

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALGİNAT-KİTOSAN BAZLI BİOFİLM SENTEZİ İÇİN DENEYSEL TASARIM  
UYGULAMASI

TUĞÇE ŞİMŞEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI

DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. SEYFULLAH KEYF

İSTANBUL, 2017

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

**ALGİNAT-KİTOSAN BAZLI BİOFİLM SENTEZİ İÇİN DENEYSEL TASARIM**  
**UYGULAMASI**

Tuğçe ŞİMŞEK tarafından hazırlanan tez çalışması 19.12.2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

Yrd. Doç. Dr. Seyfullah KEYF  
Yıldız Teknik Üniversitesi

---

**Jüri Üyeleri**

Yrd. Doç. Dr. Seyfullah KEYF  
Yıldız Teknik Üniversitesi

---

**Jüri Üyeleri**

Doç. Dr. Yavuz SALT  
Yıldız Teknik Üniversitesi

---

**Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Fatma KARACA  
Marmara Üniversitesi

---

## ÖNSÖZ

---

Biofilm sentezinin deneysel tasarım uygulamasının amaçlandığı bu tezde çevreyle uyumlu, zehirsiz olan doğal ve sentetik polimerlerle çalışılmıştır. Çalışma iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşama biofilmi sentezleyebilmektedir. İkinci aşama sentezlenen biofilmin membran olarak kullanılıp kullanılamayacağını araştırılması için sorpsiyon ve desorpsiyon değerlerinin belirlenmesidir. Çalışmada sentezlenen biofilmin sorpsiyon ve desorpsiyon özelliklerinin membran özellikleri için istenen değerlerde olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile membran üretimi için kullanılan bozunabilirliği, parçalanabilirliği zor, zehirli polimerler yerine çevreyle uyumlu, zehirsiz, kolay bozunabilir doğal polimerler kullanılabilmesi amaçlanmaktadır.

Tezimin yazımı aşamasında bana yardımda bulunan başta sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Seyfullah Keyf'e ve daha sonra benden yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Nazli Dilpak'a teşekkür ederim. Bu süre zarfında her zaman yanımda olan ve beni destekleyen eşim Uğur Şimşek'e ve aileme teşekkür ederim.

Aralık, 2017

Tuğçe ŞİMŞEK

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	vii
KISALTMA LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ .....	x
ÖZET .....	xii
ABSTRACT.....	xiv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	5
1.1. Literatür Özeti .....	5
1.1.1. Alginat.....	5
1.1.1.1. Yapısı ve Karakterizasyonu.....	2
1.1.1.2. Biyouyumluluk.....	3
1.1.1.3. Suda Çözünürlüğü .....	3
1.1.1.4. Hidrojel Oluşumu ve Özellikleri.....	4
1.1.1.5. İyonik Çapraz Bağlama .....	4
1.1.1.6. Kovalent Çapraz Bağlama.....	6
1.1.1.7. Biyolojik Bozunması ve Hidrojeli .....	6
1.1.1.8. Alginatın Modifikasyonu .....	7
1.1.2. Kitosan .....	8
1.1.2.1. Kitin .....	8
1.1.2.2. Kitosan.....	9
1.1.2.2.1. Kitosan Yapısı ve Karakterizasyonu.....	10
a. Kitosanın Suda Çözünebilirliği.....	10
b. Kitosanın Asetilasyon Derecesi ve Asetil Gruplarının Dağılımı .....	11
c. Kitosanın Moleküler Ağırlığı .....	12
d. Kitosan Esaslı Malzemeler .....	13
e. Kitosan ve Kitosan Türevlerinin Uygulamaları .....	13

1.1.3. Potietilen Oksit (PEO) .....	16
1.1.4. Polivinil Alkol (PVA) .....	17
1.1.4.1. Polivinil Alkol'ün (PVA) Çapraz Bağlanması .....	18
1.1.5. Kalsiyum Klorür (CaCl <sub>2</sub> ) .....	19
1.1.6. Polimerlerin Birbirleri ile Etkileşimleri.....	20
1.1.6.1. Alginat ve Kitosanın Etkileşimi .....	20
1.1.6.2. Alginat ve Polivinil Alkol'ün Etkileşimi .....	21
1.1.6.3. Kitosan ve Polivinil Alkol'ün Etkileşimi.....	22
1.1.6.4. Kitosan ve Polietilen Oksit'in Etkileşimi .....	23
1.1.6.5. Kitosan ve Sitrik Asit Etkileşimi .....	23
1.1.7. Hidrojel Membranlar .....	23
1.1.8. D-Optimal Tasarım.....	26
1.1.8.1. D-Optimal Tasarım'da D-Kriteri Yöntemi .....	27
1.1.8.2. HPLC-FLD .....	27
1.1.8.3. Box-Behnken .....	27
1.2. Tezin Amacı .....	28
1.3. Hipotez .....	29
<b>BÖLÜM 2</b>	
<b>MATERYAL VE YÖNTEMLER .....</b>	<b>34</b>
2.1. Alginat'ın Hazırlanışı .....	34
2.2. Kitosan'ın Hazırlanışı.....	34
2.3. Polivinil Alkol'ün Hazırlanışı .....	34
2.4. Polietilen Oksit'in Hazırlanışı .....	34
2.5. Kalsiyum Klorür'ün Hazırlanışı .....	35
2.6. Biofilmlerin Hazırlanışı .....	35
<b>BÖLÜM 3</b>	
<b>BULGULAR.....</b>	<b>37</b>
3.1. Biofilmin sorpsiyon ve desorpsiyon bulguları .....	49
<b>BÖLÜM 4</b>	
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>50</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>53</b>
<b>EK-A</b>	
<b>BİOFİMLERİN ÇEKME DENEYLERİ .....</b>	<b>56</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>66</b>

## SİMGE LİSTESİ

---

a	Mark-Houwink değeri
K	Mark-Houwink özgül viskozite (mL/g)
M	Molar (mol/L)
nm	Nanometre
pK	Bir zayıf asitin konsantrasyonun konjuge bazına eşit olduğu pH değeri
R1	Maksimum Gerilim Yüğü (MPa)
R2	Maksimum Yükte Uzama (mm/mm)
T	Sıcaklık ( $^{\circ}$ C)
$\mu$ m	Mikrometre

## KISALTMA LİSTESİ

---

BBD	Box-Behnken tasarımı
Ca-alginat	Kalsiyum alginatı
Cd	Kadmiyum
CaCl <sub>2</sub>	Kalsiyum klorür
Cs	Sezyum
CS	Kitosan
Cr	Krom
GA	Glutaraldehit
IR	Infrared (kızıl ötesi)
MWCNT-NH <sub>2</sub>	Çoklu duvar modifiyeli amino karbon nanotüp
Na-alginat	Sodyum alginatı
NMR	Nükleer manyetik rezonans
Pb	Kurşun
PEG	Polietilen glikol
PEO	Polietilen oksit
PVA	Polivinil alkol
RSM	Tepki Yüzeyi Metodolojisi
SA	Sodyum Alginat
TiO <sub>2</sub>	Titanyum oksit
UV	Ultraviyole ışınım

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1	Ekstraksiyon prosesi ile yosundan alginat oluşumu ..... 2
Şekil 1.2	Alginatın yapısı, (a) zincir dizilimi, (b) blok dizilimi.....5
Şekil 1.3	Alginat bağlantı noktası, (a) GG/GG bağlantısı, (b) MG/MG bağlantısı, (c)GG/MG bağlantısı .....5
Şekil 1.4	Kimyasal yapı, (a) kitin poli(N-asetil- $\beta$ -D- glukosamin), (b) kitosan poli (d-glukosamin) tekrar birimi, (c) kısmi asetile kitosan ..... 9
Şekil 1.5	Üç faktörlü Box-Behnken tasarımı için temsili gösterim ..... 28
Şekil 2.1	Hazırlanan biyofilm örneği ..... 35
Şekil 3.1	Instron 3369 Universal Çekme Test Cihazı..... 37
Şekil 3.2	Maksimum Gerilim Yükünün (R1) Alginat ve PVA bileşimi ile değişimi..... 39
Şekil 3.3	Maksimum Gerilim Yükünün (R1) Alginat ve Kitosan bileşimi ile değişimi . 40
Şekil 3.4	Maksimum Gerilim Yükünün (R1) PVA ve Kitosan bileşimi ile değişimi ..... 40
Şekil 3.5	Biyofilmde Maksimum Gerilim Yükün (R1) için elde edilen optimum çözüm.....43
Şekil 3.6	Maksimum yükte uzamanın (R2) Alginat ve PVA bileşimi ile değişimi ..... 44
Şekil 3.7	Maksimum yükte uzamanın (R2) Alginat ve Kitosan bileşimi ile değişimi.. 45
Şekil 3.8	Maksimum yükte uzamanın (R2) PVA ve Kitosan bileşimi ile değişimi ..... 45
Şekil 3.9	Biyofilmde Maksimum Yükte uzama (R2) için elde edilen optimum çözüm.....47

## ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 1.1	Alginatein çeşitli solventlerin 15mg/ml konsantrasyonunda çözünebilirliği.....4
Çizelge 1.2	Alginate ve türevlerinde önemli parametreleri.....8
Çizelge 1.3	Kitin ve kitosanın likit (hidrojen) ve katı (karbon ve azot) örnekleriyle asetilasyon dereceleri NMR değerleri.....12
Çizelge 1.4	Kitosanın farklı solventlerde Mark-Houwink parametreleri ..... 12
Çizelge 1.5	Kitosanın özelliklerine göre biyomedikal uygulamalarda kullanılması...14
Çizelge 1.6	Kitosanın uygulama alanları.....15
Çizelge 1.7	Farklı koşullarda hazırlanan hidrojel membranların su tutma değerleri 25
Çizelge 1.8	Adsorban membranların su tutma oranları ..... 26
Çizelge 1.9	Biomembran sertlik(rigidity), Young Modulus, Kopma gerinimi(Breaking strain) ve uzama (%) (elongation at break) değerleri.....31
Çizelge 1.10	Kitosan membranın sorpsiyon ve desorpsiyon değerleri.....32
Çizelge 1.11	Bazı polisakkaritlerin Gerilim değerleri(TS) ve kopma noktası değerleri (EB).....33
Çizelge 2.1	Filmler için hazırlanan çözeltilerin karışım miktarları.....36
Çizelge 3.1	Box-Behnken tasarım yönteminde incelenen faktörlerin seviye değerleri .....38
Çizelge 3.2	Box-Behnken deneysel tasarım tablosu.....38
Çizelge 3.3	Box-Behnken Tasarımda elde edilen Maksimum gerilim yükü (R1) değeri için ANOVA analizi.....41
Çizelge 3.4	Box-Behnken Tasarımda elde edilen Maksimum gerilim yükü (R1) değeri için modifiye edilmiş ANOVA analizi .....42
Çizelge 3.5	Modifiye edilmiş ANOVA analiz sonuçları.....43
Çizelge 3.6	Maksimum gerilim yülü (R1) için seçilebilecek parametre (desirability).....43
Çizelge 3.7	Box-Behnken Tasarımda elde edilen Maksimum yükte uzama (R2) değerleri için ANOVA analizi .....46
Çizelge 3.8	Maksimum yükte uzama (R2) ANOVA analiz sonuçları .....47
Çizelge 3.9	Maksimum yükte uzama (R2) seçilebilecek parametre (desirability)....48
Çizelge 3.10	Maksimum Gerilim Yükü (R1) ve Maksimum yükte uzama (R2) deneysel değerlerin teorik formüle uygulanma sonuçları.....48
Çizelge 3.11	Bazı numunelerin sorpsiyon değerleri.....49



## ALGINAT-KİTOSAN BAZLI BİOFİLM SENTEZİ İÇİN DENEYSEL TASARIM UYGULAMASI

Tuğçe ŞİMŞEK

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd.Doç.Dr. Seyfullah KEYF

Alginat, biyopolimer olarak son zamanlarda tıp, gıda, çevre gibi alanlarda uygulamaları olan, hidrojel olarak yaygın kullanım alanına sahiptir. Hidrojeller, su içeriği yüksek olan hidrofilik polimerlerden oluşan üç boyutlu çapraz bağlı ağlardır.

Bu çalışmada iki makro biopolimer molekülün iyonik bağlanmasını sağlayan bir çapraz bağlayıcı kullanılarak alginat ile birlikte kitosan hibrid polimer ağları oluşturmak amaçlandı. Kitosan / alginat hidrojelinde, alginat varlığının hidrojel stabilitesine sahiptir, fakat malzemenin film formu oluşturmasında mekanik dayanım artırılması amacıyla çevreye uyumlu bir sentetik polimer olan polivinil alkol ve polietilen oksit ilave edildi. Kitosan, alginat, polivinil alkol ve polietilen oksit içeren biyopolimerin değişik bileşimlerde matriks biyopolimerin çekme mukavemeti, yüzde uzama ve elastik bölge çekme kuvveti değişimleri incelendi.

Deneysel tasarım metodu kullanılarak alginat, PVA, kitosan konsantrasyon faktörleri ile cevap yüzeyi olarak çekme mukavemeti, yüzde uzama ve elastik bölge çekme kuvveti incelendi. Biyopolimer matriksinin faktörlerle cevap yüzeyleri ile ilişkisi fonksiyon olarak belirlendi. Bu çalışmayla zaman ve kimyasal madde sarfiyatı azaltıldı. Optimizasyon için belirlenen en iyi cevap yüzeyini sağlayan faktör değerleri belirlendi. Elde edilen verilere göre biyopolimer matriksinin membran, film, gıda ambalajı için uygunluğu tartışıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Alginat, kitosan, PVA, biofilm, çevre, gıda kaplama, membran



---

**EXPERIMENTAL DESIGN APPLICATION FOR ALGINATE-CHITOSAN-BASED  
BIOFILM SYNTHESIS**

Tuğçe ŞİMŞEK

Department of Chemical Engineering

MSc. Thesis

Adviser: Ass.Prof. Seyfullah KEYF

Alginate, as biopolymer, has recently been widely used as a hydrogel, which has applications in areas such as medicine, food, and environment. Hydrogels are three-dimensional cross-linked networks composed of hydrophilic polymers that include high amounts of water. In this work, it was aimed to biopolymer form chitosan hybrid polymer networks with alginate by using a cross-linker that provides ionic bonding of two macromolecules. The chitosan / alginate hydrogel has hydrogel stability because of the alginate presence, but polyvinyl alcohol and poly(ethylene oxide), synthetic polymers compatible with the environment, are added to increase the mechanical strength of the material to form the film.

The tensile strength, percent elongation and elastic region tensile strength changes of the matrix biopolymer in different compositions of chitosan, alginate and polyvinyl alcohol containing biopolymer were investigated. Using the experimental design method, the tensile strength, percentage elongation and tensile strength of the elastic region were studied as response surface with alginate, PVA, chitosan concentration factors. The relationships between the factors and response surfaces for biopolymer matrix were determined as a function. With this work, the consumption of time and chemicals has been reduced. Factor values that provide the best response surface for optimization were determined. The suitability of the biopolymer matrix for membranes, films, food packaging was discussed according to the obtained data.

**Keywords:** alginate, chitosan, PVA, biogels, environment, food packaging, membrane



---

**YILDIZ TECHNICAL UNIVERSITY**  
**GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

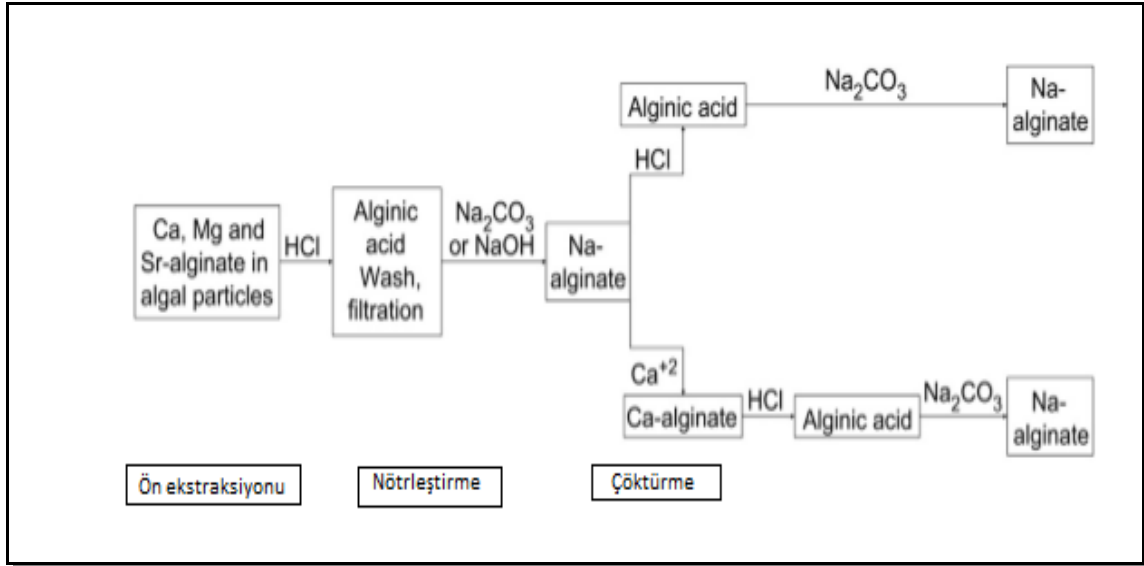
#### 1.1. Literatür Özeti

##### 1.1.1. Alginat

Ticari alginatlar; kahverengi yosunların, içerisinde *Laminaria hyperborea*, *laminaria digitata*, *laminaria japonica*, *ascophyllum nodosum* ve *macrosystic phyrifera* (su yosunları) ların, sulu alkali çözeltilerle (genellikle NaOH ile) mumaleme edilmesiyle elde edilir. Alginat çökeltisini filtre edilir. Filtreye sodyum ya da kalsiyum klorid eklenir. Alginat tuzu seyreltilmiş HCl asit ile muamele edilerek alginik aside dönüştürülür. Oluşan alginat tuzu saflaştırma ve dönüşüm işlemleri ardından suda eriyebilen alginat tozuna dönüşür [1].

Alginat üretimi günümüzde ticari alginatlar yosun kaynaklarından üretilir. Alginatlar, kahverengi yosunların hücre içi matrisinde sodyum, magnezyum, kalsiyum, baryum iyonları içeren jellerde deniz suyu iyonlarıyla iyon değişimi gerçekleştirir. Alginat üretimi şematik olarak verilmiştir. Alginat çıkarma prosesinin ilk aşaması 0.1-0.2M mineral asidi kullanarak proton değişimi sağlamaktır. Prosesin ikinci aşaması suda çözünmeyen alginik asidi sodyum karbonat ya da sodyum hidroksit alkalileriyle nötralize ederek suda çözünebilen sodyum alginat formuna dönüştürmektir. Sırasıyla eleme, yüzdürme, santrifüjleme ve filtrasyon prosesleriyle titiz bir ayırma işlemi gerçekleştirilir. Sodyum alginat direk olarak alkol, CaCl<sub>2</sub> ya da mineral asit tarafından çöktürülür. Ürün kurutulur ve öğütülür. Alginat ürünü ihtiva ettiği pek çok sitotoksik ve

mitojen kirlilikleri sebebiyle biomedikal uygulamalara uygun değildir. Biomedikal uygulamalarda kullanılan ultra saf ve antimitojen alginatlar için daha sıkı çöktürme işlemleri uygulanır. Ticari alginatlardan mitojenik kirlilikleri kaldırmak için serbest akışlı elektroforez tekniği uygulanır. Ancak bu metod büyük ölçekli uygulamalar için fazla zaman ve pahalı elektroforez ekipmanlar gerektiğinden uygulanabilir değildir[2].



Şekil 1.1 Ekstraksiyon prosesi ile yosundan alginat oluşumu [2]

### 1.1.1.1. Yapısı ve Karakterizasyonu

Fisher ve Dörfel, l-guluronat kalıntısını tespit edinceye kadar, d-mannuronat, alginatın ana bileşeni olarak görülüyordu. Mangenez ve kalsiyum tuzları ile fraksiyonel çöktürme, alginatların aslında blok kopolimerler olduklarını ve guluronatın mannurona oranının doğal kaynağa bağlı olarak değiştiğini gösterdi. Alginatlar artık (1,4) ile bağlı b-d-mannuronat ve l-guluronat kalıntılarının bloklarını içeren doğrusal kopolimerlerden oluşan bir aile olarak bilinir. Bloklar, birbirini izleyen M artıkları içeren art arda gelen G artıkları ve dönüşümlü M ve G artıklarından oluşur. Farklı kaynaklardan ekstrakte edilen alginatlar, M ve G içeriği ile her bloğun uzunluğu bakımından farklıdır ve şu anda 200'den fazla farklı alginat üretilmektedir. L-köprülü gövde ile G bloğu içeriği% 60, diğer piyasada bulunan alginatlar ise % 14.0-31.0 aralığındadır [1].

