sahiptir (Şekil 7). Ayrıca, KS filmi hariç, beklediği gibi protein içeren filmlerde, proteinli yapının tipik ana FTIR spektrumları görülmektedir. Proteinler için parmak izi spektrumu, Amid I ($1700-1600\text{ cm}^{-1}$) ve Amid II ($1600-1500\text{ cm}^{-1}$) titreşimleri olduğu belirtilmektedir. Çalışma kapsamında üretilen filmlerin spektrumları incelendiğinde WPK, WPK/KS ve WPK/KS/NKS filmlerinin Amid I ve II, 1536 cm^{-1} ve 1631 cm^{-1} dalga boylarında güçlü bir pike sahip olduğu görülmektedir.

$1642-1637\text{ cm}^{-1}$ artış esas olarak doğal proteindeki baskın bandın yoğunluğundaki değişikliklerle karakterize edilir. $1600\text{ ile }1500\text{ cm}^{-1}$ arasındaki amid II bantları, proteinler için NH düzlem içi bükülmeyi temsil etmektedir ve rastgele bir sarmal, sarmal veya β -yapısı şeklinde olabilirler. 1026 cm^{-1} 'deki bant, KS filmi için daha keskin bir pik ile temsil edilmektedir, çünkü bu bantlar, karbonhidratlar için tipik olan C-O gerilme frekanslarına karşılık gelmektedir. Aşağıda verilen Şekil 7'de de görüldüğü gibi NKS ilavesinin herhangi bir yapısal bağ değişimine neden olmadığı söylenebilir.

Sonuç

Bu çalışmada, peynir altı suyu protein konsantresi (WPK) ve kitosan (KS) bazlı biyobozunur filmlerin nanokristal selüloz (NKS) ile güçlendirilerek su buhar bariyer ve mekanik dayanım özelliklerinin farklı sıcaklık veya bağıl nem koşullarındaki dayanımının iyileştirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar, NKS ilavesinin WPK/KS kompozit filmlerinde belirgin yapısal ve fonksiyonel değişimlere yol açtığını göstermiştir. Özellikle NKS katkısının, farklı bağıl nem ve sıcaklık koşullarında filmlerin stabilitesini artırdığı belirlenmiştir. WPK bazlı filmler yüksek nem ortamlarında mekanik dayanım açısından ciddi kayıplar gösterirken, KS içeriği bu durumu kısmen iyileştirmiştir. NKS içeren kompozit filmler ise en iyi mekanik stabiliteyi göstermiştir. NKS ilavesi ile çekme dayanımında istatistiksel olarak anlamlı bir artış sağlanmazken, uzama yüzdesinde belirgin bir iyileşme gözlenmiştir. Su buhar geçirgenliği açısından incelendiğinde, NKS eklenen filmler daha düşük geçirgenlik göstermiş, bu da NKS'nin bariyer özelliklerini artırıcı etkisini ortaya koymuştur. Farklı sıcaklıkların film özellikleri üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde, düşük sıcaklığın (4°C) mekanik dayanımı daha az etkilediği, oda sıcaklığında ise (25°C) daha fazla sertleşme gözlemlendiği belirlenmiştir. Yüksek bağıl nem koşullarında KS bazlı filmlerin mekanik özelliklerinde kayıplar yaşanırken, NKS takviyesi bu olumsuz etkiyi belirli ölçüde azaltmıştır. Genel olarak, NKS içeren biyobazlı filmlerin gıda ambalajı uygulamaları açısından umut vadettiği, özellikle su bariyer özelliklerinin geliştirilmesi ve mekanik stabilitenin artırılması açısından önemli bir katkı sunduğu belirlenmiştir. NKS'nin katkı oranı ve dispersiyonunun optimize edilmesi, gelecekteki çalışmalar için potansiyel bir araştırma alanı olarak öne çıkmaktadır.

Etik Standartlar ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar, bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik izin: Yazarlar bu çalışmada insan veya hayvan denekleri üzerinde herhangi bir deney yapılmadığını ve bu nedenle etik kurul onayı gerekmediğini beyan etmektedirler.

Veri erişilebilirliği: Veriler talep üzerine sağlanacaktır.

Finansal destek: Bu çalışma Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından Desteklenmiştir (Proje Numarası: 20103006).