Ticari olarak kullanılan sodyum alginatın moleküler ağırlığı 32.000 ve 400.000 g/mol aralığındadır. Alginatın moleküler ağırlığının artırılması sonucu jellerinin fiziksel özellikleri iyileşebilir. Ayrıca, yüksek molekül ağırlıklı polimerden oluşan bir alginat

çözeltisi, büyük ölçüde viskoz hale gelir ve bu istenmeyen bir durumdur. Örneğin, yüksek viskoziteli bir alginat çözeltisi ile karıştırılan proteinler veya hücreler, karıştırma ve vücuda enjeksiyon sırasında oluşan yüksek koparma kuvvetlerine hasar verirler. Moleküler ağırlığın manipülasyonu ve dağılımı prejel solüsyon viskozitesini ve jel sonrası sertliği bağımsız olarak kontrol edebilir. Jellerin elastik modülü önemli ölçüde arttırılabilirken, çözeltinin viskozitesi yüksek ve düşük molekül ağırlıklı alginat polimerlerinin bir kombinasyonu kullanılarak asgari olarak yükselir [1].

#### **1.1.1.2. Biyouyumluluk**

Alginatın biyolojik uyumluluğu kapsamlı olarak değerlendirilmiş olsa da, alginat bileşiminin etkisi ile ilgili hala tartışmalar devam etmektedir. Bununla birlikte bu karışıklığın sebebi çeşitli raporlarda belirtilen alginatla ilgili çalışmalarda saflik düzeyinin farklılığından kaynaklanmaktadır. Örneğin, yüksek M içerikli alginatların, yüksek G alginatlara kıyasla, sitokin üretimini uyarma konusunda immünojenik olduğu ve yaklaşık olarak 10 kat daha güçlü olduğu, ancak diğer çalışmalarda, alginat implantların çevresinde immün yanıt vermediği veya hiç olmadığı bildirilmiştir. Enjeksiyon veya implantasyon bölgelerindeki immünojenik yanıt, alginatta kalan safsızlıklara dayandırılabilir. Alginat doğal kaynaklardan elde edildiğinden, ağır metaller, endotoksinler, proteinler ve polifenolik bileşikler gibi çeşitli safsızlıklar potansiyel olarak mevcut olabilir. Daha da önemlisi, alginat çok adımlı ekstraksiyon işlemi ile çok yüksek saflıkta bir saflık derecesine kadar saflaştırıldığında ve hayvanlara implante edildiğinde önemli bir yabancı cisim reaksiyonu oluşturmadı. Benzer şekilde, piyasada bulunan, yüksek oranda saflaştırılmış alginattan jeller, farelere deri altından enjekte edildiğinde önemli bir enflamatuar tepki gözlenmemiştir [1].

#### **1.1.1.3. Suda Çözünürlüğü**

Alginatın suda çözünebilir olması 3 parametreye bağlıdır. Birincisi çözücünün pH ı, ikincisi iyonik dayanıklılığı ve sonuncusu çözücüdeki jel iyonun varlığıdır. Alginatın suda çözünebilir olması için pH değerinin kritik seviyenin altında olması ve karboksili grubunun protondan arındırılmış olması gerekmektedir. Çözeltinin özelliklerinde değişiklik yapıldığında yani iyon değişimi olduğunda örneğin; polimer dizilimi, zincir

uzantısı, viskozitesinin değişimi ile suda çözünebilir hale getirilebilir. Alginat jel  $Ca^{+2}$ ,  $Sr^{+2}$ ,  $Ba^{+2}$  gibi divalent katyonların varlığında olabilir. Alginatın eritilebilmesi için sulu çözeltinin crosslink iyonlarına sahip olmaması gerekmektedir. Na-alginat suda çözünebilir ancak her çözeltide tam olarak çözünmemektedir. Şekil 2.de çözünebilirlikler verilmiştir [2].

Çizelge 1.1 Alginatın çeşitli solventlerin 15mg/ml konsantrasyonunda çözünebilirliği

	H <sub>2</sub> O	EG	DMA <sub>c</sub>	DMF	DMSO	DMA <sub>c</sub> /[K]	DMF/TBAF	DMSO/TBAF	DMA <sub>c</sub> /TRAF	DMI/TBAF
Alginik Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sodyum alginat	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TBA-Alginat	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+

(+) tamamen çözünme, (-) kısmi çözünme ya da hiç çözünmeme, EG; etilen glikol

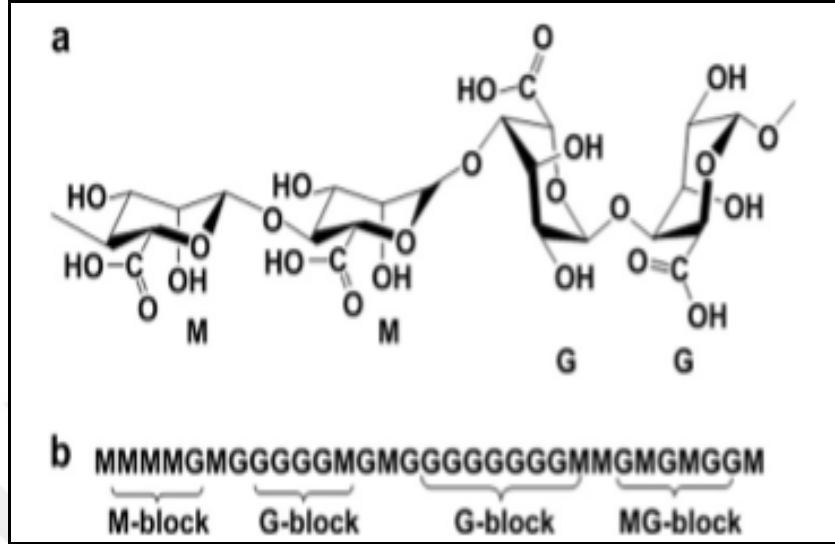
#### 1.1.1.4. Hidrojel Oluşumu ve Özellikleri

Alginat, biyotıpta, yara iyileşmesi, ilaç verme ve doku mühendisliği uygulamaları dahil olmak üzere, tipik olarak hidrojel formunda kullanılır. Hidrojeller, su içeriği yüksek olan hidrofilik polimerlerden oluşan üç boyutlu çapraz bağlı ağlardır. Yapısal olarak vücuttaki makromoleküler esaslı bileşenlere benzerlik gösterdiklerinden hidrojeller genellikle biyolojik olarak uyumludur ve genellikle minimal invaziv uygulama yoluyla vücuda verilebilir. Hidrojellerin oluşturulması için tipik yaklaşım hidrofilik polimerlere kimyasal ve / veya fiziksel olarak çapraz bağlanmadır. Bunların fizikokimyasal özellikleri, polimerlerin molekül ağırlığı ve kimyasal bileşimine ilaveten çapraz bağlama türüne ve çapraz bağlanma yoğunluğuna bağlıdır[1].

#### 1.1.1.5. İyonik Çapraz Bağlama

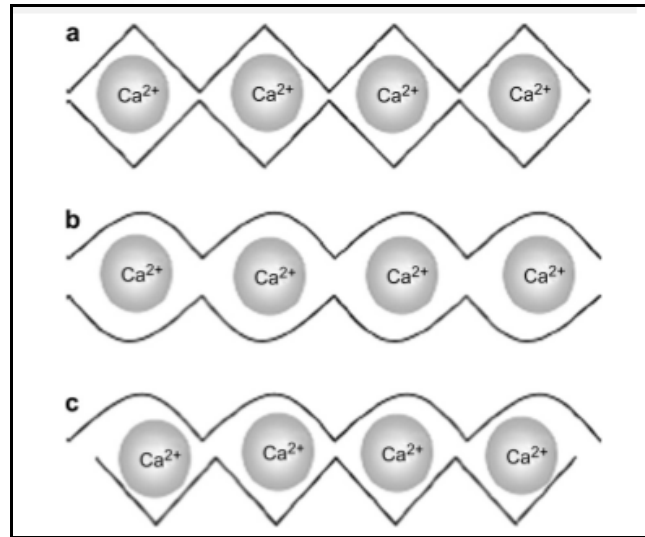
Alginat divalent katyonlar ile hidrojel forma dönüşür. Jel formu G blokla, sıkıca baş tarafa bağlıdır, divalent katyon arasındaki etkileşimle oluşur. Ayrıca G blok a zayıf

bağlanma ile MG blokta yardım eder. Eğer alginat yüksek G ihtiva eder ise güçlü bir jel oluşur.



Şekil 1.2 Alginatın yapısı, (a) zincir dizilimi, (b) blok dizilimi

$Ca^{+2}$  alginatı jel formuna dönüştürmede en çok kullanılan katyondur. Ca-alginat jelin bağlanmaları Şekil 1.4’de gösterilmiştir.



Şekil 1.3 Alginat bağlantı noktası, (a) GG/GG bağlantısı, (b) MG/MG bağlantısı, (c) GG/MG bağlantısı

Ca- alginat jelinde crosslink yapabilmesi 2 yöntemle gerçekleşebilir. İlki “difüzyon metodu”dur. Crosslink iyonları dışarıdaki haznedan alginat jel iyonlarına nüfuz eder. İkinci yöntem ise “içten ayarlama metodu”dur. Crosslink iyonu alginat jeli ile birlikte

belli bir yere konular ve kontrollü tetikleme ile (iyon kaynağının pH ı ya da suda çözünebilirliği) crosslink iyonları alginat jeli iyonlarına doğru salınır. Difüzyon modeli genel olarak Na-alginat jeli  $\text{CaCl}_2$  banyosuna yatırarak yapılır [2].

#### **1.1.1.6. Kovalent Çapraz Bağlama**

Kovalent çapraz bağlama, doku mühendisliği dahil olmak üzere pek çok uygulama için jellerin fiziksel özelliklerini iyileştirme çabası ile geniş çapta araştırılmıştır. İyonik olarak çapraz bağlı alginat jeline uygulanan stres, çapraz bağların ayrışması ve başka yerlerde reform yapılmasıyla rahatlar ve suyun jelden kaybolması plastik deformasyona neden olur. Su migrasyonu kovalent olarak çapraz bağlı jellerde meydana gelirken stres gevşemesine yol açarken, bağların ayrışması ve yeniden düzenlenmesi önemli elastik deformasyona neden olur. Bununla birlikte, kovalent çapraz bağlama reaktifleri toksik olabilir ve reaksiyona girmemiş kimyasalların jellerden tamamen çıkarılması gerekebilir. Çeşitli molekül ağırlıklı poli (etilen glikol) -diaminler ile alginatın kovalent çapraz bağlanması, geniş bir mekanik özellik yelpazesine sahip jelleri hazırlamak için araştırılmıştır. Elastik modül başlangıçta jelin poli (etilen glikol) çapraz bağlanma yoğunluğunda veya ağırlık payında bir artış ile kademeli olarak artarken, daha yumuşak PEG molekül ağırlığı düştüğünden daha sonra azalmıştır. Ardından, alginat hidrojellerin mekanik özelliklerinin ve şişmesinin, farklı çapraz bağlama molekülleri kullanılarak ve çapraz bağlanma yoğunluklarının kontrol edilmesiyle sıkı bir şekilde düzenlenebileceği görüldü. Çapraz bağlayıcı moleküllerin kimyası da beklendiği gibi hidrojel şişmeyi önemli ölçüde etkiler. İkinci makromolekül olarak hidrofilik çapraz bağlayıcı moleküllerin sokulması, çapraz bağlanma reaksiyonundan kaynaklanan hidrojin hidrofilik özellik kaybını telafi edebilir [1].

#### **1.1.1.7. Biyolojik Bozunması ve Hidrojeli**

Alginat, polimer zincirlerini parçalayabilen enzimden yoksun oldukları için memelilerde doğal olarak parçalanmazlar, ancak iyonik olarak çapraz bağlı alginat jelleri, iki değerli iyonların serbest bırakılmasıyla çözülür; bu değişim reaksiyonları nedeniyle jelini çevreleyen ortamda sodyum iyonları gibi monovalent katyonlarla çapraz bağlanır. Jel çözülmüş olsa bile, piyasada bulunan pek çok alginatın ortalama moleküler ağırlıkları

böbreklerin kendini temizleyebilmesinden daha yüksek olduğu için muhtemelen vücuttan tamamen atılamazlar. Alginatın fizyolojik koşullarda parçalanabilir olmasını sağlamak için çekici bir yaklaşım, alginat zincirlerinin kısmi oksidasyonunu içerir. Alginatın fizyolojik koşullarda parçalanabilir olmasını sağlamak için önemli yollardan biri alginat zincirlerinin kısmi oksidasyonudur. Hafif oksitlenmiş alginat, sulu ortamda bozunabilir ve bu materyallerin, çeşitli uygulamalar için ilaçların ve hücrelerin bir taşıyıcı aracı olma potansiyeline sahip oldukları gösterilmiştir. Alginat, tipik olarak sodyum periodat ile oksitlenir. Periyodat oksidasyonu, uronat kalıntısındaki cis-diol grubunun karbon-karbon bağına parçalamakta ve sandalye konformasyonunu alginat omurgasının parçalanmasını sağlayan açık zincir bir adüktürüne çevirmektedir. Oksidasyon sırasında molekül ağırlığının hafif bir azalması beklenir. Bununla birlikte, alginatın kısmi oksidasyonu, iki değerlikli katyonların mevcudiyetinde jel oluşturma kabiliyetine önemli ölçüde müdahale etmez. Sonuç olarak jellerin bozunma hızı, oksidasyon derecesine ve ortamın pH ile sıcaklığına bağlıdır [1].

#### **1.1.1.8. Alginatın Modifikasyonu**

Alginatın modifikasyonu 3 parametreye bağlıdır. Bu parametreler, suda çözünebilme, reaktivite ve karakterizasyondur. Suda çözünebilme; Alginat, türevlendirme işlemi için su, organik ya da sulu organik solventte çözünebilir. Modifikasyon için uygun solvent sistemi ve reaktif kullanılması durumunda gerçekleşebilir. Ayrıca solvent içindeki alginatın çözünebilme derecesine göre kalıbın şeklini alabilir. Reaktivite; Alginatlar 2 sekonder OH grubu (C-2 ve C-3) veya 1 adet COOH (C-6) grubu ile modifiye edilebilir. 2 grubun reaktivite farkları modifiye seçiciliğinde kullanılmaktadır. Seçicilik modifikasyonu C-2 ve C-3 hidroksil gruplarının reaktivite seçiciliğinden kaynaklanmaktadır. Ek olarak reaksiyon M ya da G kalıntıları tarafından kontrol edilebilir. Bu durum Ca alginat jelinde G kalıntısının seçiciliğini ya da kesin solvent sistemdeki alginatın kısmi çözünebilirliğini kullanmada avantaj sağlayabilir. Daha önemlisi, derivasyon reaksiyonunda aside karşı alginatın reaktivitesini baz almak ve ajanları azaltmak gözden kaçmamalıdır. Rekabetçi degradasyon reaksiyonu çok kısa sürede hızlı bir moleküler kütle kaybına sebep olabilir. Karakterizasyon; Alginat türevleri için elde edilen kalıpları anlamak için, bir dizi M / G oranına sahip birden fazla

alginat numunesinin bulunması esastır. Kalıpları ayrıntılı bir şekilde anlamak için MG blokları gerekebilir. Kontrollü sekanslara sahip alginatların ticari olarak temin edilebilir olmaması, türevlerin tam yapısal karakterizasyonunu engelleyebilir. Alginat polisakkarit içeriğinin karmaşık doğası gereği, sıklıkla gelişmiş analitik tekniklerin kullanılması gereklidir [2].

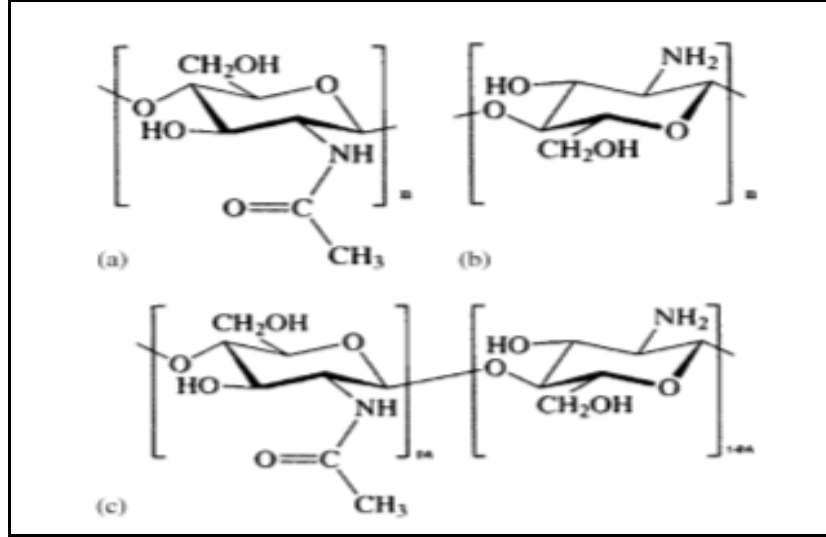
Çizelge 1.2 Alginat türevlerinde önemli parametreler

Alginat türevleri ve tasarımı		
Çözünürlük	Reaktivite	Karakterizasyon
Sulu ya da organik madde	İki skonder OH grubu	M ve G oranına göre çeşitlendirme
Tamamen ya da kısmi çözünme	Bir –COOH grubu	M, G, MG bloklarını içermesine göre çeşitlendirme
Jel fazı reaksiyonu	M ve G 'nin reaktivitesi	Analitik teknik geliştirme
	Minimum bozunma	

### 1.1.2. Kitosan

#### 1.1.2.1. Kitin

Kitin 1884 te tanımlanmış çok önemli bir doğal poli ( $\beta$ - (1-4)-N-asetil-D-glukosamin) sakkarittir. Bu polimer çok büyük miktarda yaşayan organizmalar tarafından sentezlenir ve dünyada yıllık üretim miktarı düşünüldüğünde selülozdan sonra en çok bulunan polimerdir. Kitin, eklem bacaklıların dış iskeletinde veya mantarların ve mayaların hücre duvarlarında yapısal bileşenleri oluşturan düzenli kristal mikrofibriller şeklinde doğada bulunur. Aynı zamanda, alt bitki ve hayvan krallıklarındaki bir dizi canlı organizma tarafından üretilir ve pek çok işlevde ve destek ile kuvvetin gerekli olduğu yerlerde hizmet eder.



Şekil 1.4 Kimyasal yapı, (a) kitin poli(N-asetil-β-D- glukosamin), (b) kitosan poli (d-glukosamin) tekrar birimi, (c) kısmi asetile kitosan

Kitin yaygın olarak görülmesine rağmen, ana ticaret kaynakları yengeç ve karides kabukları olmuştur. Endüstriyel işlemede, kitin, kabukluların asit işlemiyle kalsiyum karbonatı çözüldükten sonra proteinleri çözündürmek için alkalın ekstraksiyonu ile özüm getirir. Ayrıca renksizleştirme işleminde geriye kalan pigmentleri kaldırmak için basamalar eklenir ve renksiz ürün elde edilir. Bu aşamalar, başlangıç malzemelerinin ultra yapısındaki farklılıklardan ötürü, her kitin kaynağına uyarlanmalıdır. Elde edilen kitin saflık ve renk açısından derecelendirilmelidir çünkü kalıntı proteinler ve pigmentler özellikle biyomedikal ürünler için fazla kullanımda sorunlara neden olabilir. Alkalın koşullar altında kısmi deasetilasyon ile uygulamalar açısından en önemli kitin türevidir olan kitosan elde edilir.

#### 1.1.2.2. Kitosan

Kitin deasetilasyon derecesi (orijin polimerine bağlı olarak) yaklaşık % 50'ye ulaştığında, sulu asidik ortamda çözünür hale gelir ve kitosan olarak adlandırılır. Çözündürme, D-glukosamin tekrar biriminin C-2 konumu üzerindeki -NH<sub>2</sub> işlevinin protonlanması ile oluşur ve polisakarit asidik ortamda bir polielektrolit haline dönüştürülür. Kitosan, yalancı doğal katyonik polimerdir ve benzersiz karakterinden (protein geri kazanım, çöp tohumu, topaklaştırıcılar vb.) dolayı birçok uygulama bulmaktadır. Sulu çözeltilerde çözünür olduğu için, çözelti, jel, film ve elyaf gibi farklı uygulamalarda büyük oranda

kullanılır. Kitosanı karakterize eden ilk adım, numuneyi saflaştırmaktır: fazla asidi eritilir ve gözenekli zarlar üzerinde filtrelendir (0.45 µm'ye kadar farklı gözenek çapları ile). Çözeltinin pH'ı, NaOH veya NH<sub>4</sub>OH eklenerek 7.5 a getirilir. Bu durum deprotonasyondan dolayı flokülasyona sebep olur ve suda çözünmeyen polimerin pH'ı nötrdür. Polimer daha sonra su ile yıkanır ve kurutulur.