Teşekkür: Dr. Dıblan, çalışmanın tamamlanmasında aldığı değerli yardımlardan dolayı Dr. Levent Yurdaer Aydemir'e teşekkür eder.

Açıklama: -

Kaynaklar

Aguirre-Loredo, R.Y., Rodríguez-Hernández, A.I., Morales-Sánchez, E., Gómez-Aldapa, C.A., & Velazquez, G. (2016). Effect of equilibrium moisture content on barrier, mechanical and thermal properties of chitosan films. *Food Chemistry*, 196, 560-566. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.065>

Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT - Food Science and Technology*, 43(6), 837-842. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>

Al-Hilifi, S.A., Al-Ibresam, O.T., Al-Hatim, R.R., Al-Ali, R.M., Maslekar, N., Yao, Y., & Agarwal, V. (2023). Development of chitosan/whey protein hydrolysate composite films for food packaging application. *Journal of Composites Science*, 7(3), 94. <https://doi.org/10.3390/jcs7030094>

AOAC (1995). Official methods of analysis of AOAC international. Arlington, Va.: AOAC Intl. pv (loose-leaf).

Bartczyk, N., Robak, M., & Galińska, B. (2019). Intelligent aspects of packaging in food industry. *Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej*, 34.

Bauer, A., Jesús, F., Gómez Ramos, M.J., Lozano, A., & Fernández-Alba, A.R. (2019). Identification of unexpected chemical contaminants in baby food coming from plastic packaging migration by high resolution accurate mass spectrometry. *Food Chemistry*, 295, 274-288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.105>

Becker, J.M., Pounder, R.J., & Dove, A.P. (2010). Synthesis of poly(lactide)s with modified thermal and mechanical properties. *Macromolecular Rapid Communications*, 31(22), 1923-1937. <https://doi.org/10.1002/marc.201000088>

Bernhardt, D. C., Perez, C. D., Fissore, E. N., De'Nobili, M. D., & Rojas, A. M. (2017). Pectin-based composite film: Effect of corn husk fiber concentration on their properties. *Carbohydrate Polymers*, 164, 13-22. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.031>

Bhatia, S., Jawad, M., Chinnam, S., Al-Harrasi, A., Shah, Y. A., Khan, T. S., Koca, E., Aydemir, L. Y., Dıblan, S., & Thekkuden, D. T. (2025). Origanum majorana essential oil-enriched collagen/k-carrageenan films with enhanced

thermal, hydrophobic, anti-oxidant and anti-microbial properties for active packaging. *LWT - Food Science and Technology*, 117646.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117646>

Bilbao-Sáinz, C., Avena-Bustillos, R.J., Wood, D.F., Williams, T.G., & McHugh, T.H. (2010). Composite edible films based on hydroxypropyl methylcellulose reinforced with microcrystalline cellulose nanoparticles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 3753-3760.

<https://doi.org/10.1021/jf9033128>

Caner, C., Vergano, P., & Wiles, J. (1998). Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. *Journal of Food Science*, 63(6), 1049-1053.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1998.tb15852.x>

Chen, J., Chai, J., Chen, X., Huang, M., Zeng, X., & Xu, X. (2023). Development of edible films by incorporating nanocrystalline cellulose and anthocyanins into modified myofibrillar proteins. *Food Chemistry*, 417, 135820.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135820>

de Andrade, M. R., Nery, T.B.R., de Santana, E.S.T.I., Leal, I.L., Rodrigues, L.A.P., de Oliveira Reis, J.H., Druzian, J.I., & Machado, B.A.S. (2019). Effect of cellulose nanocrystals from different lignocellulosic residues to chitosan/glycerol films. *Polymers (Basel)*, 11(4).

<https://doi.org/10.3390/polym11040658>

Dıblan, S. (2013). Kalecik karası üzümünden (vitis vinifera l.) üretilen kırmızı üzüm suyunun çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve durultmanın üzüm suyu rengi üzerine etkisi. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri*.

Dıblan, S., Gökkaya Erdem, B., & Kaya, S. (2020). Sorption, diffusivity, permeability and mechanical properties of chitosan, potassium sorbate, or nisin incorporated active polymer films. *Journal of Food Science and Technology*.

<https://doi.org/10.1007/s13197-020-04403-8>

Ertan, K., Celebioglu, A., Chowdhury, R., Sumnu, G., Sahin, S., Altier, C., & Uyar, T. (2023). Carvacrol/cyclodextrin inclusion complex loaded gelatin/pullulan nanofibers for active food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 142, 108864.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108864>

Fitriani, F., Aprilia, S., Bilad, M. R., Arahman, N., Usman, A., Huda, N., & Kobun, R. (2022). Optimization of biocomposite film based on whey protein isolate and nanocrystalline cellulose from pineapple crown leaf using response surface methodology. *Polymers*, 14(15), 3006.

<https://doi.org/10.3390/polym14153006>

U.S. Food and Drug Administration (2016). *Gras notice no. 633: Whey protein*. Retrieved from Silver Spring, MD:

<https://www.fda.gov/media/99881/download>

U.S. Food and Drug Administration (2021). *Amendment to grn 997: Gras status of fiber extracted from white button mushrooms (agaricus bisporus)*. Retrieved from Silver Spring, MD: <https://www.fda.gov/media/159513/download>

Fortunati, E., Puglia, D., Luzi, F., Santulli, C., Kenny, J. M., & Torre, L. (2013). Binary pva bio-nanocomposites containing cellulose nanocrystals extracted from different natural sources: Part i. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 825-836.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.075>

Fortunati, E., Puglia, D., Monti, M., Peponi, L., Santulli, C., Kenny, J.M., & Torre, L. (2012). Extraction of cellulose nanocrystals from phormium tenax fibres. *Journal of Polymers and the Environment*, 21(2), 319-328.

<https://doi.org/10.1007/s10924-012-0543-1>

Gökkaya Erdem, B., Dıblan, S., & Kaya, S. (2019). Development and structural assessment of whey protein isolate/sunflower seed oil biocomposite film. *Food and Bioproducts Processing*, 118, 270-280.

<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.09.015>

Gökkaya Erdem, B., Dıblan, S., & Kaya, S. (2021). A comprehensive study on sorption, water barrier, and physicochemical properties of some protein-and carbohydrate-based edible films. *Food and Bioprocess Technology*, 14(11), 2161-2179.

<https://doi.org/10.1007/s11947-021-02712-0>

Guo, Y., Zhang, Y., Zheng, D., Li, M., & Yue, J. (2020). Isolation and characterization of nanocellulose crystals via acid hydrolysis from agricultural waste-tea stalk. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 927-933.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.009>

Han, J.H. (2005). Innovations in food packaging. Elsevier, pp.

Huang, D., Li, X., Ouyang, Z., Zhao, X., Wu, R., Zhang, C., Lin, C., Li, Y., & Guo, X. (2021). The occurrence and abundance of microplastics in surface water and sediment of the west river downstream, in the south of china. *Science of the Total Environment*, 756, 143857.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143857>

Jiang, S.-j., Zhang, T., Song, Y., Qian, F., Tuo, Y., & Mu, G. (2019). Mechanical properties of whey protein concentrate based film improved by the coexistence of nanocrystalline cellulose and transglutaminase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 1266-1272.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.254>

Karbowiak, T., Gougeon, R.D., Rigolet, S., Delmotte, L., Debeaufort, F., & Voilley, A. (2008). Diffusion of small molecules in edible films: Effect of water and interactions between diffusant and biopolymer. *Food Chemistry*, 106(4), 1340-1349.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.076>

Kerch, G., & Korkhov, V. (2011). Effect of storage time and temperature on structure, mechanical and barrier properties of chitosan-based films. *European Food Research and Technology*, 232, 17-22.
<https://doi.org/10.1007/s00217-010-1356-x>

Khezerlou, A., Tavassoli, M., Alizadeh Sani, M., Ehsani, A., & McClements, D.J. (2023). Smart packaging for food spoilage assessment based on hibiscus sabdariffa l. Anthocyanin-loaded chitosan films. *Journal of Composites Science*, 7(10), 404.
<https://doi.org/10.3390/jcs7100404>

Khosravi, A., Fereidoon, A., Khorasani, M.M., Naderi, G., Ganjali, M.R., Zarrintaj, P., Saeb, M.R., & Gutiérrez, T.J. (2020). Soft and hard sections from cellulose-reinforced poly(lactic acid)-based food packaging films: A critical review. *Food Packaging and Shelf Life*, 23, 100429.
<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100429>

Koç, B.E., & Özkan, M. (2011). Gıda endüstrisinde kitosanin kullanımı. *Gıda/The Journal of Food*, 36(3).