#### **1.1.2.2.1. Kitosan Yapısı ve Karakterizasyonu**

Katı halde, kitosan yarı kristalin bir polimerdir. Morfolojisi araştırılmış ve literatür de birçok polimorf bulunmuştur. Tek molekül ağırlıklı kitosan, düşük molekül ağırlıklı tam deasetilatlı kitin kullanılarak elde edilir. Elektron kırınım diyagramı, a = 0.807 nm, b = 0.844 nm, c = 1.034 nm olan bir ortorombik birim hücrede (P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>) indekslenebilir; Birim hücre iki antiparalit kitosan zinciri içerir, ancak su molekülleri içermez. Kitosanın esas incelemeleri, çeşitli moleküler ağırlıklar ve kitin DA'sı ile hazırlanması, çözeltinin DA'ya olan bağımlılığı, preparat türevleri ve uygulamaları ile ilgilidir. Süngerler, tozlar ve elyaflar, kitosan veya türevlerinin solüsyondan yenilenmesi suretiyle elde edilebilir.

#### **a. Kitosanın Suda Çözünürlüğü**

Karakterizasyon metodunun keşfedilmesi için yüksek dereceli deasetilasyon polimeri kullanılmıştır. Kitosan çözeltisinin karakterizasyonu sadece ortalama DA sına bağlı değildir, aynı zamanda ana zincirdeki asetil grubunun moleküler ağırlığına da bağlıdır. Deasetilasyon genellikle katı durumlarda kullanılır ve bize ilk polimerin semikristal karakterizasyonu ile düzensiz yapısını verir. Kitosan protonasyonun rolünü, asetik asit ve hidrolik asit çözeltilerinde ne kadar iyonize olacağı asitte ki pH ve pK değerlerine bağlı olacağını gösterir. Düşük bir DA ile kitosanın çözünürlüğü, yaklaşık 0.5'lik bir kitosanın ortalama iyonizasyon α derecesi için gerçekleşir; HCl'de α = 0.5, pH 4.5-5'e tekabül eder. Çözünürlük ayrıca iyonik konsantrasyona bağlıdır ve kitosanın klorohidrat formuna dönüşmesini sağlayan HCl'den (1M HCl) fazla bir tuzlanma etkisi gözlemlenmiştir. Kitosan'ın klorohidrat ve asetat formları izole edildiğinde, suda doğrudan çözünürler ve önceki verilerle uyumlu olarak pK<sub>0</sub> = 6 ± 0.1 olan asidik bir çözelti verirler ve α = 0 protonasyon derecesi için pK'nin ekstrapolasyonuna karşılık gelirler. Kitosanın çözünürlüğü genellikle % 1 veya 0.1 M asetik asit içinde eriterek test

edilir. Gerekli asidin miktarının çözünmüş kitosan miktarına bağlıdır. Gerekli proton konsantrasyonu, en azından ilgili  $-NH_2$  ünitelerinin konsantrasyonuna eşittir.

Aslında, çözünürlük kontrol edilmesi çok zor bir parametredir: DA, iyonik konsantrasyon, pH, protonasyon için kullanılan asidin niteliği ve zincir boyunca asetil gruplarının dağıtılması ile ilişkili olduğu gibi polisakkaritin izolasyonu ve kurutulması koşullarına da bağlıdır. Hidroksil grupları içeren zincir içi hidrojen bağına da dikkate almak önemlidir. Polimerin mikroyapısının rolü, tamamen deasetilatlı bir kitin çözeltide reasetilize edildiğinde açıkça gösterilir; Asitik ortamda çözünmezliği sağlamak için kitosan DA'nın kritik değeri daha sonra % 60'dan fazla olmalıdır. Ayrıca, DA'lı kitosan için nötr pH çözünürlüğü yaklaşık % 50 olduğu iddia edilmiştir.

Son zamanlarda gliserol 2-fosfat varlığında nötr pH'da suda çözünür bir kitosan formu elde edildi. Kararlı çözeltiler, pH 7-7.1'de ve oda sıcaklığında elde edildi, ancak yaklaşık 40 ° C'ye ısıtıldığında bir jel oluştu. Sol-jel geçişi kısmen geri döndürülebilir ve jelasyon sıcaklığı deney koşullarına hafifçe bağlıdır.

#### **b. Kitosanın Asetilasyon Derecesi ve Asetil Gruplarının Dağılımı**

Bir kitosan örneğinin karakterizasyonu, ortalama DA'nın belirlenmesini gerektirir. IR, elemental analiz, enzimatik reaksiyon, UV, H sıvı-hal NMR ve katı hal  $^{13}C$  NMR gibi potansiyometrik titrasyona ek olarak çeşitli teknikler önerilmiştir. Polimerdeki  $-NH_2$  fraksiyonu (DA'yı belirler) nötr kitosan'ın stokiyometri temelinde küçük bir HCl fazlalığı varlığında çözülmesi ve ardından protonlanmış  $-NH_2$  gruplarının NaOH ile pH veya iletkenlik ölçümleri vardır.  $^1H$  Hidrojen (H) NMR, çözünür numunelerin asetil içeriğini ölçmek için en uygun tekniktir.  $^{15}N$  Azot (N) katı hal NMR'si de denendi ve tartışıldı, bu teknikler % 0 ila % 100 arasında asetil içeriğinin tüm aralığında kullanıldı.  $^{15}N$  Azot (N) NMR, amino grubu ve N-asetillenmiş gruba ilişkin sadece iki sinyal verir; Bu teknik DA ne olursa olsun katı halde kullanılabilir.  $^{13}C$  Karbon(C) de  $^1H$  Hidrojen(H) NMR ve  $^{15}N$  Azot (N) NMR ile karşılaştırıldı ve numunenin durumu ne olursa olsun DA'nın tüm aralığında iyi bir mutabakat bulundu.

Çizelge 1.3 Kitin ve kitosanın likit (hidrojen) ve katı (karbon ve azot) örnekleriyle asetilasyon dereceleri NMR değerleri

Örnekler	A	B	C	D
<sup>1</sup> H NMR'dan DA (sıvı formda)	Çözünmeyen	0.58	0.21	Asetil izi
<sup>13</sup> C NMR'dan DA (katı formda)	0.99	0.61	0.20	0
<sup>15</sup> N NMR'dan DA (katı formda)	1	0.63	0.20	0

### c. Kitosanın Moleküler Ağırlığı

Bu polimerler için dikkate alınması gereken bir başka önemli özellik moleküler ağırlık ve dağılımıdır. Bu açıdan karşılaşılan ilk zorluk, örneklerin çözünürlüğü ve sıklıkla polisakkarit solüsyonlarında bulunan agregaların ayrışması ile ilgilidir. Kitosan karakterizasyonu için bir çözücünün seçimi konusunda, protonasyon için belirli bir konsantrasyonda bir asit ve elektrostatik etkileşimi taramak için bir tuz içeren çeşitli sistemler önerilmiştir. Solvent, molekül ağırlığı, bilinen değerler K ve  $\alpha$  olan Mark-Houwink ilişkisini kullanarak gerçek viskoziteden hesaplanması gerektiğinde önemlidir.

Çizelge 1.4 Kitosanın farklı solventlerde Mark-Houwink parametreleri

Çözeltiler	K ( mL/g)	a	T (°C)	dn/dc
0.1M AcOH / 0.2 M NaCl	$1.81 \times 10^{-3}$	0.93	25	-
0.1M AcOH / 0.02 M NaCl	$3.04 \times 10^{-3}$	1.26	25	-
0.2 M AcOH / 0.1 M AcONa / 4M üre	$8.93 \times 10^{-2}$	0.71	25	-
0.3 M AcOH / 0.2 M AcONa (Da=0.02)	$8.2 \times 10^{-2}$	0.76	25	0.163
0.3 M AcOH / 0.2 M AcONa (0<DA<0.03)	$7.9 \times 10^{-2}$	0.796	25	0.190
0.02 M Asetat tampon / 0.1 M NaCl	$8.43 \times 10^{-3}$	0.92	25	0.203

#### **d. Kitosan Esaslı Malzemeler**

Kitosan hidrojeller, filmler, lifler veya süngerler hazırlamak için kullanılır; bu materyallerin çoğu biyomedikal alanda kullanılır ve biyolojik uyumluluk önemlidir. Kitine göre kitosanın işlenmesi çok daha kolay, ancak kimyevi maddelerin kararlılığı, daha hidrofilik özelliklerine ve özellikle pH duyarlılığına bağlı olarak genellikle daha düşüktür. Hem mekanik hem de kimyasal özelliklerini kontrol etmek için çeşitli teknikler kullanılır. Çoğu zaman yöntemler selüloz dünyasından uyarlanır.

#### **e. Kitosan ve Kitosan Türevlerinin Uygulamaları**

Çizelge 1.5'te, kitosanın ana özelliklerini ve bunların potansiyel biyomedikal ve diğer uygulamaların özetlediğini göstermektedir. Kitosan ve bazı türevlerinin tıbbi uygulamalarına yönelik günümüzdeki ilgiyi anlamak kolaylıkla anlaşılmaktadır. Kitosanın katyonik karakteri cansızdır: tek sözde doğal katyonik polimerdir. Film oluşturma özellikleri ve biyolojik aktivitesi yeni uygulamaları davet eder. İlaç verme uygulamaları oral, nazal, parenteral ve transdermal uygulama, implantlar ve gen iletimini içerir. Kitosan ve katyonik türevlerin mukoadesivitesi bilinir ve özellikle nötr pH'da ilaçların adsorpsiyonunu arttırdığı kanıtlanmıştır; N-trimetil kitosan klorür, negatif yüklü hücre membranları ile etkileşime girer. Karıştırma yoluyla oluşan, prednizolon içeren kitosan filmleri ilaç salınımı için test edilmiştir. Kitosan jelleri ve katmanlı polielektrolit kapsüller, genellikle ilaçların veya proteinlerin kontrollü salınması için kullanılır. Kitosanın fiziksel özellikleri, pek çok cihazda kullanım için önerilir. Buna ek olarak, proteinler ve DNA, bir uyarıya cevap veren kitosan omurgasıyla bir araya getirilebilir. Alginat / kitosan sistemleri uygulamaları yara örtüsü olarak ve kemik dokusu mühendisliğinde bulunmuştur [3].

Çizelge 1.5 Kitosanın özelliklerine göre biyomedikal uygulamalarda kullanılması

Potansiyel biyomedikal uygulamaları	Başlıca karakteristik özelliği
Cerrahi dikişler	Biyoyumlu
Diş implantları	Biyobozunabilir
Yapay deri uygulamaları	Yenilenebilir
Kemiklerin yeniden yapılandırılması	Film formu
Korneal kontakt lensler	Sulandırma ajanı
İnsan ve hayvanlarda belirli zamanda ilacın etkisi	Zehirsiz ve biyolojik toleranslı
Kapsul materyalleri	Yaraların iyileşmesi, bakterilere, virüslere, funguslara karşı etkili

Çizelge 1.6 Kitosanın uygulama alanları [3]

Kitosanın başlıca uygulama alanları	
Tarım	Bitkilerde savunma mekanizmaları, Bitkilerin büyümelerini harekete geçirme, Tohum kaplama, Dondan, ayazdan koruma, Zamanlı gübreleme,
Su ve Atık su arıtımı	Sularda çöktürme (içme suları, havuz suları vb.), Metal iyonların temizlenmesi, Ekolojik polimer, Koku azaltımı
Yiyecek & İçecek	İnsan tarafından sindirilebilir, Lipidleri bağlama (kolesterolü düşürme), Koruyucu,Soslar için stabilize ve inceltici etkisi, Meyveler için koruyucu ve antibakteriyal kaplama
Kozmetik & Parfümeri	Cilt nemlendirme, Akne tedavisi, Saçların yumuşaklığı, Cilt tonu, Ağız bakımı
Biyoyumlu ilaçlar	İmmünolojik, Hemostatik Antikoagülant (kan sulandırıcı), İyileştirici, Bakteriyostatik

### 1.1.3. Potietilen Oksit (PEO)

Polietilen Oksit (PEO), mükemmel hidrofilik yapısı, yüksek viskozitesi, eter oksijen ile hidrojen bağları oluşturma kabiliyeti ve biyouyumluluk özelliği nedeniyle, biyomedikal alanda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca, kozmetik dahil olmak üzere sanayinin farklı yönlerinde uygulamaları buluyor (Hassouna, Marlattherias, Mailhot, Gardette, 2007; Suneşa, Rahil, Willium, Steven, Michael, 2005). Kondo ve Sawatari (1994) tarafından yapılan çalışmalar, selüloz ve metil selülozlar üzerindeki birincil hidroksil grubunun, oksijen PEO ile birlikte hidrojen bağı oluşturabildiğini tespit etmiştir [4].

PEO, suda hidrojen bağıyla çok çözünen biyouyumlu bir yarı kristalin polieterdir. Bu biyo-inert polimer, biyomalzemelerin yüzey modifikasyonu, hemodiyaliz membranlarının yüzey ve hacim modifikasyonu (Amiji, 1995), biyouyumlu yüzeylerin hazırlanması (Sugiura vd., 2008) için çeşitli araştırma gruplarının konusunu oluşturmuştur. Bu elverişli özelliklere rağmen, çeşitli sert biyouyumlu polimerlerle karıştırıldığı zaman, sonuçtaki malzemeler son derece gelişmiş esneklik ve mekanik mukavemete sahip olabilirler [5].

PEO, gıda, kozmetik, kişisel bakım ürünleri ve eczacılık alanlarında dahili kullanım için onaylanmış az sayıdaki biyolojik olarak parçalanabilir sentetik polimerlerden biridir. Margado ve arkadaşlarının çalışmaları (1999) gösterdi ki, PEO etkili bir iyon iletken polimerdir. Dolayısıyla, modifiye edilmiş doğal polimerin eğilebilirliğini arttırmak için ilave edilir [6].PEO'nun biyolojik uyumluluğu ve iyi mekanik özellikleri, gerginleştğinde yüksek uzama ve yönlendirme yeteneği de dahil olmak üzere, bu malzemeyi diğer sentetik malzemeler arasında öne çıkarır [7].

PEO, suda çözünür, aerobik ve biyolojik bozunabilir ve termoplastik olarak eşsiz bir sınıftadır. Mükemmel biyouyumluluk ve çok düşük toksisite nedeniyle, biyomedikal uygulamalarda PEO'nun potansiyel kullanımı hem endüstriyel hem de bilimsel açıdan büyük ilgi görmüştür. Kondo ve arkadaşlarının çalışmaları Selüloz ve metilselüloz üzerindeki birincil hidroksil grubunun PEO'da eter oksijene bir hidrojen bağı oluşturabileceğini tespit etmiştir. Benzer şekilde, sodyum alginat üzerindeki hidroksil grupları, PEO'daki eter oksijene bir hidrojen bağı oluşturabilir. Bu nedenle, Sodyum Alginat ile karıştırılmış uygun bir aday olarak PEO seçildi [8].

#### 1.1.4. Polivinil Alkol (PVA)

Polivinil alkol (PVA), çevreye uyumlu bir sentetik polimerdir. Suda çözünür ve iyi elyaf oluşturma yeteneği, biyouyumluluk, kimyasal direnç ve biyolojik bozunabilirliğe sahip bir polihidroksi polimerdir ayrıca toksisitesi olmayan, kanserojen olmayan, istisnai biyo uyumluluk, arzu edilen fiziksel özellikler ve insan dokularına benzer yüksek sulu büyük şişme kapasitesini içerdiğinden, en geniş çapta çalışılan hidrojellerin biridir [9]. PVA, özellikle çeşitli farmasötik ve biyomedikal uygulamalar için arzu edilen özelliklerinden dolayı büyük ilgi gösteren bir polimerdir. PVA, geleneksel alginat hidrojellerine kıyasla daha düşük maliyet, daha yüksek dayanıklılık ve kimyasal stabilite ve canlı hücrelere toksisitesi gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır [10]. PVA'nın, kitosan, sodyum alginat, kollajen ve yara sargısı, kontakt lens, ilaç verme sistemleri ve doku mühendisliği gibi biyomedikal uygulamalarda bulunan diğer sentetik polimerler gibi uygun maddeler ile birlikte çalışması ile yapılan çalışmalar yapılmıştır [9].

PVA, ikincil hidrosil grupları içeren basit bir doğrusal hidrofilik sentetik polimerdir ve ticari olarak polivinil asetatın üretilmektedir. Arzulanan fiziksel özellikleri, yani mükemmel kimyasal direnç, termo-stabilite, komple biyolojik bozunabilirlik ve film oluşturma yeteneği nedeniyle, büyük ölçüde üretilen sentetik polimer olarak demonstrasyon yapılmıştır. Yumuşak kontakt mercekte, cerrahi cihazlarda, hibrid adacık translantasyonunda, implantasyonda ve rekonstrüktif eklem cerrahisinde sentetik kıkırdak olarak kullanılan bir materyaldir[11].

PVA, iyi kimyasal ve termal kararlılığı olan yarı kristalli bir hidrofilik polimerdir. Oldukça biyolojik olarak uyumlu ve toksik olmayan bir polimerdir ve kolayca işlenebilir ve su geçirgenliği yüksektir. PVA, tıbbi, kozmetik, gıda, ilaç ve ambalaj endüstrisinde geniş bir uygulama yelpazesinde PVA kullanımına yol açan çeşitli solvent türlerinde fiziksel jel oluşturabilir. Esnekliği ve dayanıklılığı iyidir, bu nedenle zayıf fiziksel özelliklere sahip diğer malzemelerle karıştırılarak fiziksel özellikleri iyileştirmek için kullanılan tipik bir sentetik polimerdir. Fonksiyonel gruplara sahip PVA, fonksiyonel polimerlerin pratik incelemelerinde, dökme malzeme, film ve elyaf olarak hazırlanmasının kolay olması nedeniyle yararlıdır [11]. PVA, hidroksil grupları nedeniyle suda çözünen sentetik bir polimerdir. PVA yaygın olarak serbest radikal polimerizasyonu ve daha sonra polivinil

asetatin hidrolizi ile üretilir ve sonuç olarak oldukça geniş bir molekül ağırlığı dağılımı oluşur. PVA, doğadaki bozunurluğun hidroksil gruplarının miktarına büyük oranda bağlı olduğu ortamda kolaylıkla bozunur. Aynı zamanda, hidrofilik özelliklere sahip biyopolimer gibi diğer polimer bileşikleriyle karıştırılarak ko-polimerizasyonda da yaygın olarak kullanılır. Uyumlu yapısı ve temelde moleküler ağırlığa, dağılımın eleman boyutuna ve parçacık kristal yapısına bağlı olarak hidrofilik doğası nedeniyle PVA'nın çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılması umut vericidir. Ayrıca ticari olarak geniş çapta üretilmekte ve elyaf, film, hidrojel ve yapıştırıcılar gibi çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılmaktadır.

#### **1.1.4.1. Polivinil Alkol'ün (PVA) Çapraz Bağlanması**

Peppas ve Merrill (1977a, b), PVA hidrojellerini biyomalzemeler olarak ilk düşünenlerdir. Hennick ve Nostrum (2001)'a göre; genellikle, hidrojeller polimerlerin çapraz bağlanma prosesi ile elde edilebilir; bunlar, kimyasal tepkimelerle (örneğin, serbest radikal polimerizasyonu, tamamlayıcı grupların kimyasal reaksiyonu, yüksek enerji ışınlanması veya enzimatik reaksiyon kullanılarak) yapılabilir veya fiziksel bir reaksiyonla (örn. İyonik Polimer zincirinin kristalleşmesi, zincirler arasındaki hidrojen bağı, protein etkileşimi veya aşı kopolimerlerinin tasarımı) [12]. Son yıllarda fiziksel olarak çapraz bağlanmış jellere ihtiyaç, geleneksel kimyasal çapraz bağlama maddelerinin ve reaktiflerin kullanılmasını önlemek için potansiyel olarak arttırılmıştır (Van Tomme ve diğerleri, 2005). Bu kimyasal maddeler, sadece uygulama öncesi hazır jellerden ayrılabilen veya izole edilebilen toksik bileşikler değil, aynı zamanda içeri çekildiğinde maddelerin doğasını da etkileyebilir (örneğin, proteinler, ilaçlar ve hücreler). Dolayısıyla, fiziksel çapraz bağlanma yöntemi seçilmiş ve çoğu çapraz bağlanmış polimer hazırlanması için kimyasal çapraz bağlama yöntemi ile karşılaştırılabilecek şekilde tercih edilmiştir. Radyasyon çapraz bağlanması (Park ve Chang, 2003), glioksalla kimyasal reaksiyon (Teramoto ve diğerleri, 2001), glutaraldehidli iki fonksiyonlu reaktifler (Dai ve Barbari, 1999) veya boratlarla reaksiyon (Korsmeyer ve Peppas, 1981) dahil çapraz bağlı PVA bazlı hidrojellerin hazırlanması için çeşitli girişimler yapılmıştır. PVA'nın sulu bir çözeltisi, oda sıcaklığında çok uzun bir bekleme süresine maruz bırakıldıklarında düşük hidrojel mukavemeti oluşturabilir,

ancak bu yöntem mekanik özelliklerin hidrojel özelliklerinde en önemli karakter olduğu yerde çok zayıf olduğu için herhangi bir uygulama gereksinimini karşılamamıştır [13].

#### **1.1.5. Kalsiyum Klorür (CaCl<sub>2</sub>)**

Kalsiyum Klorür (CaCl<sub>2</sub>) pek çok uygulamada kullanılan bir kimyasaldır. Enerji verimliliği uygulamalarında, kapalı soğurma sistemlerinde, soğutma ve nem alma sistemlerinde, kurutma sistemlerinde, suyun geri kazanımında, atmosferin ekstraksiyonunda, termokimyasal enerji depolama gibi alanlarda kullanılmaktadır. Diğer önemli bir özelliği ise birlikte kullanıldığı kimyasalların kullanılacak alan için uygunluğunu arttırmaktadır. CaCl<sub>2</sub>'ün bazı özellikleri ve avantajları aşağıdaki gibidir,

- Fazla miktarları diğer sanayi uygulamalarının yan ürünü olarak ortaya çıkması sebebiyle kolay ulaşılabilirlik,
- En ucuz tuz hidratı olması sebebiyle en cazip kimyasallardandır.
- Yüksek nem emme ve soğurma kapasitesine sahiptir (1 mol CaCl<sub>2</sub> 8 mol amonyak adsorbe edebilir)
- Kendi sınıfında diğer kimyasallarla kıyaslandığında katı ve sıvı fazda yüksek termal iletkenliği sahiptir,
- Tuz hidratlarına göre yüksek ısı ve kimyasal stabiliteye sahiptir,
- Tuz hidratlarına göre daha az aşındırıcı özelliğe sahiptir,
- Yüksek gizli ısı füzyonuna sahiptir,
- Faz değişimlerinden hacim değişimi azdır,
- Zehirli değildir,
- Soğurma proseslerinden farklı soğutucularla eşleşebilir (su, amonyak, metilamin, metanol, etanol vb.)
- Düşük veya orta sıcaklıkta çalışma aralığına sahiptir [14].

## **1.1.6. Polimerlerin Birbirleri ile Etkileşimleri**

### **1.1.6.1. Alginat ve Kitosanın Etkileşimi**

Kitosan ve alginat, dikkat çeken ve birçok kullanım için kapsamlı olarak incelenen iki biyopolimerdir. Madan ve arkadaşlarının çalışmalarına göre (1997), peptidler, proteinler ve polinükleotidlerin yapılarını ve aktivitelerini sürdürdükleri ve enzimatik bozunmadan koruduğu terapötik maddelerin biyopolimerlerinde tutulması gösterilmiştir. Douglas ve Tabrizian'ın çalışmalarına göre (2005); bu polimerlerin birçoğu, özellikle hidrojel doğal olarak hidrofildir ve bu özellik, in vivo sirkülasyon sürelerine daha uzun süre katkıda bulunduğu ve suda çözünür biyomoleküllerin kapsüllenmesine olanak sağladığı için avantajlıdır.

Fundueanu ve arkadaşlarının çalışmalarına göre; kalsiyum iyonlarının varlığında ve guluronik asit kalıntıları alginatların jel oluşturmaya neden olur. Kalsiyum-alginat jel boncuklarının bu özellikleri onları kontrollü salınım sistemleri için en yaygın kullanılan taşıyıcılardan yapmaktadır. Bu boncukların kitosan dahil olmak üzere diğer polimerlerle kaplanması, depolamada istikrarını ve biyolojik sıvılardaki yarı ömrünü artırdığı gösterilmiştir.

Alginat-kitosan poliyonik kompleksleri, Alginat'ın karboksil grupları ile kitosan'ın amin grupları arasındaki etkileşimler yoluyla iyonik jelasyon yoluyla oluşur. Yan, Khor ve Kim'in çalışmalarına göre (2001); kompleks, kapsülatı korur, biyolojik olarak uyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir özelliktedir ve kapsüllü materyallerin tek başına alginat veya kitosandan daha etkili bir şekilde serbest bırakılmasını sınırlandırır. Bu iletim sisteminin diğer bir avantajı da, toksisitesiz olması ve bu ilacın terapötik bir madde olarak tekrarlanmasına izin vermesidir. De ve Robinson'un (2003); alginat-kitosan mikrokürelerini veya boncuklarını, umut verici sonuçlar veren ilaçlar, oligonükleotidler, proteinler ve hücrelerin kapsüllenmesi için geniş çapta incelemiştir. Bu sistemin cazip özelliklerine rağmen, mikron altı ölçeğinde geliştirilmesi ve uygulanması nadiren incelenmiştir. Alginat-kitosan sisteminin arzu edilen özellikleri ve demonstrasyon başarısı nedeniyle, bu sistemin mikron altı ölçeğinde geliştirilmesi ve kullanılması ve bir gen taşıyıcısı olarak kullanılması düşünülmüştür [15].

### 1.1.6.2. Alginat ve Polivinil Alkol'ün Etkileşimi

Alginat, kahverengi alglerden türetilmiştir, doğal özellikli ve 1,4-bağlı  $\beta$ -D-mannuronik asit kalıntılarından ve değişen özelliklere sahip 1,4-bağlı  $\alpha$ -L-guluronik asit kalıntılarından oluşan anyonik doğrusal bir polisakarit polimeridir (Ress and Welsh, 1997). Mannuronik asit ve guluronik asit kalıntıları arasındaki oran, elde edilen çapraz bağlanmış hidrojel elastikiyetini tamamen ayarlar (Lee ve Mooney, 2012). Alginat polimer, hidrofilik, biyouyumlu ve nispeten ekonomik bir kullanıma sahiptir, biyomedikal uygulamalarda, örn. Kim ve ark., 2008 de yara bezlerinde, Zmaro ve ark., 2001 de iskelette ve Nandini ve ark. diş veya cerrahi izlenim malzemeleri olarak denemeler yapmışlardır. Sodyum aljinat (SA), yüksek su şişme kabiliyetinden ötürü, püskürtme yapısına ana bileşen veya ilave bileşen olarak PVA polimer ile birleştirilen çoklu uygulama için araştırılan en popüler doğal polimerlerden biridir.

Kim ve ark. (2008), PVA / SA karıştırılmış polimerin çapraz bağlanması için donma eritme yöntemini kullandıkları yara pansuman amaçları için nitrofurazonu içeren PVA / alginat hidrojel kullandılar. PVA içindeki SA konsantrasyonlarının artmasının filmlerde hidrojel oluşturduğunu, PVA / SA hidrojel filmlerinin şişme kabiliyetini, elastikiyetini ve termal kararlılığını arttırdığını, buna karşın jel fraksiyonu yüzdesinde önemli azalmalar olduğunu ve PVA / SA hidrojel filminin mekanik özelliklerini bulduklarını bildirmişlerdir. Kim ve ark. Al. (2008), PVA / SA hidrojel filmlerinin biyo-değerlendirmesini gerçekleştirdiler ve SA içeriğinin artmasının, in vitro protein adsorpsiyonuna neden olduğunu ve kan bağdaşımının düşük olduğunu gösterdiler. Dahası, in vivo deneyler, sıçanlarda yara boyutunda azalma olduğunu gösterdi; PVA hidrojel filmlerine dahil edilen SA miktarına orantılı olarak daha iyi bir yara iyileştirme yeteneği olduğunu gösterdi.

Levic ve arkadaşları (2011), dondurarak eritme yöntemiyle PVA / SA'nın çapraz bağlanmasını ve ardından alginat ve  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi arasında kalsiyum iyonik etkileşimi ve bu çözeltinin gıda işleme uygulaması için kullanımı ile d-limonen kapsüllemesi için verimli bir kapsülleme matrisi oluşturdu [13].

Bazı çalışmalar boncuk biçiminde üretmek için kapsüllenmiş manyetik nanopartiküller için alginat kullanır. PVA, toksik olmayan, güvenli ve ucuz olduğu için, atık suyun ağır

metallerini çıkarmak için yaygın olarak kullanılan bir başka polimerdir. Ancak PVA aglomera olma eğilimindedir, bu nedenle PVA, aglomerasyonu azaltmak için genellikle alginat ile birleştirilir (Idris ve ark., 2008). Idris ve arkadaşlarının önceki çalışmalarında (2010,2012a, 2012b), PVA-aljinat boncuklarındaki  $\gamma$ -  $Fe_2O_3$  nanopartikülleri, Pb (II) 'yi uzaklaştırmak için adsorbent olarak kullanılmıştır. Önceki araştırmalarda çoğunluk, Cr (VI) (Idris ve arkadaşları, 2012a, 2012b), Cd (VI) ile kirlenmiş atık su dikkate alındığında PVA ve aljinat boncukları içinde  $\gamma$ - $Fe_2O_3$  nanopartiküller kullanılarak oluşturulmuş PVA-alginat boncukları kullandı (Idris ve Majidnia, 2014a, 2014b) ve Cs (I) (Majidnia ve Idris, 2015). Bununla birlikte, baryum iyonlarının tedavisinde PVA alginata gömülü  $TiO_2$  nanopartiküller ve  $\gamma$ - $Fe_2O_3$  nanopartiküllerinin kombinasyonunun kullanımı ile ilgili çalışmalar henüz araştırılmamıştır [16].

#### **1.1.6.3. Kitosan ve Polivinil Alkol'ün Etkileşimi**

Kitosan, 1-4 glikosidik bağlarla bağlanmış bir glikosamin ve N-asetil glukozamin birimlerinin bir kopolimeridir ve kitin kısmi deasetilasyonu ile türetilir. Kitosan, en bol doğal amino polisakaritlerden biridir. Kitosan, farmasötik, biyoteknolojide çeşitli uygulamalara sahiptir ve iyi bilinen bir materyaldir. Biyolojik olarak mükemmel uyumluluğa, biyolojik bozunabilirliğe, hemostatığa ve mükemmel antibakteriyel etkinliğe sahiptir. Yüksek molekül ağırlığına sahip kitosan suda çözünmez, ancak su-asetik asit çözeltisinde çözünebilir. Kitosan su-asit solüsyonundan imal edilen hidrojellerin asit fazlalığını nötralize etmek veya uzaklaştırmak için genellikle tekrarlanan bir yıkama işlemine ihtiyaç duyulur (Yang vd, 2008).

Cascone ve ark. (1999) ilk önce suda çözünür kitosanın PVA'ya karıştırılmasını açıkladı, PVA / kitosan hidrojel membranları tekrar tekrar donma-eritme döngüleri ile elde edildi. Burada, kitosan karışımının PVA / kitosan hidrojellerinin termal stabilite ve morfolojik yapı üzerindeki etkileri bildirilmiştir. Onların sonuçları, yüksek miktarlarda kitosanın PVA zarlarına dahil edilmesinin, daha az düzenli bir yapıya ve daha gözenekli bir filamentli matrise neden olan PVA kristalitlerinin biçimini bozduğunu gösterdi. Ayrıca, PVA hidrojel zarlarında kitosan ilavesi, PVA xerogel ergime sıcaklığı ve diğer termal özellikleri açıkça etkilememiştir.

Yang ve arkadaşları (2004), biyomedikal uygulamalar için PVA / kitosan hidrojel zarlarının hazırlanışını araştırdı. Bu benzersiz sentez yolu, PVA / kitosan membranlarındaki -N = C grubuna -kitosan'ın NH<sub>2</sub> grubunu dönüştürmek için PVA ve suda çözünür kitosanın farklı bölümleri arasındaki formaldehit ile muamele edilmesini takiben fiziksel karıştırılması üzerine kurulmuştur. Bu çalışma su içeriği, su buharı iletiminin ve yüklü vitamin B12'nin PVA / kitosan hidrojel zarları yoluyla geçirgenliğinin, karıştırılmış hidrojel membranlardaki kitosan içeriği ile aşamalı olarak arttığını, buna karşın PVA/kitosan bölümlerinin elde edilen karıştırılmış bileşende çok uyumlu olmadığını sergiledi. Hidrojel membranlar ve PVA/kitosan hidrojel membranlardaki kristal alan, formaldehit ile muamele edildikten sonra azaldı [13].

#### **1.1.6.4. Kitosan ve Polietilen Oksit'in Etkileşimi**

PEO ilave hidrojen bağı ve chitosan zincirlerinin daha iyi parazitlenmesini sağlayabilir ve bu da chitosan nanofiberlerin geliştirilmiş bir üretimine neden olur. Kitosan / PEO karışımı, filmler, hidrojel, nanoparçacıklar ve çoğunlukla biyomedikal amaçlar için nanofiber gibi çeşitli formlarda iyi olduğu belgelenmiştir. PEO'nun sulu sistemlerde iyi çözünürlüğü nedeniyle, PEO yıkanarak elektrospun kitosan / PEO oluşur, kitosan elyaflarının gözenekliliğini artırır [7].

#### **1.1.6.5. Kitosan ve Sitrik Asit Etkileşimi**

Kitosanın çözünmesi için sitrik asit kullanılmaktadır. Sitrik asit, yaygın olarak, uygun biyoyumluluk ve antibakteriyel aktiviteye sahip, yeşil veya toksik olmayan çözme maddesi olarak kullanılır. Düşük maliyetli ve erişilebilir materyal olarak, sitrik asit çoğunlukla gıda ambalajında, katkı maddesi olarak ve temizleme maddesi olarak kullanılır[7].

#### **1.1.7. Hidrojel Membranlar**

Kitosan, yüksek hidrofilik özelliği, iyi film oluşturma karakteri ve mükemmel kimyasal direnci olan doğal bir polimerdir. Bu sebeple membran oluşturmada geniş kullanım alanına sahiptir. Ayırma performansını yükseltmek için pek çok membran hazırlama yöntemi denenmektedir. Bunlardan bazıları yüzey modifikasyonu, karıştırma metodu,

kopolimerizasyonu ve film içine belirli bir kimyasal nakledilmesidir. Kitosan bazlı membranlar sadece organik solventlerde ki bunlar alkol, tetrahidrofuran, izopropanol, etilen glikol, suyu geri kazanma özelliği için değil aynı zamanda biyomalzemelerin pervaporasyonu, ultrafiltrasyonu ve proteinlerin adsorpsiyonu ve ayırması için geniş araştırma ve uygulama sağlanmaktadır.

Nanofiltrasyon membran için 2-hidroksipropiltrimetilamonyum kitosan ile 2,3-epoksipropiltrimetilamonyum klorid modifiye edilmiştir. Film formu poliakrinolit ile muamele edilip diizosiyanat ile çapraz bağlanarak nanofiltrasyon membran haline getirilmiştir. Membranın optimum şartları belirlenmiş ve tekli /çiftli tuzları ayırdığı belirlenmiştir.

Başka bir araştırma da mikrogözenekli poliamit membran bioksiran ile aktive edilmiş ve kitosanla bağlanarak hidrofilik ve aktif alanı genişletilmiştir. Sonuç olarak göstermiştir ki artan sıcaklıklarla adsorpsiyon kapasitesi arttırılmıştır.

Bipolar membran araştırmalarında PVA-GA-Kitosan / PVA-Fe-SA ile sentezlenmiştir. Sentezleme de PVA-Kitosan ve PVA-SA (Sodyum Alginat) için Demirkorür ve GA (gluteraldehid) çapraz bağlanma olarak kullanılmıştır. Bu çalışma ile biyopolar membranların su tutma aralığı % 25-85 olarak belirlenmiştir.

Hidrojel membranlar homojen interpolielektrolit kompleks metodu ile alginat ve kitosandan hazırlanır. Alginat ve kitosandan hazırlanan polielektrolit kompleks (PEC) membranların stabilitesi iyonik çapraz bağlanma ile artmaktadır. PVA, kitosan, karboksimetil selüloz, alginik asit gibi polimerlerle sentezlenen hidrojel membranın su tutma oranı çizelge lerde belirtildiği gibi 0.9 - 10 g water / g polimer olarak hesaplanmıştır.

Benzer biyomembran çalışmaları ile hibrid membranlar hazırlanmıştır. Hibrid membranlar ile var olan özelliklerin arttırılması hedeflenmiştir [17].

Çizelge 1.7 Farklı koşullarda hazırlanan hidrojel membranların su tutma miktarı [18]

Malzeme	Kimyasal işlem	Su tutma (g water/ g polimer)
Alginik asit	İşlem uygulanmamıştır	2.00
Karboksilmetil selüloz	30 dk. 120 <sup>0</sup> C	0.90
Kitosan	İşlem uygulanmamıştır	1.09
Polivinil alkol	60 dk. 120 <sup>0</sup> C	1.90
Polivinil alkol	30 dk. % 1 Gluteraldehit ile çapraz bağlama, 60 dk. 120 <sup>0</sup> C	1.45
*PVA/**PVAm karışımı (95/5 wt.)	İşlem uygulanmamıştır	4.02
*PVA/ **PVAm karışımı (90/10 wt.)	60 dk. 125 <sup>0</sup> C	2.30
*PVA/ **PVAm karışımı (90/10 wt.)	30 dk. 125 <sup>0</sup> C	1.82
*PVA/ **PVAm karışımı (90/10 wt.)	30 dk. 110 <sup>0</sup> C	4.28
*PVA/** PVAm karışımı (95/5 wt.)	30 dk. 110 <sup>0</sup> C	1.61
*PVA/** PVAm karışımı (85/15 wt.)	30 dk. 110 <sup>0</sup> C ve 30 dk. 115 <sup>0</sup> C	7.05
*PVA/ **PVAm karışımı (85/15 wt.)	30 dk. 125 <sup>0</sup> C	3.65
*PVA/ **PVAm karışımı (85/15 wt.)	30 dk. 120 <sup>0</sup> C	4.80
*PVA/** PVAm karışımı (75/25 wt.)	30 dk. 120 <sup>0</sup> C	10.0

\*PVA: % 99 hidroliz ile elde edildi ; \*\*PVAm: % 85 hidroliz ile elde edildi

Çizelge 1.8 Adsorban membranların su tutma oranları [19]

Membran	Maksimum Yükte Gerilim (MPa)	Su Tutma (%)
Kitosan / PVA	31.80 ± 2.5	135 ± 5
Kitosan / PVA / *MWCNT-NH <sub>2</sub> (% 0.5 wt.)	65.38 ± 1.9	172 ± 8
Kitosan / PVA / *MWCNT-NH <sub>2</sub> (% 2 wt.)	78.54 ± 2.1	220 ± 5
Kitosan / PVA / **PEG (% 1 wt.)	27.54 ± 2.5	240 ± 6
Kitosan / PVA / PEG (% 5 wt.)	14.23 ± 3.8	316 ± 10
Kitosan / PVA / PEG /*MWCNT-NH <sub>2</sub>	60.82 ± 1.9	250 ± 8

\*MWCNT-NH<sub>2</sub>: Çoklu duvar modifiyeli amino karbon nanotüp

\*\*PEG : Polietilen glikol

#### 1.1.8. D-Optimal Tasarım

Deneysel tasarımın kullanılması, çok sayıda faktörün aynı anda test edilmesini sağlar ve geleneksel adım adım yaklaşımı kullanıldığında çok sayıda bağımsız çalışmanın kullanılmasını engeller. Sistemik optimizasyon prosedürleri, hedef fonksiyon seçimi, en önemli veya katkıda bulunan faktörlerin bulunması ve tepki faktörleri ile tepki faktörleri arasındaki ilişkinin araştırılmasıyla gerçekleştirilir [20].

Genellikle, analitik bir prosedür geliştirirken, birkaç tepki aynı anda optimize edilmelidir ve farklı anayasal tepkiler için bulunan optimum deney koşulları çakışabilir. Birkaç ihtimalden iyi bir alternatif seçmeyi içeren bir karar verilmesi gerekir. Birden fazla cevabın eşzamanlı optimizasyonunu gerçekleştirmek için farklı yöntemler oluşturulmuştur. D-optimal tasarım metodolojisi gibi stratejiyi, deneysel çabayı azaltmak için kullanmak neredeyse zorunludur. D optimal tasarımlar, deney sayısının azaltılmasıyla birlikte birkaç deneysel faktörü incelemeyi mümkün kılar ve tasarımın, her bir faktör için gerekli seviyeleri ve ihtiyaç duyulan etkileşimleri bağımsız olarak ayarlayarak tasarımın her analitik problemine uyarlanmasını sağlar. D-optimal tasarımlar bu tür analitik problemleri çözmek için başarıyla kullanılmıştır [21].

### **1.1.8.1. D-Optimal Tasarım'da D-Kriteri Yöntemi**

Bu yöntemde deneyler, D-kriterine, yani bilgi matrisinin ( $X'X$ ) determinantının maksimizasyonu, burada  $X$  model matrixine dayanan D-Optimal tasarımına göre tasarlanır. D-kriterinin yerine getirilmesi, deney hacminde maksimum miktarda deney yapılmasına ve dolayısıyla maksimum bir hacmin işgal edilmesine ve deney alanının maksimum düzeyde araştırılmasına yol açar. Bu tasarım, özellikle deneysel bölge şekli düzenli olmadığında veya klasik simetrik bir tasarımla seçilen deneylerin sayısı çok büyük olduğunda yararlıdır. Deney tasarım ve hesaplamalar, özel yazılım (Moddè Umetrics) kullanılarak gerçekleştirilir [22].