Li, L., Wang, W., Zheng, M., Sun, J., Chen, Z., Wang, J., & Ma, Q. (2023). Nanocellulose-enhanced smart film for the accurate monitoring of shrimp freshness via anthocyanin-

induced color changes. *Carbohydrate Polymers*, 301, 120352.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120352>

Liu, Y., Aimutis, W. R., & Drake, M. (2024). Dairy, plant, and novel proteins: Scientific and technological aspects. *Foods*, 13(7), 1010.
<https://doi.org/10.3390/foods13071010>

Mahardika, M., Masruchin, N., Amelia, D., Ilyas, R.A., Septevani, A.A., Syafri, E., Hastuti, N., Karina, M., Khan, M.A., & Jeon, B.-H. (2024). Nanocellulose reinforced polyvinyl alcohol-based bio-nanocomposite films: Improved mechanical, uv-light barrier, and thermal properties. *RSC Advances*, 14(32), 23232-23239.
<https://doi.org/10.1039/D4RA04205K>

Mohamed, S.A., El-Sakhawy, M., & El-Sakhawy, M.A.-M. (2020). Polysaccharides, protein and lipid-based natural edible films in food packaging: A review. *Carbohydrate Polymers*, 238, 116178.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116178>

Otoni, C.G., Avena-Bustillos, R.J., Azeredo, H.M.C., Lorevice, M.V., Moura, M.R., Mattoso, L.H.C., & McHugh, T.H. (2017). Recent advances on edible films based on fruits and vegetables—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 1151-1169.
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12281>

Özkaya, H. (1998). Analitik gıda kalite kontrolü. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, pp. 4-64. Ankara, Turkey.

Robertson, G.L. (2005). Food packaging: Principles and practice. CRC press, pp. 329-363. ISBN: 0429132891.
<https://doi.org/10.1201/9781420056150>

Tavares, L., Souza, H. K., Gonçalves, M.P., & Rocha, C. M. (2021). Physicochemical and microstructural properties of composite edible film obtained by complex coacervation between chitosan and whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 113, 106471.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106471>

Trache, D., Tarchoun, A.F., Derradji, M., Hamidon, T.S., Masruchin, N., Brosse, N., & Hussin, M.H. (2020). Nanocellulose: From fundamentals to advanced applications. *Frontiers in Chemistry*, 8, 392.
<https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00392>

Wagner, M., & Oehlmann, J. (2009). Endocrine disruptors in bottled mineral water: Total estrogenic burden and migration from plastic bottles. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(3), 278-286.

<https://doi.org/10.1007/s11356-009-0107-7>

Wang, L., Dong, Y., Men, H., Tong, J., & Zhou, J. (2013). Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 35-41.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.034>

Wang, Y., Wang, J., Lai, J., Zhang, X., Wang, Y., & Zhu, Y. (2022). Preparation and characterization of chitosan/whey isolate protein active film containing tio2 and white pepper essential oil. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1047988.

<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1047988>

Wu, H., Lei, Y., Zhu, R., Zhao, M., Lu, J., Xiao, D., Jiao, C., Zhang, Z., Shen, G., & Li, S. (2019). Preparation and characterization of bioactive edible packaging films based on pomelo peel flours incorporating tea polyphenol. *Food Hydrocolloids*, 90, 41-49.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.016>

Xu, Y., Wu, Z., Li, A., Chen, N., Rao, J., & Zeng, Q. (2024). Nanocellulose composite films in food packaging materials: A review. *Polymers*, 16(3), 423.

<https://doi.org/10.3390/polym16030423>

Yang, W., Zhang, S., Li, C., Li, M., Li, Y., Wu, P., Li, H., & Ai, S. (2025). Functionalized cellulose nanocrystals reinforced polysaccharide matrix for the preparation of active packaging for perishable fruits preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 290, 138902.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138902>

Zhang, W., Zhang, Y., Cao, J., & Jiang, W. (2021). Improving the performance of edible food packaging films by using nanocellulose as an additive. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 288-296.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.185>