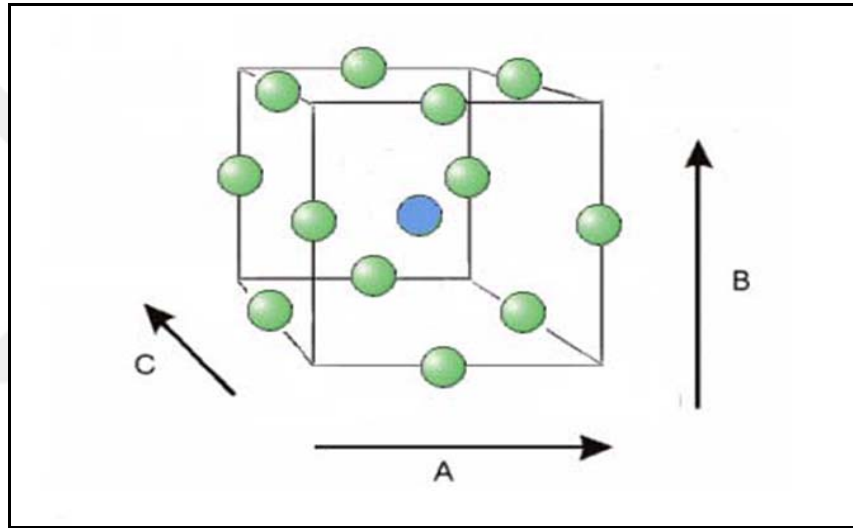
### **1.1.8.2. HPLC-FLD**

Çoklu yanıt optimizasyonuna yaklaşım için yeni bir strateji olabilecek bir yöntemdir. Geliştirilen yöntem, deneysel faktörleri ve cevapları bir araya getiren ve uygun şekilde doğrulanan modeller bir kez karmaşık yazılım algoritmalarına ihtiyaç duyulmadığından, literatürdeki diğerlerinden daha basit ve daha uygun maliyetlidir ve biyojenik aminlerin belirlenmesinde optimizasyona uygulandığında güvenilir sonuçlar vermiştir (BAs), HPLC-FLD'ye göre kılıç balığı (*Xiphias gladius*) 'dır.

### **1.1.8.3. Box-Behnken**

RSM, istatistiklerde ve çeşitli faktörlerin matematiksel optimizasyonunda uzun bir geçmişe sahiptir. İlk olarak 1951'de Box and Wilson adlı matematikçiler tarafından önerildi. Bir deterministik "deney" dizisiyle bir tepki yüzeyi uydurarak gerçek sınır durum yüzeyini taklit edebilir. RSM ile BBD, çeşitli etkileyici faktörler arasındaki ilişkiyi aynı anda düşünmekle kalmaz, aynı zamanda, çok etkili faktörlerin deneysel sonuçlarını optimize eder. BBD, çeşitli faktörler ve bağımlı değişkenin etkisi arasındaki ilişkiyi anlamak için de kullanılabilir [23]. RSM, bir faktörü değiştirmek ve aynı zamanda diğerlerini sabit tutmak için klasik bir yol, sadece enerji ve zaman alıcı olmakla kalmaz, aynı zamanda bu faktörlerin en uygun kombinasyonu ortaya koymaktan da acizdir. Bu sorunu çözmek için BBD kullanılabilir. BBD, diğer RSM tasarımıyla karşılaştırıldığında en sık kullanılan ve yüksek verimlilikte ve az deneysel çalışma gerektiren bazı avantajlar sunmaktadır [24].

Box-Behnken yöntemi üç seviyeli olup faktör ve cevap yüzeyi, sayısı artırılabilir ikinci dereceden çok değişkenli bir tasarımdır. Cevap yüzeylerinin çalışma aralıklarının maksimum ya da minimum noktalarının belirlenmesini sağlar. Faktöriyel tasarımlardan tamamen farklı olarak çalışma alanının köşe noktalarını birleştiren orta noktalar ve merkezde yapılan tekrar deneyleri kullanılarak yapılır. Box-Behnken yöntemin yararlarından biri, daha az sayıda deney gerektirmesi ve merkezi bileşik tasarımına alternatif olarak gösterilmesidir. Box-Behnken Tasarımı üç seviyeli bir tasarımdır ve kodlama -1, 0 ve +1 olarak yapılır. Tasarım için gerekli olan deney sayısı (N), k faktör sayısı ve n0 merkezde tekrarlanan deney sayısı olmak üzere,  $N = 2k(k-1) + n_0$  olarak hesaplanır [25]. Üç faktörlü Box-Behnken tasarımı Şekil 1.5'ta gösterilmiştir.



Şekil 1.5 Üç faktörlü Box-Behnken tasarımı için temsili gösterim

## 1.2. Tezin Amacı

Polimerlerin karıştırılması istenen özelliklere, düşük maliyetli, daha az zaman alan ve kolay işlenebilirliğe sahip yeni polimerik malzemelerin geliştirilmesi için etkili bir yoldur. Biyopolimer ile sentetik polimerler arasındaki karışımlar özellikle önemlidir, çünkü biyolojik uyumluluğu iyi işlenebilirlik ve mekanik direnç ile birleştirip biyomalzemeler olarak da kullanılabilirler [4].

Polimer karışımların önemi son yıllarda arzu edilen özelliklere sahip polimerik malzemelerin hazırlanması, düşük temel maliyet ve geliştirilmiş işlenebilirlik nedeniyle artmıştır. Polimerik karışımlar, homopolimer karışımları için hidrojen bağlama, dipol

dipol kuvvetleri ve yük transfer kompleksleri gibi kovalent bağlanma olmaksızın ikincil kuvvetlerle etkileşime giren yapısal olarak farklı polimerlerin veya kopolimerlerin fiziksel karışımıdır.

Yalnızca sentetik veya doğal polimerlerden elde edilen karışım malzemeleri, biyomalzemelerin tüm karmaşık taleplerini her zaman karşılayamaz [8]. Doğal polimerler biyouyumluluk, biyolojik bozunabilirlik, düşük toksisite avantajları sunarken, sentetik polimerler ayarlanabilir özelliklere sahiptir, geniş şekil yelpazesinde kalıplanabilme özelliği ve geliştirilmiş mekanik özellikler ve termal kararlılık özelliklerine sahiptir. Doğal ve sentetik polimerlerin biyo-yapay veya biyosentetik polimerik malzeme karışımları, yeni ortaya çıkmakta olan bir polimerik ağ sınıfı olarak düşünülür ve son otuz yıldan beri iyileştirilmiş mekanik ve termal özellikleri ile biyouyumluluk özelliklerine kıyasla biyomedikal uygulama için dikkat çekici bir ilgi gösterdi [26]. Biyo malzemeler olarak sentetik polimerlerin başarısı, çeşitli mekanik özelliklere, çeşitli şekillerin kolayca elde edilebilmesini sağlayan dönüştürme işlemlerine ve düşük üretim maliyetlerine dayanır. Biyolojik polimerler iyi biyouyumluluk gösterir, ancak mekanik özellikleri genellikle zayıftır. Biyolojik özelliklerin korunması gerekliliği, işlenebilirliklerini zorlaştırır ve üretim veya kurtarma maliyetleri çok yüksektir. Bu nedenle, poly (vinil alkol), poly (etilen oksit), kitosan, alginat gibi sentetik ve doğal polimerlerin karışımlarına dayanan biyolojik olarak önemli malzemeler hazırlanmıştır. Bu tezde oluşturduğumuz biyobozunabilir film ilaç kaplama, yara bezi olarak, membran olarak ve gıda kaplamalarında kullanılabilir.

Dolayısıyla, bu çalışmanın amacı, Alginat / kitosan nanopartiküllerinin en uygun hazırlama yöntemini tasarlamak için Box-Behnken metodolojisi ile hazırlanması için bir yöntemi optimize etmektir.

### **1.3. Hipotez**

Biyouyumlu hidrojeller, biyotıpta, yara iyileşmesinde, ilaç verme de, doku mühendisliğinde, çevre uygulamalarında (membran prosesleri), gıda kaplamalarında, gıda üretimi uygulamalarında olmak üzere pek çok alanda kullanılmaktadır. Hidrojeller, su içeriği yüksek olan hidrofilik polimerlerden oluşan üç boyutlu çapraz bağlı ağlardır. Yapısal olarak vücuttaki makromoleküler esaslı bileşenlere benzerlik gösterdiklerinden

hidrojeller genellikle biyolojik olarak uyumludur. Hidrojeller polimerlerin çapraz bağlanma prosesi ile elde edilebilir; bunlar, kimyasal tepkimelerle yapılabilir [27]. Van Tomme ve diğerlerinin yaptığı çalışmalara göre, 2005, son yıllarda fiziksel olarak çapraz bağlanmış jellere ihtiyaç, geleneksel kimyasal çapraz bağlama maddelerinin ve reaktiflerin kullanılmasını önlemek için potansiyel olarak arttırılmıştır.

Kitosan ve Alginat, dikkat çeken ve birçok kullanım için kapsamlı olarak incelenen iki biyopolimerdir. Alginatın, yüksek oranda saflaştırılarak hazırlanan jelleri, farelere deri altından enjekte edildiğinde önemli bir enflamatuvar tepki gözlenmemiştir [1]. Kitosan, yalancı doğal katyonik polimerdir ve benzersiz karakterinden (protein geri kazanım, çöp tohumu, topaklaştırıcılar vb.) dolayı birçok uygulama bulmaktadır. Sulu çözeltilerde çözünür olduğu için, çözelti, jel, film ve elyaf gibi farklı uygulamalarda büyük oranda kullanılır (Rinaudo vd. 2006).

Doğal polimerlerden oluşan biyofilmlerin kimyasal madde ve mekanik kararlılığı daha az olduğu için biyoyumlu sentetik polimerler eklenerek biyofilmlerin özellikleri iyileştirilir. Polietilen oksit (PEO), gıda, kozmetik, kişisel bakım ürünleri ve eczacılık alanlarında kullanım için onaylanmış az sayıdaki biyolojik olarak parçalanabilir sentetik polimerlerden biridir. Sodyum alginat üzerindeki hidroksil grupları, PEO'da ki eter oksijene bir hidrojen bağı oluşturabilir. Bu nedenle, Sodyum Alginat ile karıştırılmış uygun bir aday olarak PEO seçilebilir (Çaykara vd.2005, Bonino vd. 2011).

Polivinil alkol (PVA), çevreye uyumlu bir sentetik polimerdir. Suda çözünür ve iyi elyaf oluşturma yeteneği, biyoyumluluk, kimyasal direnç ve biyolojik bozunabilirliğe sahip bir polihidroksi polimerdir ayrıca toksisitesi olmayan, kanserojen olmayan, istisnai biyo uyumluluk, arzu edilen fiziksel özellikler ve insan dokularına benzer yüksek sulu büyük şişme kapasitesini içerdiğinden, en geniş çapta çalışılan hidrojellerin biridir. (Yang vd.2016).

Kalsiyum klorürür ( $CaCl_2$ ) pek çok uygulamada kullanılan bir kimyasaldır. Önemli bir özelliği ise birlikte kullanıldığı kimyasalların kullanılacak alan için uygunluğunu arttırmaktadır (N'Tsoukpoe vd. 2014). Olivas ve Barbosa-Canovas ve Souza'nın yaptıkları deneyde  $CaCl_2$  ile çapraz bağladıkları kitosan filminin her sonucunun diğer bileşene göre daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir.  $CaCl_2$  ile işleme alınan kitosan filmi

yüksek kalitede ve uyumlulukta polimer elde edebildiği bulunmuştur. CaCl<sub>2</sub> ile işlem görmüş kitosan ucuz, biyoyumlu ve herhangi bir başka işlem gerektirmemesi sebebiyle araştırmalar arttırılmıştır (Liu vd. 2014). Alginat için ise, Ca<sup>+2</sup> alginatı jel formuna dönüştürmede en çok kullanılan katyondur. Difüzyon modeli ile yapılan iyonik çapraz bağlama Na-Alginat jeli CaCl<sub>2</sub> banyosuna yatırılarak yapılır ve en uygun sonuçları verir (Pawar ve Edgar, 2012).

Deneysel tasarımın kullanılması, çok sayıda faktörün aynı anda test edilmesini sağlar. D-Optimal tasarımdan, Box-Behnken tasarımı (BBD), çeşitli etkileyici faktörler arasındaki ilişkiyi aynı anda düşünmekle kalmaz, aynı zamanda, çok etkili faktörlerin deneysel sonuçlarını optimize eder. BBD, çeşitli faktörler ve bağımlı değişkenin etkisi arasındaki ilişkiyi anlamak için de kullanılabilir (Guan vd. 2017).

Biomembranlar son zamanlarda sentetik membranlar yerine kullanılmak üzere çalışmaları yapılmaktadır. Sentetik membranların kullanımı sonucu çevreye zarar vermesi, doğada bozunmaması, pahalı olması vb. sorunlar sonucu kullanılması azaltılmaya çalışılmaktadır. Bunun için yapılan araştırmalar sonucunda uygun olan alginat-kitosan karışimli membranlar bulunmuştur (Bierhalz vd. 2016).

Çizelge 1.9 Biomembran sertlik(rigidity), Young Modulus, Kopma gerinimi ve uzama (%) değerleri

Membran	Sertlik (N/m)	Young Modülü (Mpa)	Kopma Gerinimi (Mpa)	Uzama (%)
*CS	22.134	907.1	12.6	67.9
***GA-PVA-*CS	5.482	214.1	8.9	47.9
**SA	20.938	1217.3	10.5	17.6
Fe-PVA-**SA	11.320	297.5	9.2	40.0

\*CS : Kitosan, \*\*SA: Sodyum alginat, \*\*\*GA: Glutaraldehit

Çizelge 1.10 Kitosan membranın sorpsiyon ve desorpsiyon değerleri [28]

<b>Membran</b>	<b>Sorpsiyon (H<sub>2</sub>O) (g/g)</b>	<b>Desorpsiyon (H<sub>2</sub>O) (g/g)</b>
C <sub>FV</sub> -A	11.4±0.3 <sup>b</sup>	8.5±1.6 <sup>a</sup>
C <sub>FL</sub> -A	11.2±0.6 <sup>b</sup>	8.1±2.5 <sup>a</sup>
C <sub>FM</sub> -A	16.1±0.4 <sup>b</sup>	8.1±1.3 <sup>a</sup>
C <sub>AN</sub> -A	2.9±0.5 <sup>a</sup>	8.3±1.9 <sup>a</sup>
C <sub>FV</sub> -A-P	32.6±6.3 <sup>b</sup>	21.2±4.3 <sup>a</sup>
C <sub>FL</sub> -A-P	36.3±0.4 <sup>b</sup>	21.5±1.3 <sup>a</sup>
C <sub>FM</sub> -A-P	33.4±3.4 <sup>b</sup>	20.7±0.2 <sup>a</sup>
C <sub>AN</sub> -A-P	13.9±1.2 <sup>b</sup>	2004±1.3 <sup>b</sup>

Çizelge 1.11 Bazı polisakkaritlerin gerilim değerleri(TS) ve kopma noktası değerleri (EB)  
[29]

<b>Film kompozisyonu</b>	<b>TS(N/mm<sup>2</sup>)</b>	<b>EB(%)</b>
Metilselüloz ve etanol karışımı (Polietilen glikol eklenmiş ve eklenmemiş hali)	25-33	29-14
Hidroksipropil metilselüloz karışımı (Gümüş nanoparçaları eklenmiş ve eklenmiş hali)	51.08-28.3	NR
Kitosan	22.2-39.6	13-73.6
Kitosan karışımı (Değişik ağırlıkta moleküller ve değişik solventler)	6.7-150.2	4.1-117.8
Kitosan karışımı (Değişik solventler ve pH'lar)	0.56-19.2	22-494.8
Kinoa-Kitosan karışımı	2.3-8.3	273-117.4
Nişasta karışımı (Plastikleştirici olarak gliserol ve ksilitol)	5.06-44.3	2.4-70.7
Patates nişastası (Gliserol eklenmiş ve eklenmemiş hali)	30-68	3-5
Tara sakızı karışımı (Plastikleştirici olarak sorbitol ve gliserol; oleik asit eklenmiş ve eklenmemiş hali)	26.8-57.4	8.5-2.7
Gliserollü tara sakızı karışımı (Kitosan eklenmiş ve eklenmemiş hali)	58.44-22.71	44-46
Gliserollü brean sakızı karışımı (Balmumu eklenmiş ve eklenmemiş hali)	1.64-7.58	8.22-4.85
Pektin karışımı (Kitosan parçaları eklenmiş ve eklenmemiş hali)	58.5-26.07	2.91-0.94
Alginat karışımı (Plastikleştirici olarak sorbitol ya da gliserol)	65.9-64.7	2.5-2.8
Alginat karışımı (Plastikleştirici olarak sorbitol ya da gliserol)	18.4-24.1	6.6-7.9
Sodyum alginat karışımı	33.6-75.8	3.4-14.0
Agar (Gümüş parçaları eklenmiş ve eklenmemiş hali)	51.5-46.38	33.02-33.64

### MATERYAL VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada Sodyum Alginat, kitosan,  $\text{CaCl}_2$ , PEO, PVA ve Asetik asit Sigma–Aldrich Chemistry (Amerika üretimli) den temin edilmiştir.

#### 2.1. Alginat'ın Hazırlanışı

Sodyum alginat çözeltisi, Mv ort. 32000-400000 g / mol, %2 (w/w) olacak şekilde saf su ile çözelti olarak hazırlanmıştır. Çözelti, mekanik karıştırıcıda 400 rpm hızda 2 saat karıştırılmıştır [30].

#### 2.2. Kitosan'ın Hazırlanışı

Kitosan çözeltisi, %5 (w/w) 1M asetik asit çözeltisinden %2 (w/w) olacak şekilde saf su ile çözelti olarak hazırlanmıştır. Çözelti mekanik karıştırıcı da 400 rpm hızında 24 saat karıştırılarak hazırlanmıştır (Guerra Nista vd 2014) [30].

#### 2.3. Polivinil Alkol'ün Hazırlanışı

PVA çözeltisi, Mv ort. 89000-98000 g / mol, %99+ hidrolize, %2 (w/w) olacak şekilde saf su ile çözelti olarak hazırlanmıştır. Çözelti, mekanik karıştırıcıda 400 rpm hızda 2 saat karıştırılmıştır.

#### 2.4. Polietilen Oksit'in Hazırlanışı

PEO çözeltisi, Mv ort. 600000 g / mol toz hali, %2 (w/w) olacak şekilde saf su ile çözelti olarak hazırlanmıştır. Çözelti, mekanik karıştırıcıda 400 rpm hızda 2 saat karıştırılmıştır.

## 2.5. Kalsiyum Klorür'ün Hazırlanışı

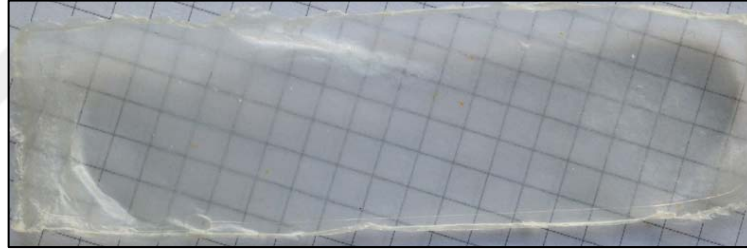
CaCl<sub>2</sub> çözeltisi, alginat miktarına göre 2 gr Alginat için % 0,4 (w/w) CaCl<sub>2</sub> çözeltisi, 4 gr Alginat için % 0,8 (w/w) CaCl<sub>2</sub> çözeltisi, 6 gr Alginat için % 1,2 (w/w) CaCl<sub>2</sub> çözeltisi olacak şekilde hazırlanmıştır.

## 2.6. Biofilmlerin Hazırlanışı

Hazırlanan çözeltilerden Box-Behnken yöntemi için belirlenen miktarlar kadar alındı ve her çözelti 2 saat 400 rpm de mekanik karıştırıcıda karıştırıldı. Hazırlanan çözelti 10cm x 4 cm kalıplara konularak 2 gün normal şartlarda kurutulmaya bırakıldı. Kuruma işlemi sonrası Alginat miktarına göre belirlenen CaCl<sub>2</sub> çözeltisi yüzdürme tekniği ile film çapraz bağlandı (Pawar ve Edgar, 2012) ve 1 gün kurutmaya bırakıldı.

Karışımlar Çizelge 2.1'de ki miktarlara göre hazırlanmıştır,

PEO sabit tutularak %2 lik çözeltiden 2gr alınmıştır,



Şekil 2.1 Hazırlanan biyofilm örneği

Çizelge 2.1 Filmler için hazırlanan çözeltilerin karışım miktarları

Deney No	Alginat miktarı (gr)	PVA miktarı (gr)	Kitosan miktarı (gr)
1	6	3	4
2	6	1	4
3	2	3	4
4	2	1	4
5	6	2	6
6	6	2	2
7	2	2	6
8	2	2	2
9	4	3	6
10	4	3	2
11	4	1	6
12	4	1	2
13	4	2	4
14	4	2	4
15	4	2	4
16	4	2	4
17	4	2	4
18	4	2	4

## BÖLÜM 3

### BULGULAR

Instron 3369 Universal Çekme Test cihazında EN ISO 527:3-1995 Standartına göre biyofilmin çekme testleri yapılmıştır. 5mm/dk hız ile çekme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çekme işlemi sonuçları deneysel tasarım sonuçları olarak Box-Behnken yönteminde incelenmiştir.



Şekil 3.1 Instron3369 Universal Çekme Test Cihazı

Box-Behnken tasarımında incelenmek üzere seçilen parametreler aşağıdaki gibidir;

A: Alginat çözeltisi (g); B: PVA çözeltisi (g); C: Kitosan çözeltisi (g)

Box-Behnken deneysel analizi kullanmak için oluşturulan faktörlerin seviyeleri Çizelge 3.1’de, analiz için oluşturulan tablo Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Box-Behnken tasarım yönteminde incelenen faktörlerin seviye değerleri

SEVİYE	Alginat Çözeltisi (g)	PVA Çözeltisi (g)	Kitosan Çözeltisi (g)
+ 1	6	3	6
0	4	2	4
- 1	2	1	2

Çizelge 3.2 Box-Behnken deneysel tasarım tablosu

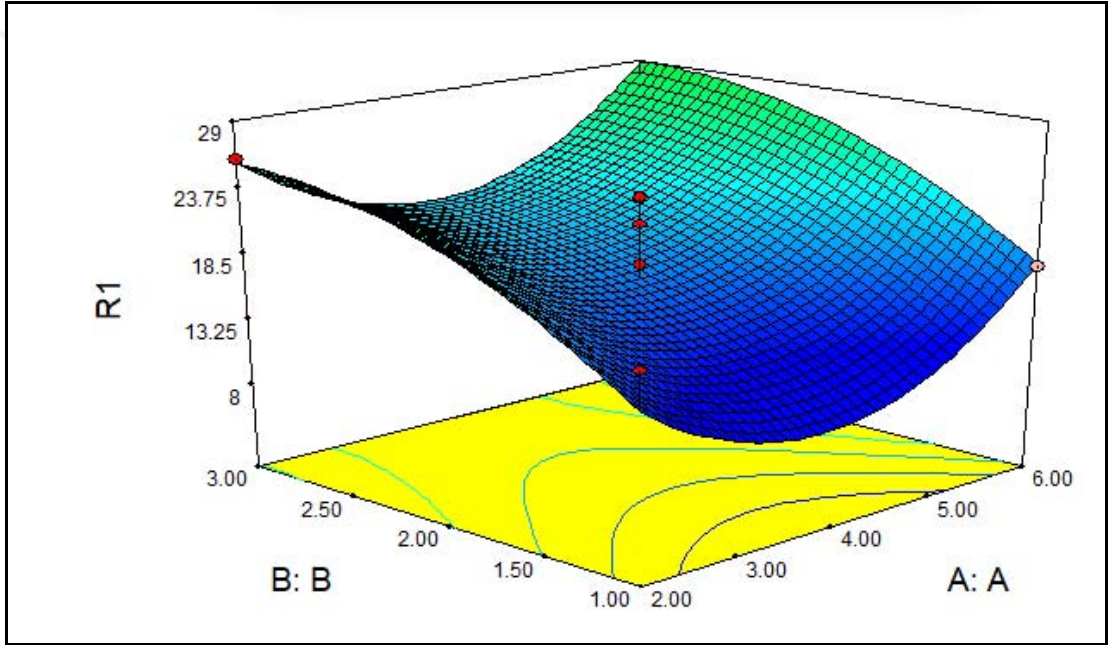
Deney No	Alginat Çözeltisi Faktör (Ağırlık(g))	PVA Çözeltisi Faktör (Ağırlık(g))	Kitosan Çözeltisi Faktör (Ağırlık(g))
1	1 (6 g)	1 (3 g)	0 (4 g)
2	1 (6 g)	-1 (1 g)	0 (4 g)
3	-1 (2 g)	1 (3 g)	0 (4 g)
4	-1 (2 g)	-1 (1 g)	0 (4 g)
5	1 (6 g)	0 (2 g)	1 (6 g)
6	1 (6 g)	0 (2 g)	-1 (2 g)
7	-1 (2 g)	0 (2 g)	1 (6 g)
8	-1 (2 g)	0 (2 g)	-1 (2 g)
9	0 (4 g)	1 (3 g)	1 (6 g)
10	0 (4 g)	1 (3 g)	-1 (2 g)
11	0 (4 g)	-1 (3 g)	1 (6 g)
12	0 (4 g)	-1 (1 g)	-1 (2 g)
13	0 (4 g)	0 (2 g)	0 (4 g)
14	0 (4 g)	0 (2 g)	0 (4 g)
15	0 (4 g)	0 (2 g)	0 (4 g)
16	0 (4 g)	0 (2 g)	0 (4 g)
17	0 (4 g)	0 (2 g)	0 (4 g)
18	0 (4 g)	0 (2 g)	0 (4 g)

Tasarım sonucu aşağıdaki R1 olarak ifade edilen Maximum gerilim yükü denklem elde edilmiştir,

$$R1 = 17.41 + (1.73 \times A) + (5.68 \times B) - (4.54 \times C) - (0.17 \times A \times B) - (6.56 \times A \times C) - (2.25 \times B \times C) + (7.11 \times A^2) - (2.83 \times B^2) + (6.58 \times C^2) \quad (3.1)$$

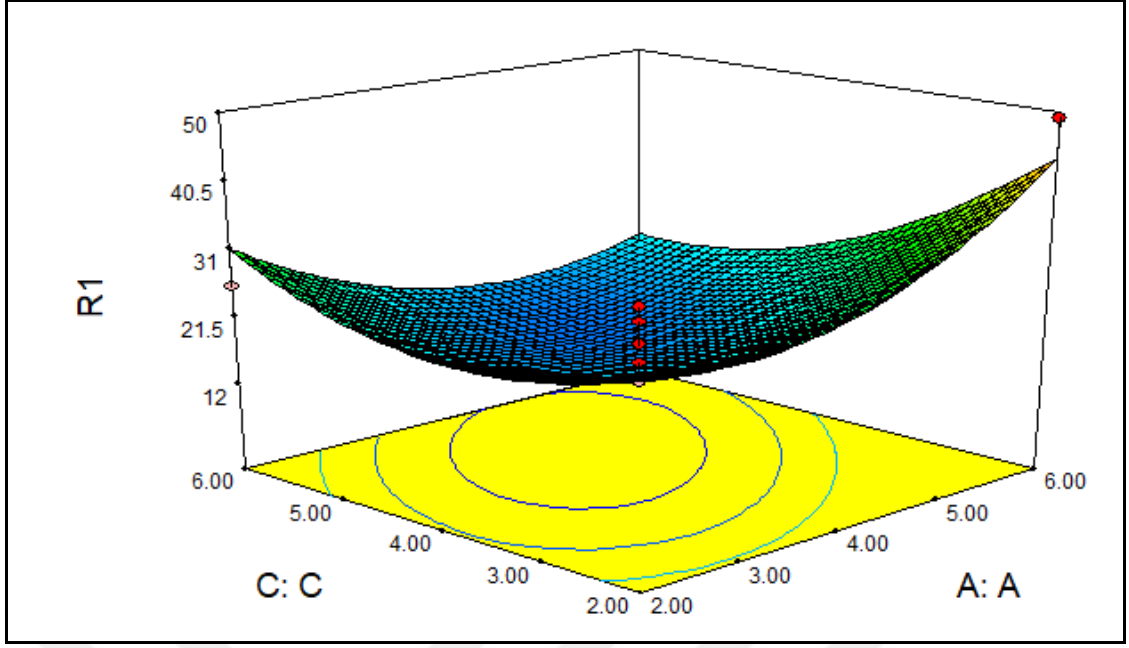
\*A: Alginat, B: PVA, C: Kitosan

Tasarım sonucu Design Expert ile R1 değeri için Şekil 3.2, Şekil 3.3 ve Şekil 3.4'de gösterildiği üzere 3D yüzeyler verilmiştir. Polimerlerin birbirleri ile etkileşim ve değişim sonuçları incelenerek alınacak optimum şartlar belirlenmiştir.



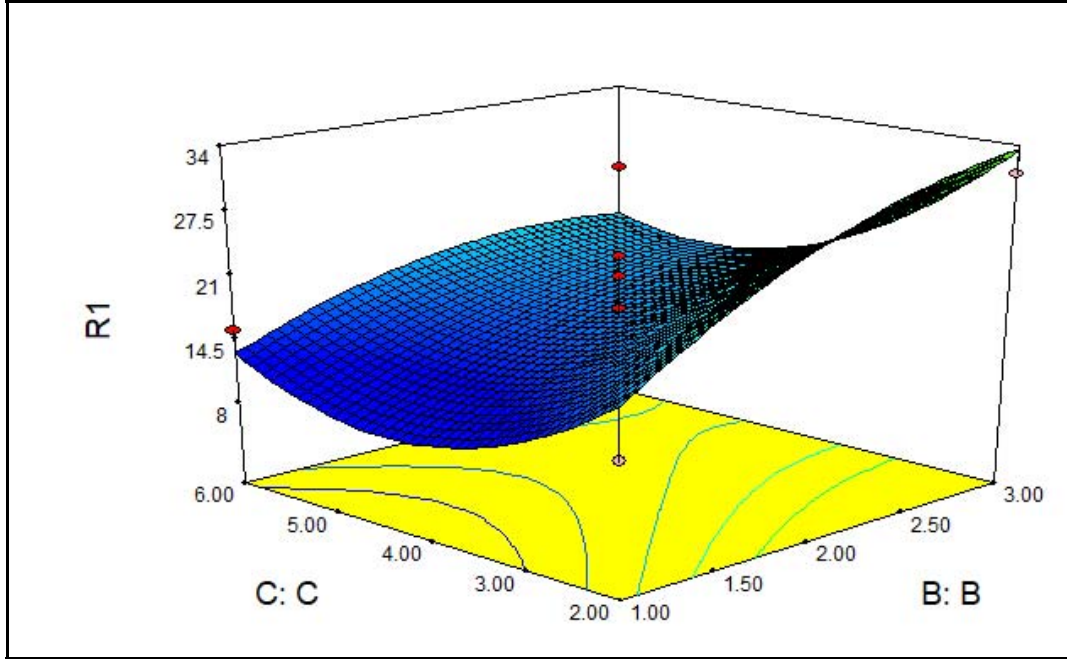
Şekil 3.2 Maksimum Gerilim Yükünün (R1) Alginat(A) ve PVA(B) bileşimi ile değişimi

Maksimum gerilim yükü (R1), PVA değerinin değişimi sonucu Kitosan değeri değişiminden daha çok etkilemiştir. En yüksek değer PVA'nın 3 gr alginatın 6 gr olduğu şartlarda belirlenmiştir.



Şekil 3.3 Maksimum Gerilim Yükünün (R1) Alginat(A) ve Kitosan(C) bileşimi ile değişimi

Maksimum gerilim yükü (R1), Alginat değerinin değişimi, sonucu kitosan değeri değişiminden daha çok etkilemiştir. En yüksek değer alginatın 6 gr kitosanın 2 gr olduğu şartlarda belirlenmiştir.



Şekil 3.4 Maksimum Gerilim Yükünün (R1) PVA(B) ve Kitosan(C) bileşimi ile değişim

Maksimum gerilim yükü (R1), PVA değerinin değişimi sonucu Kitosan değeri değişiminden daha çok etkilemiştir. En yüksek değer PVA 3 gr kitosanın 2 gr olduğu şartlarda belirlenmiştir.

Tasarım sonucu elde edilen model denklem için Varyans analizi Çizelge 3.3 'de sistemden elde edilmiş, Çizelge 3.4 'de hesaplanmıştır.

Çizelge 3.3 Box-Behnken Tasarımda elde edilen Maksimum gerilim yükü (R1) değeri için ANOVA analizi

ANOVA for Response Surface Quadratic Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares –Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Squares	F value	P value Prob>F	
Model	1098.90	9	122.10	4.24	0.0269	significant
A-A	23.93	1	23.93	0.83	0.3884	
B-B	258.29	1	258.29	8.98	0.0172	
C-C	164.53	1	164.53	5.72	0.0437	
AB	0.11	1	0.11	3.995E-0.03	0.9512	
AC	172.28	1	172.28	5.99	0.0401	
BC	20.16	1	20.16	0.70	0.4268	
A <sup>2</sup>	220.54	1	220.54	7.67	0.0243	
B <sup>2</sup>	35.06	1	35.06	1.22	0.3017	
C <sup>2</sup>	188.70	1	180.77	6.56	0.0336	
Residual	230.13	8	28.77			
Lack of fit	145.16	3	48.39	2.85	0.1446	Not significant
Pure Error	84.96	5	16.99			
Cor Total	1329.03	17				

ANOVA analizi sonucu F-anlamlılık testine uymayan terimler AB, BC ve B<sup>2</sup> terimi elendikten sonra maksimum yükte gerilim (R1) denklemi aşağıdaki gibi modifiye edilmiştir.

$$R1=16.38+(1.73*A)+(5.68*B)-(4,54*C)-(6,56*A*C)+(6,85*A^2)+(6.32*C^2) \quad (3.2)$$

\*A: Alginat, B: PVA, C: Kitosan

Çizelge 3.4 Box-Behnken Tasarımda elde edilen Maksimum gerilim yükü (R1) değeri için modifiye edilmiş ANOVA analizi

<b>ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic Model</b>						
<b>Analysis of variance table [Partial sum of squares-Type III]</b>						
<b>Source</b>	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F Value</b>	<b>p-value Prob&gt;F</b>	
Model	1043.57	6	173.93	6.70	0.0035	significant
A-A	23.93	1	23.93	0.92	0.3576	
B-B	258.29	1	258.29	9.95	0.0092	
C-C	164.53	1	164.53	6.34	0.0286	
AC	172.28	1	172.28	6.64	0.0257	
A <sup>2</sup>	206.55	1	206.55	7.96	0.0166	
C <sup>2</sup>	175.65	1	175.65	6.77	0.0246	
Residual	285.46	11	25.95			
Lack of fit	200.50	6	33.42	1.97	0.2375	Not significant
Pure Error	84.96	5	16.99			
Cor Total	1329.03	17				

Çizelge 3.5 Maksimum gerilim yükü (R1) modifiye edilmiş ANOVA analiz sonuçları

KAYNAK	SERBESTLİK DERECEŚİ	KARELERİN TOPLAMI (SS)	ORTALAMA KARE (MS)	F ORANI
MODEL	6	1043.57	173.93	6.70
KALAN	11	285.46	33.42	
TOPLAM	17	1329.03		

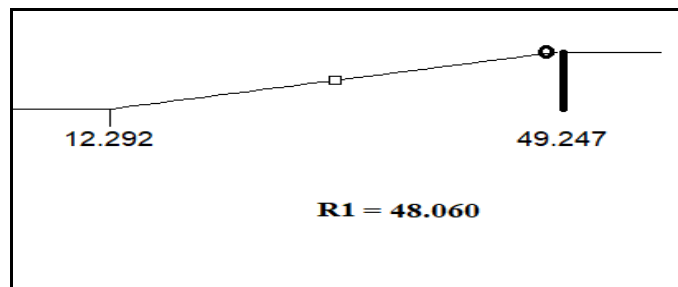
Varyans analizi sonucunda Design Expert yazılımıyla dönüşüm modelleri için hesaplanan P değeri 0.0269 bulunmuştur. P değeri % 95 önem seviyesini sağlamıştır.

F-anlamlılık testi sonrası elenen terimler ile Varyans analizi sonucu Design Expert yazılımıyla dönüşüm modelleri için hesaplanan P değeri 0.0035 bulunmuştur P değeri % 99 önem seviyesini sağlamıştır.

Box-Behnken tasarımı ile Design Expert kullanılarak optimum kriterler bulunmuştur. Desirability değerinin 0.968 olması istenen sonuçlara yaklaştığımızı belirtmektedir. Maksimum yük gerilimi (R1) için optimum koşullar Çizelge 3.6 ve Şekil 3.5'te belirtildiği üzere Alginat çözeltisi 6 g; PVA çözeltisi 3 g; Kitosan çözeltisi 2 g 'dır.

Çizelge 3.6 Maksimum gerilim yükü (R1) için seçilebilecek parametre (desirability)

Number	A	B	C	R1	Desirability	
1	<u>6.00</u>	<u>3.00</u>	<u>2.00</u>	<u>48.0606</u>	<u>0.968</u>	<u>Selected</u>
2	6.00	3.00	2.04	47.6463	0.957	
3	6.00	3.00	2.08	47.1161	0.942	
4	6.00	3.00	2.13	46.5526	0.927	
5	6.00	2.66	2.00	46.1026	0.915	
6	6.00	2.41	2.00	44.6885	0.877	
7	6.00	2.21	2.00	43.5559	0.846	
8	6.00	1.62	2.00	40.2448	0.756	



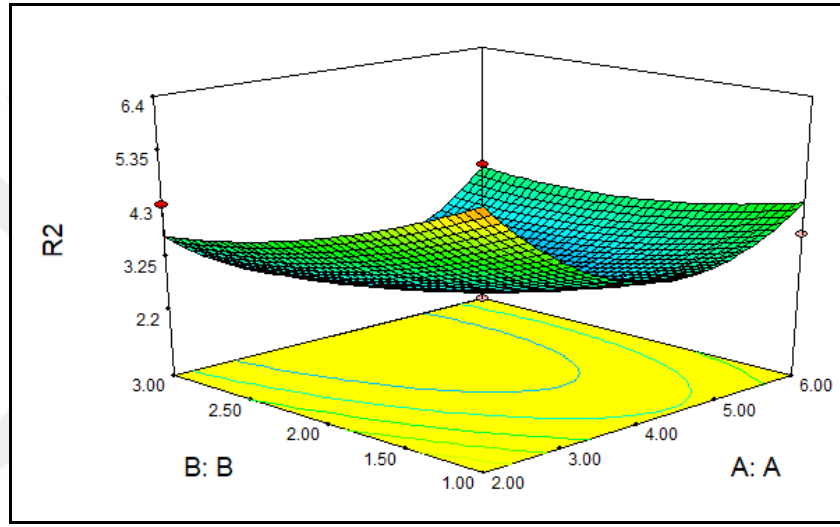
Şekil 3.5 Biyofilmde Maksimum gerilim yükü (R1) için elde edilen optimum çözüm

Tasarım sonucu aşağıdaki R2 olarak ifade edilen Maximum yükte uzama değeri denklem elde edilmiştir,

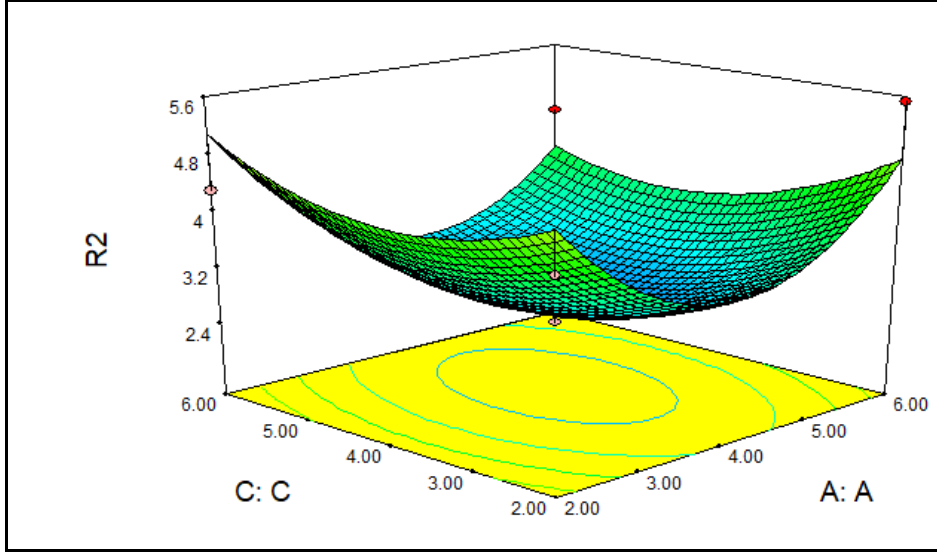
$$R2 = 2.60 - (0.28 \times A) - (0.62 \times B) - (0.11 \times C) - (0.35 \times A \times B) - (0.25 \times A \times C) - (0.91 \times B \times C) + (1.46 \times A^2) - (0.31 \times B^2) + (0.62 \times C^2) \quad (3.3)$$

\*A:Alginat, B:PVA, C: Kitosan

Tasarım sonucu, Design Expert ile R2 değeri için Şekil 3.6, Şekil 3.7 ve Şekil 3.8'de gösterildiği üzere 3D yüzeyler verilmiştir. Polimerlerin birbirleri ile etkileşimi ve değişimi sonuçları incelenerek alınacak optimum şartlar belirlenmiştir.

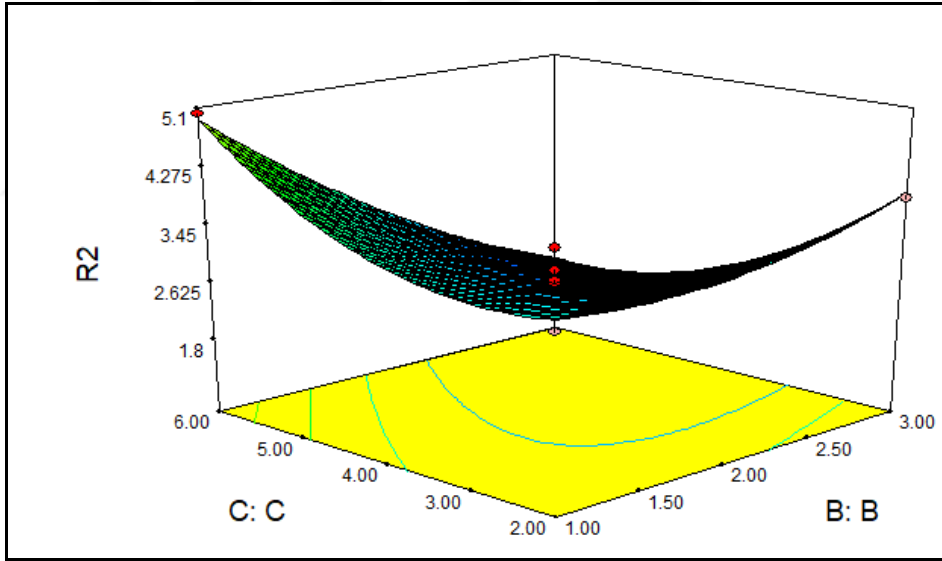


Şekil 3.6 Maksimum yükte uzamanın (R2) Alginat(A) ve PVA(B) bileşimi ile değişimi Maksimum yükte uzamanın (R2), alginat değerinin de PVA değerinde değişimi sonuca yakın değerlerde etki göstermektedir. En yüksek değer alginatın 6 gr, PVA'nın 1 gr olduğu şartlarda belirlenmiştir.



Şekil 3.7 Maksimum yükte uzamanın (R2) Alginat (A) ve Kitosan(C) bileşimi ile değişimi

Maksimum yükte uzamanın (R2), alginat değerinin de kitosan değerinde değişimi sonuca yakın değerlerde etki göstermektedir. En yüksek değer alginatın 6 gr, kitosanın 6 gr olduğu şartlarda belirlenmiştir.



Şekil 3.8 Maksimum yükte uzamanın (R2) PVA(B) ve Kitosan(C) bileşimi ile değişimi

Maksimum yükte uzamanın (R2), kitosan değerinin değişimi sonuca PVA değerinde değişimi daha fazla etki göstermektedir. En yüksek değer PVA 3 gr, kitosanın 6 gr olduğu şartlarda belirlenmiştir.

Tasarım sonucu elde edilen model denklem için Varyans analizi Çizelge 3.7 'de sistemden elde edilmiş, Çizelge 3.8 ve Çizelge 3.9 'da hesaplanmıştır.

Çizelge 3.7 Box-Behnken Tasarımda elde edilen Maksimum yükte uzama (R2) değeri için ANOVA analizi

ANOVA for Response Surface Quadratic Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares-Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob>F	
Model	20.80	9	2.31	4.77	0.0192	significant
A-A	0.62	1	0.62	1.28	0.2900	
B-B	3.06	1	3.06	6.32	0.0361	
C-C	0.089	1	0.089	0.18	0.6791	
AB	0.49	1	0.49	1.00	0.3457	
BC	3.34	1	3.34	6.89	0.0305	
A <sup>2</sup>	9.31	1	9.31	19.22	0.0023	
B <sup>2</sup>	0.41	1	0.41	0.85	0.3822	
C <sup>2</sup>	1.65	1	1.65	3.41	0.1022	
Residual	3.88	8	0.48			
Lack of fit	3.75	3	1.25	51.50	0.0004	Significant
Pure Error	0.12	5	0.024			
Cor Total	24.68	17				

Çizelge 3.8 Maksimum yükte uzama (R2) ANOVA analiz sonuçları

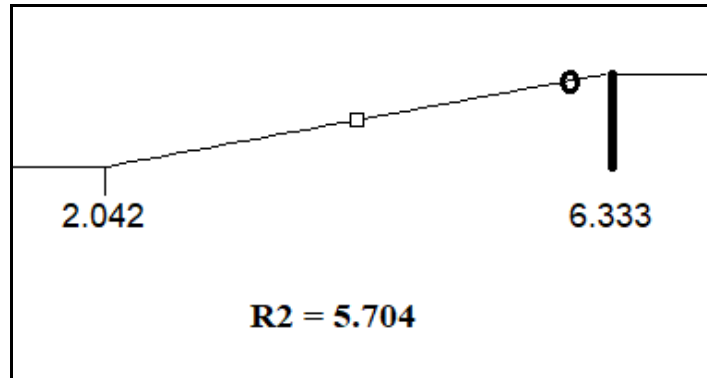
KAYNAK	SERBESTLİK DERECESESİ	KARELERİN TOPLAMI (SS)	ORTALAMA KARE (MS)	F ORANI
MODEL	9	20.80	2.31	4.77
KALAN	8	3.88	0.48	
TOPLAM	17	24.68		

Varyans analizi sonucunda Design Expert yazılımıyla dönüşüm modelleri için hesaplanan P değeri 0.0192 bulunmuştur. P değeri % 95 önem seviyesini sağladığı için modelde herhangi bir değişikliğe gidilmemiştir.

Box-Behnken tasarımı ile Design Expert kullanılarak optimum kriterler bulunmuştur. Desirability değerinin 0,909 olması istenen sonuçlara yaklaştığımızı belirtmektedir. Maksimum yükte uzama (R2) için optimum koşullar Çizelge 3.8 ve Şekil 3.9'da belirtildiği üzere Alginat çözeltisi 6 g; PVA çözeltisi 3 g; Kitosan çözeltisi 2 g 'dır.

Çizelge 3.9 Maksimum yükte uzama (R2) seçilebilecek parametre (desirability)

Number	A	B	C	R1	R2	Desirability	
1	6.00	3.00	2.00	48.0602	5.7049	0.909	Selected
2	6.00	2.99	2.00	47.9637	5.6882	0.906	
3	6.00	2.97	2.00	47.8647	5.6620	0.901	
4	5.95	3.00	2.00	47.5277	5.6267	0.892	
5	6.00	3.00	2.07	47.2894	5.6237	0.889	
6	6.00	3.00	2.10	46.9224	5.5850	0.880	
7	5.90	3.00	2.00	47.0183	5.5524	0.877	



Şekil 3.9 Biyofilmde Maksimum yükte uzama (R2) için elde edilen optimum çözüm

Çizelge 3.10 Maksimum Gerilim Yükü (R1) ve Maksimum yükte uzama (R2) deneysel değerlerin teorik formüle uygulanma sonuçları

	Alg. Çöz.	PVA Çöz.	Kito. Çöz.	R1 (MPa)	R1 Den. Ort.	R1 Mod. Ort.	R2 (mm/mm)	R2 Den. Ort.	R2 Mod. Ort.
1	1	1	0	25.921	21.822	21.458	3.104	3.765	3.307
2	1	-1	0	17.640			3.729		
3	-1	1	0	14.194			4.958		
4	-1	-1	0	17.115			6.333		
5	1	0	1	19.680			4.604		
6	1	0	-1	49.247			5.541		
7	-1	0	1	26.074			4.313		
8	-1	0	1	29.390			4.250		
9	0	1	1	25.114			2.042		
10	0	1	-1	31.303			5.046		
11	0	-1	1	19.985			4.542		
12	0	-1	-1	12.704			3.187		
13	0	0	0	13.954			3.479		
14	0	0	0	23.113			2.417		
15	0	0	0	16.316			2.667		
16	0	0	0	17.791			2.667		
17	0	0	0	12.239			2.270		
18	0	0	0	21.010			2.625		

Alg. Çöz.: Alginat Çözeltilisi, PVA Çöz. : PVA Çözeltilisi, Kito. Çöz. : Kitosan Çözeltilisi,

R1: (Maks. Gerilim Yüğü ) (MPa), R1 Den. Ort.: R1 Deneysel Ortalama, R1 Mod. Ort.: R1 Model Ortalama

R2:(Maks. Yükte uzama) (mm/mm), R2 Den. Ort.:R2 Deneysel Ortalama, R2 Mod. Ort.:R2 Model Ortalama

### 3.1. Biofilmin sorpsiyon ve desorpsiyon bulguları

Alınan sonuçlar sonrası 6, 8, 10 ve 13 nolu numunelere sorpsiyon deneyi uygulanmıştır.

Distile edilmiş suda üç gün bekletilen numunelerin su sorpsiyonu/desorpsiyonu Çizelge

3.11'de verilmiştir.

Çizelge 3.11 Bazı numunelerin sorpsiyon/desorpsiyon değerleri

	6. Numune (g)	8. Numune (g)	10. Numune (g)	13. Numune(g)
Kuru film	0,0279	0,0270	0,0325	0,0267
Distile suda bekleme (2 saat)	0,1673	0,1660	0,2323	0,2120
Distile suda bekleme (1 gün)	0,1693	0,1685	0,2353	0,2172
Distile suda bekleme (3 gün)	0,1705	0,1700	0,2368	0,2233
Tekrar kurutulan film	0,0282	0,0302	0,0334	0,0283
Sorpsiyon (%)	<b>511,1111</b>	<b>529,6296</b>	<b>628,6154</b>	<b>736,3296</b>
Desorpsiyon (%)	<b>504,6099</b>	<b>462,9139</b>	<b>608,9820</b>	<b>689,0459</b>

Literatürde yapılan membran için yapılan sorpsiyon ve desorpsiyon sonuçları ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Biyopolimer matriksi olarak alginat, kitosan, PVA ve PEO (sabit) olarak kullanılmıştır. Biyopolimer matriksi, alginatın doğal olarak hidrojel özelliği, PVA'nın film koruma ve elastik özelliği, kitosanın doğal polimerinin antibakteriyel özelliği birleştirilerek farklı, yeni uygulama alanlarında kullanılması amaçlanmıştır. Biomembran ve gıda ambalajı için kaplama olmak üzere değerlendirilmesi için farklı bileşimlerde film elde edildi. Biyopolimer matriksinin maksimum gerilim yükü, maksimum yükte uzama değerleri sonuç değerler olarak tespit edildi.

Design Expert 7.0.0 programı kullanılarak uygulanan üç faktörlü Box-Behnken tasarım yöntemi kullanılmıştır. Alginattan (% 2 çözelti) ağırlıkça 2, 4, 6 gr; PVA'dan (% 2 çözelti) ağırlıkça 1, 2, 3 gr; kitosandan (% 2 çözelti) ağırlıkça 2, 4, 6 gr ve sabit olarak PEO'dan (% 2 çözelti) ağırlıkça 2 gr alınarak deneyler hazırlanmıştır. Faktör değişkenlerinden biyopolimer matriksinin Maksimum gerilim değeri (R1) (MPa) 12.292-49.247; Maksimum yükte uzama (R2) (mm/mm) 2.042-6.333 değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Elde edilen cevap yüzeyi ile bağımsız değişkenler arasında elde edilen grafikler ile cevap yüzeyi denklemi incelendiğinde; Maksimum Gerilim yükü (R1) için en etkili bağımsız değişkenin PVA ağırlığı olduğu, ikinci önemli parametrenin alginat olduğu ve kitosan ağırlık parametresinin etkisinin çok az olduğu belirlendi.

Elde edilen cevap yüzeyi ile bağımsız değişkenler arasında elde edilen grafikler ile cevap yüzeyi denklemi incelendiğinde; Maksimum Gerilim yükünde uzama (R2) için en etkili bağımsız değişkenin Alginat ağırlığı olduğu, ikinci önemli parametrenin PVA olduğu ve kitosan ağırlık parametresinin PVA ağırlık parametresine yakın sonuç

gösterdiği gözlemlenmiştir. Kitosanın yüksek konsantrasyonlarda diğer polimer ile homojenliği arttırdığı ve uzamaya etkisinin çekme gerilimine etkisinden fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Sodyum alginat karışımları için Çizelge 1.11'Deki literatürlerde belirtildiği üzere Maksimum yükte gerilim (R1) değeri 33.6-75.8 arasında; Maksimum yükte uzama (R2) değeri 3.44-14.0 arasındadır. İçerisinde gliserol gibi solventler olan Alginat karışımları için Maksimum yükte gerilim (R1) değeri 18.4-24.1; Maksimum yükte uzama (R2) değeri 6.6-7.9 değerleri arasındadır. Kitosan karışımları için Maksimum yükte gerilim (R1) değeri 6.7-150.2; Maksimum yükte uzama (R2) değeri 4.1-117.8 değerleri arasındadır. Biyofilmimizde kullanılan karışım Alginat-Kitosan gibi doğal polimer bazlı olmasının yanında PEO ve PVA gibi doğayla uyumlu sentetik polimerlerden oluşmuştur. Bu sebeple Maksimum yükte gerilim (R1) değeri 12.247-49.247 olarak; Maksimum yükte uzama (R2) değeri 2.042-6.333 bulunmuştur. Literatürde belirtildiği gibi sonuçlar verilen değerler arasındadır.

Biyofilmimizin Box-Behnken tasarım metoduna göre değişken parametreler ile Maksimum Yükte gerilim (R1) optimizasyonu için bileşim değeri 48.060, bileşenlerin optimum değeri sırasıyla Alginat çözeltisi 6 g; PVA çözeltisi 3 g; Kitosan çözeltisi 2 g 'dır. Deney-Model doğruluk oranı % 97.168'dir. Maksimum yükte uzama (R2) optimizasyonu için bileşim değeri 5.704, bileşenlerin optimum değeri sırasıyla Alginat çözeltisi 6 g; PVA çözeltisi 3 g; Kitosan çözeltisi 2 g 'dır. Deney-Model doğruluk oranı % 97.835'dir. Deney-Model doğruluk oranı % 95 önem seviyesi seçilmiştir. Bu sebeple tasarım sonucu sağlanan doğruluk oranı yeterlidir.

Biomembran olarak kullanılabilirliği için 6, 8, 10 ve 13 nolu deney numuneleri seçildi. Seçilen deney numuneleri R1 ve R2 değerlerinde maksimum, minimum ve orta değerli olmaları gözönüne alınmıştır. Çizelge 1.6 ve Çizelge 1.7 de belirtildiği üzere hidrojel membranların su tutma oranları 0.90-10 g su /g polimerdir. Deneyimizde g başına polimerin su tutma oranı 5-7 kat aralığında değişmektedir. Bu sebeple numunelerin sorpsiyon ve desorpsiyon bulguları incelendiğinde 6, 8, 10 ve 13 numaraları deneylerin hepsinin membran olarak kullanılması uygun olduğu tespit edildi. 13 numaralı deney sorpsiyon ve desorpsiyon olarak diğer numunelerden daha yüksek değere sahiptir fakat

sorpsiyon ve desorpsiyon oranı olarak 10 numaralı numunenin diğer numunelerden daha uygun olduğu belirlendi.



## KAYNAKLAR

---

- [1] Lee, K. Y. ve Mooney, D. J., (2011). "Alginate: Properties and biomedical applications", *Progress in Polymer Science*, 37:106-126.
- [2] Pawar, S. N. ve Edgar, K. J., (2012). "Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications", *Biomaterials*, 33: 3279-3305.
- [3] Rinaudo, M., (2006). "Chitin and Chitosan: Properties and applications", *Progress in Polymer Science*, 31:603-632.
- [4] Jagadish, R. S. ve Raj, B., (2011). "Properties and sorption studies of polyethylene oxidestarch blended films", *Food Hydrocolloids*, 25: 1572-158.
- [5] Bostan, M. S., Mutlu, E. S., Kazak, H., Keskin, S. S., Oner, E. T. ve Eroglu, M. S., (2013). "Comprehensive characterization of chitosan/ PEO/ levan ternary blend films", *Carbohydrate Polymers*, 102:993-1000.
- [6] Fouda, M. M. G., El-Aassar, M. R. ve Al-Deyab, S. S., (2012). "Antimicrobial activity of carboxymethyl chitosan/polyethylene oxide nanofibers embedded silver nanoparticles", *Carbohydrate Polymers*, 92:1012-1017.
- [7] Grkovic, M., Stajanovic, D. B., Pavlovic, V. B., Rajilic-Stojanovic, M., Bjelovic, M. ve Uskokovic, P. S., (2017). "Improvement of mechanical properties and antibacterial activity of crosslinked electrospun chitosan/poly(ethylene oxide) nanofibers", *Composites*, 121:58-67.
- [8] Çaykaya, T., Demirci, S., Eroğlu, M. S. ve Güven, O., (2005). "Poly(ethylene oxide) and its blends with sodium alginate", *Polymer*, 46:10750-10757.
- [9] Yang, J. M., Yang, J. H., Tsou, S. C., Ding, C. H., Hsu, C. C., Yang, K. C., Yang, C. C., Chen, K. S., Chen, S. W. ve Wang, J. S., (2016). "Cell proliferation on PVA/sodium alginate and PVA/poly ( $\gamma$ -glutamic acid) electrospun fiber", *Material Science and Engineering*, 66: 170-177.
- [10] Zain, N. A. M., Suhaimi, M. S. ve Idris, A., (2011). "Development and modification of PVA-alginate as a suitable immobilization matrix", *Process Biochemistry*, 46:2122-2129.
- [11] Islam, Md. S. ve Karim, M. R., (2010). "Fabrication and characterization of poly (vinyl alcohol) /alginate blend nanofibers by electrospinning method", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 366: 135-140.

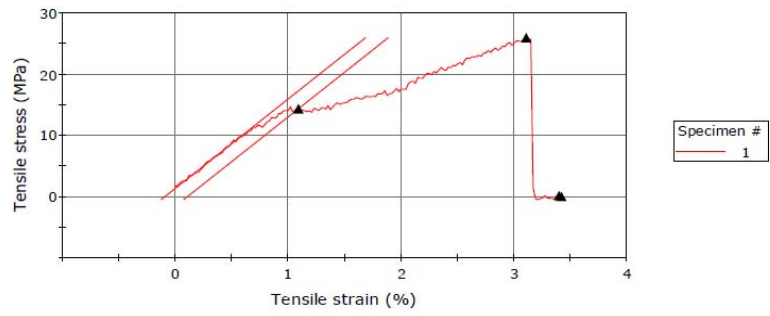
- [12] Hennick, W.E. ve Nostrum, C.F., (2001). "Novel crosslinking methods to design hydrogels", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64:223-236.
- [13] Kamoun, E.A., Chen, X., Eldin, M.S.M ve Kenawy, E. S., (2014). "Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing application: A review of remarkably blended polymers", *Arabian Journal of Chemistry*, 8:1-14.
- [14] N'Tsoukpoe, K. E., Rammelberg, H. U., Lele, A. F., Korhammer, K., Watts, B. A., Schmidt, T. ve Ruck, W. K. L., (2014). "A review on the use of calcium chloride in applied thermal engineering", *Applied Thermal Engineering*, 75:513-531.
- [15] Gazori, T., Khoshayand, M. R., Azizi, E., Yazdizade, P., Nomani, A. ve Haririan, I., (2009). "Evaluation of Alginate/Chitosan nanoparticles as antisense delivery vector: Formulation, optimization and in vitro characterization", *Carbohydrate Polymers*, 77:599-606.
- [16] Majidnia, Z., Idris, A., Majid, M., Zin, R. ve Pnraj, M., (2015). "Efficiency of barium removal from radioactive waste water using the combination of maghemite and titania nanoparticles in PVA and alginate beads", *Applied Radiation and Isotopes*, 105:105-113.
- [17] Honarkar, H. ve Barikani, M., (2009). "Applications of biopolymers I: chitosan", *Monatsh Chem*, 140:1403-1420.
- [18] Liu, L., Chakma, A. ve Feng, X., (2007). "Gas permeation through water-swollen hydrogel membranes", *Journal of Membrane Science*, 310:66-75.
- [19] Salehi, E., Madaeni, S., Rajabi, L., Derakhshan, A., Daraei, S. ve Vatanpour, V., (2013). "Static and dynamic adsorption of copper ions on chitosan/poly(vinyl alcohol) thin adsorptive membranes: Combined effect of polyethylene glycol and aminated multi-walled carbon nanotubes", *Chemical Engineering Journal*, 215-216:791-801.
- [20] Motwani, S. K., Chopra, S., Talegaonkar, S., Kohli, K., Ahmad, F. J. ve Khar, R. K., (2007). "Chitosan-sodium alginate nanoparticles as submicroscopic reservoirs for ocular delivery: Formulation, optimization and in vitro characterisation", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68:513-525.
- [21] Herrero, A., Sanllorente, S., Reguera, C., Ortiz, M. C. ve Sarabia, L. A., (2016). "A new multiresponse optimization approach in combination with a D-optimal experimental design for the determination of biogenic amines in fish by HPLC-FLD", *Analytica Chimica Acta*, 945: 31-38.
- [22] Salvo, P., Smajda, R., Dini, V., Saxby, C., Voirin, G., Romanelli, M. ve Francesco, D. D., (2016). "A D-optimal design to model the performances of dressing and devices for negative pressure wound therapy", *Journal of Tissue Viability*, 25: 83-90.
- [23] Guan S., Deng, F., Huang, S., Liu, S., Ai, L. ve She, P., (2017). "Optimization of magnetic field-assisted ultrasonication for the disintegration of waste activated sludge using Box-Behnken design with response surface methodology", *Ultrasonics Sonochemistry*, 38: 9-18.

- [24] Oladipo, A. A., Gazi, M. ve Yilmaz, E., (2015). "Single and binary adsorption of azo and anthraquinone dyes by chitosan-based hydrogel: Selectivity factor and Box-Behnken process design", *Chemical Engineering Research and Design*, 104: 264-279.
- [25] Khajeh, M., (2009). "Application of Box-Behnken Design in the Optimization of a Magnetic Nanoparticle Procedure for Zinc Determination in Analytical Samples by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry", *Journal of Hazardous Materials*, 172:385-389.
- [26] Anwar, H., Ahmad, M., Minhas, M. U. ve Rehmani, S., (2017). "Alginate-polyvinyl alcohol based interpenetrating polymer network for prolonged drug therapy", *Optimization and in-vitro characterization, Carbohydrate Polymers*, 166: 183-194.
- [27] Liu, X., Ren, J.,Zhu, Y., Han, W., Xuan, H. ve Ge, L. (2014). "The preservation effect of ascorbic acid and calcium chloride modified chitosan coating on fresh-cut apples at room temperature", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 502:102-106.
- [28] Bierhalz, A. C. K., Westin, C.B. ve Moreas, A. M., (2016). "Comparison of the properties of membranes produced with alginate and chitosa from mushroom and from shrimp", *International Journal of Biological Macromolecules*, 91:496-504.
- [29] Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A. ve Vázquez, M., (2016). "Polysaccharide-based films and coating for food packaging: A review", *Food Hydrocolloids*, 68:2-14.
- [29] Nista, S. V.G., Bettini, J. ve Mei, L. H. I., (2015). "Coaxial nanofibers of chitosan-alginate-PEO polycomplex obtained by electrospinning", *Carbohydrate Polymer*, 127:222-228.

## BİOFİMLERİN ÇEKME DENEYLERİ

### Biofilm 1

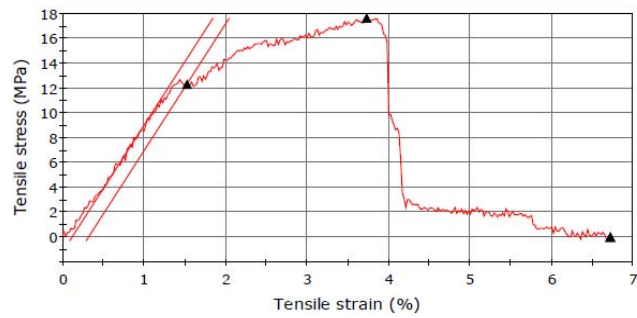
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.09257	25.92134	3.41672
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	14.34668	1.09168	25.92134
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.03104	1.24169	12.71442
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.45911	0.03395	9.81000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.05000	40.00000	

## Biofilm 2

Specimen 1 to 1

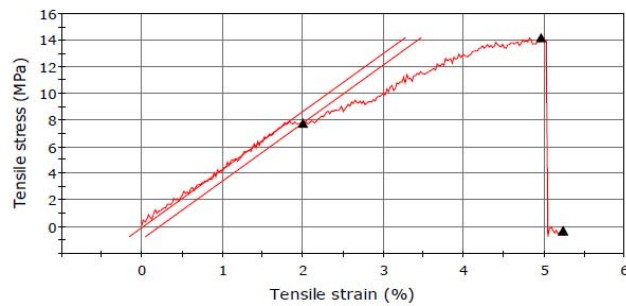


Specimen #  
1

	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.02982	17.64091	6.71453
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	12.32757	1.52467	17.64091
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.03729	1.49156	10.40461
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.01837	0.06715	9.83000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.06000	40.00000	

## Biofilm 3

Specimen 1 to 1

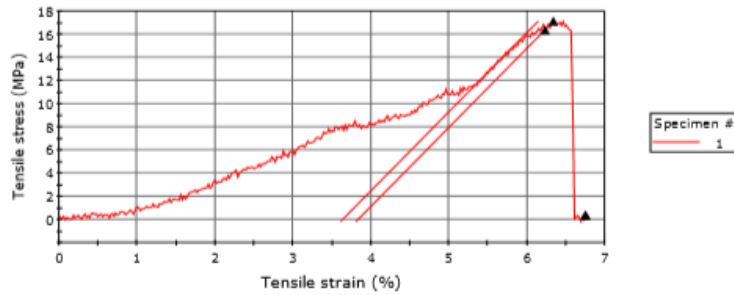


Specimen #  
1

	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	-0.20329	14.19432	5.23328
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	7.80076	2.00012	14.19432
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.04958	1.98331	11.29868
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	0.43446	0.05229	9.95000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.08000	40.00000	

## Biofilm 4

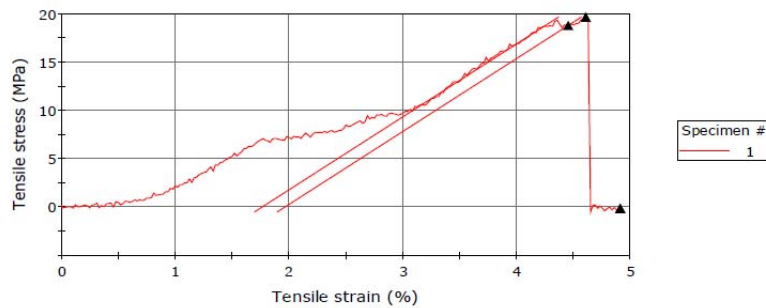
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.29409	17.11547	6.74594
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	16.35602	6.22823	17.11547
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.06333	2.53337	11.70527
	Modulus (Automatic Young's (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	0.68083	0.06746	9.77000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.07000	40.00000	

## Biofilm 5

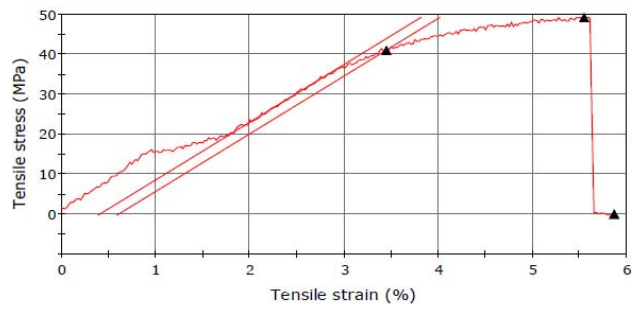
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	-0.06871	19.68019	4.90609
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	18.79565	4.44937	19.68019
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.04604	1.84169	15.44501
	Modulus (Automatic Young's (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	0.75411	0.04906	9.81000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.08000	40.00000	

## Biofilm 6

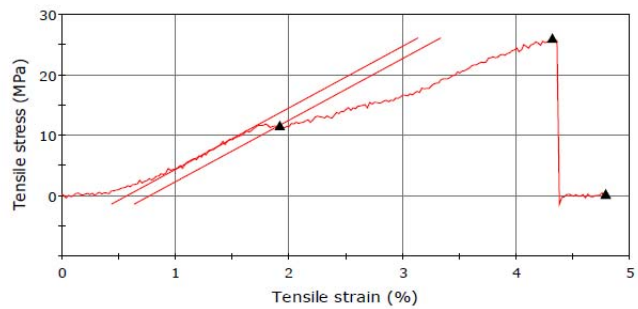
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.02376	49.24741	5.85969
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	41.02760	3.44600	49.24741
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.05541	2.21656	19.34438
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.44492	0.05860	9.82000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.04000	40.00000	

## Biofilm 7

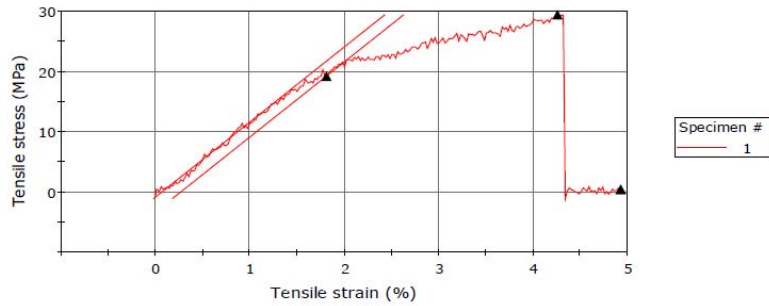
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.17387	26.07446	4.78250
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	11.65843	1.91772	26.07446
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.04313	1.72506	12.94597
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.01817	0.04782	9.93000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.05000	40.00000	

## Biofilm 8

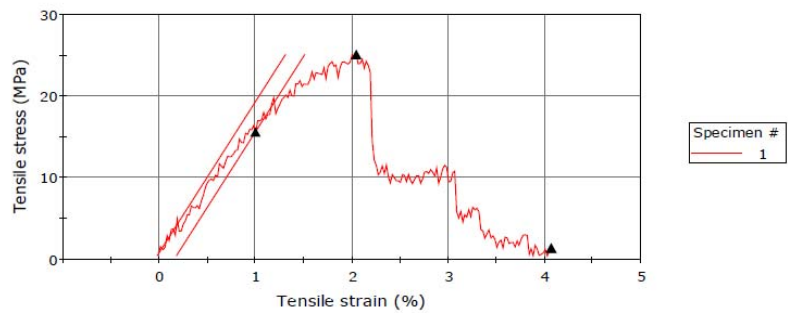
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.13215	29.39060	4.91844
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	19.20107	1.80927	29.39060
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.04250	1.70019	8.43804
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.24572	0.04918	9.57000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.03000	40.00000	

## Biofilm 9

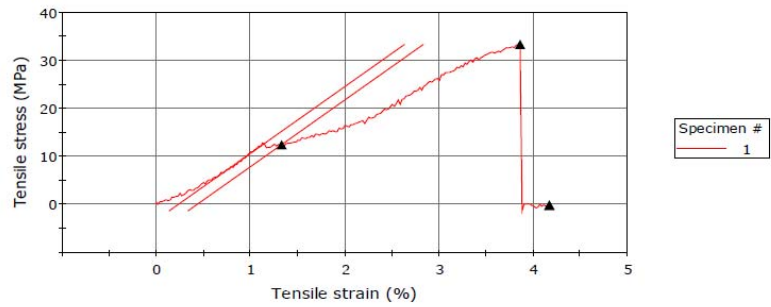
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.29768	25.11402	4.06203
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	15.62554	0.99688	25.11402
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.02042	0.81675	5.16344
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.84770	0.04062	10.28000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.02000	40.00000	

## Biofilm 10

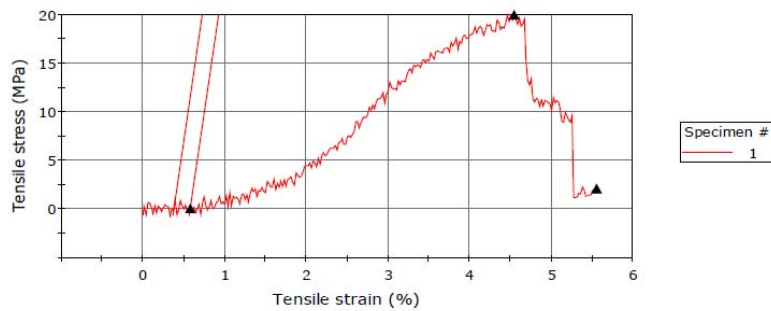
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.01785	31.30300	4.16297
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	12.52953	1.32766	33.34736
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.05046	1.54162	15.97339
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.38528	0.04163	9.58000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.05000	40.00000	

## Biofilm 11

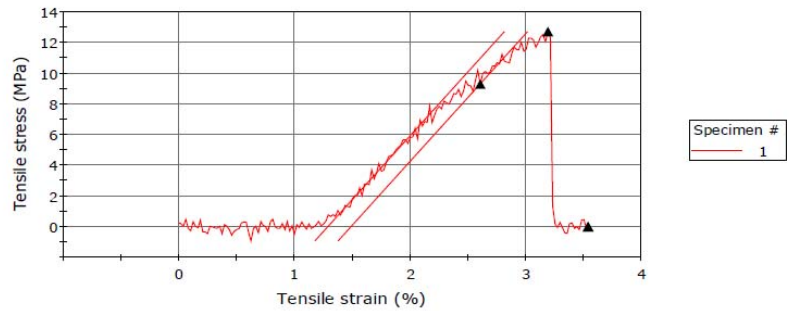
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.60130	19.98587	5.54922
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	0.13425	0.57988	19.98587
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.04542	1.81667	5.54608
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	5.73299	0.05549	9.25000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.03000	40.00000	

## Biofilm 12

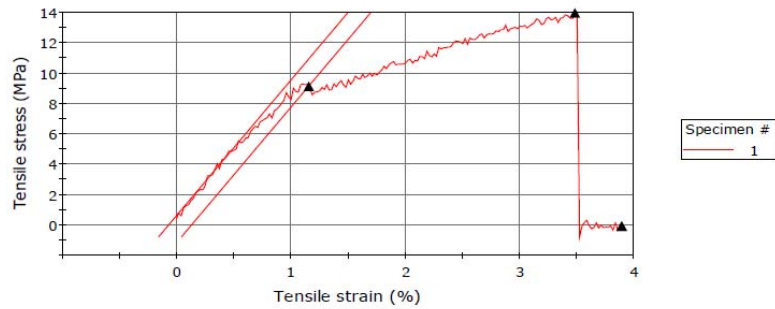
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.00597	12.70442	3.53516
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	9.29329	2.60332	12.70442
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.03187	1.27494	4.81751
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	0.83183	0.03535	9.48000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.04000	40.00000	

## Biofilm 13

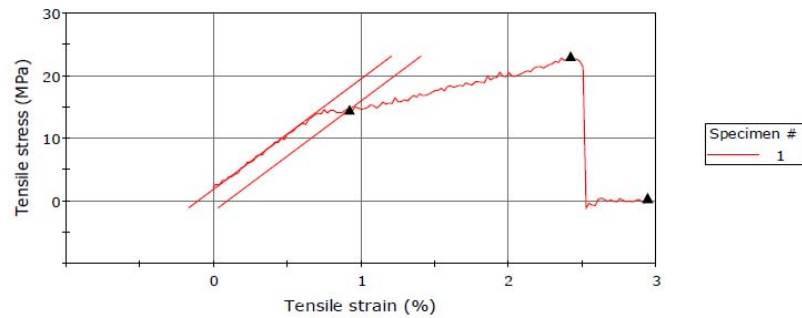
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	-0.04081	13.95424	3.88828
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	9.13955	1.15411	13.95424
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.03479	1.39175	9.43586
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	0.89131	0.03888	9.66000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.07000	40.00000	

## Biofilm 14

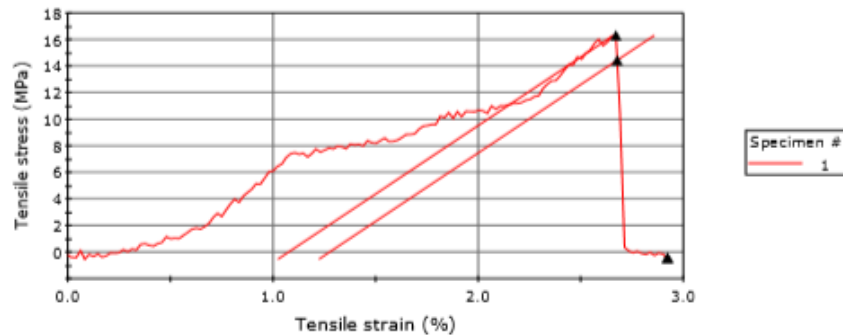
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.21203	23.11367	2.93828
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	14.57304	0.92058	23.11367
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.02417	0.96662	9.12528
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.76123	0.02937	9.87000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.04000	40.00000	

## Biofilm 15

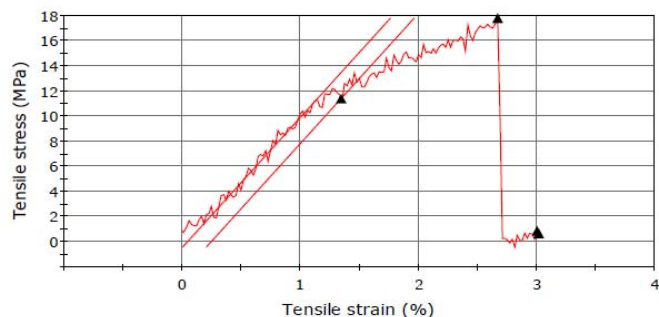
Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	-0.24563	16.31638	2.91828
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	14.45240	2.67324	16.31638
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.02667	1.06675	10.94177
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.02859	0.02918	9.58000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.07000	40.00000	

## Biofilm 16

### Specimen 1 to 1

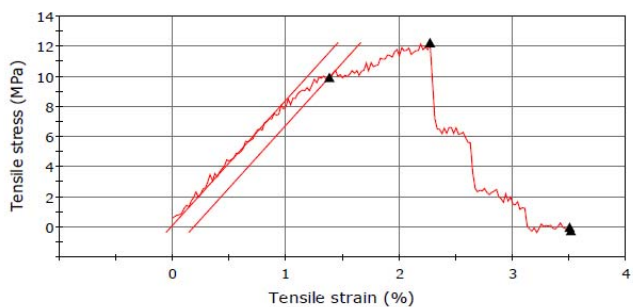


Specimen #  
1

	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.26047	17.79136	3.01406
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	11.39065	1.34574	17.79136
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm) 0.02667	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1		1.06681	5.12925
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.03470	0.03000	9.61000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.03000	40.00000	

## Biofilm 17

### Specimen 1 to 1

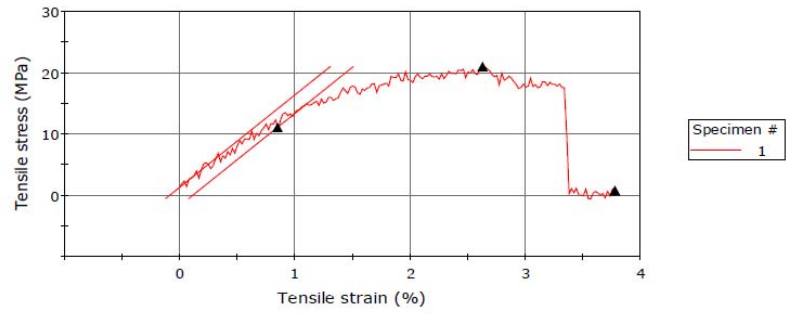


Specimen #  
1

	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.00124	12.23951	3.50969
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	9.93603	1.38344	12.23951
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm) 0.02270	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1		0.90819	8.08787
	Modulus (Automatic Young's) (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	0.82989	0.03500	9.44000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.07000	40.00000	

# Biofilm 18

Specimen 1 to 1



	Load at Break (Standard) (N)	Maximum Tensile stress (MPa)	Maximum Tensile strain (%)
1	0.16552	21.01056	3.77234
	Tensile stress at Yield (Offset 0.2 %) (MPa)	Tensile strain at Yield (Offset 0.2 %) (%)	Tensile stress at Maximum Load (MPa)
1	11.11761	0.84926	21.01056
	Tensile strain at Maximum Load (mm/mm)	Tensile extension at Maximum Load (mm)	Maximum Load (N)
1	0.02625	1.04994	4.15589
	Modulus (Automatic Young's (GPa)	Tensile strain at Break (Standard) (mm/mm)	Width (mm)
1	1.50562	0.03771	9.89000
	Thickness (mm)	Length (mm)	
1	0.02000	40.00000	

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** :Tuğçe ŞİMŞEK  
**Doğum Tarihi ve Yeri** :17/09/1989, Kırklareli  
**Yabancı Dili** :İngilizce  
**E-posta** :tugcetufekci\_@hotmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2018
Lisans	Kimya Mühendisliği	Gazi Üniversitesi	2012
Lise	Fen Bilimleri	Lüleburgaz Y.D.A. Lise	2007

### İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2015-2016	Öztabak Kalıp A.Ş.	Kalite Mühendisi
2012-2013	Zorlu Holding	Üretim Mühendisi

## YAYINLARI

### Makale

1. Şimşek, T. ve Keyf,S., (2018). “ Alginat ve Kitosan Bazlı Biofilm Sentezi için Deneysel Tasarım Uygulaması, Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, pp, ISSN: 2146-4987, E-ISSN: 2146-7277

