

**KİTOSANIN RADYASYONLA BOZUNMASINA
DEASETİLİZASYON DERECEİNİN ETKİSİ**

**THE EFFECT OF DEGREE OF DEACETYLATION ON THE
RADIATION INDUCED DEGRADATION OF CHITOSAN**

PINAR TAŞKIN

PROF. DR. MURAT ŞEN

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2015

PINAR TAŞKIN' ın hazırladığı "**Kitosanın Radyasyonla Bozunmasına Deasetilizasyon Derecesinin Etkisi**" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA ANABİLİM DALI'** nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Meral ŞAHİN

Başkan



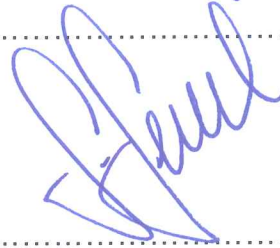
Prof. Dr. Murat ŞEN

Danışman



Prof. Dr. Sevda ŞENEL

Üye



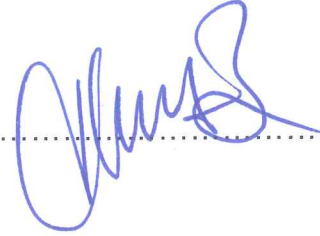
Doç. Dr. Hatice KAPLAN CAN

Üye



Doç. Dr. Murat BARS BAY

Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ

Fen Bilimleri Enstitü Müdürü

Canım Aileme...

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

TARİH

26.06.2015



PINAR TAŞKIN

ÖZET

KİTOSANIN RADYASYONLA BOZUNMASINA DEASETİLİZASYON DERECESESİNİN ETKİSİ

Pınar TAŞKIN

Yüksek Lisans, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat ŞEN

Haziran 2015, 63 sayfa

Selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimer olan kitinin alkali ortamda kısmen ya da tamamen deasetilize edilmesi ile elde edilen kitosan, polikasyonik özellik taşıyan bir oligosakkarittir [1]. Kitosan sahip olduğu biyoyumluluk, antimikrobiyal etkinlik, toksik olmama, biyobozunurluk ve daha birçok özellik sayesinde, günümüzde tıptan gıdaya, ziraattan kozmetiğe, eczacılıktan atık su arıtımına ve tekstil sektörüne kadar sayısız alanda kullanılan bir doğal polimerdir. Kitosan doğal polimerinin gama ışınları ve elektron demetleri gibi iyonlaştırıcı radyasyon ile ışınladığında zincir kesilmesine uğrayan bir polimer olduğu ve zincir kesilme veriminin başlangıç molekül ağırlığına ve sulu çözeltisinde veya katı halde ışınlanmasına bağlı olarak önemli oranda değiştiği bulunmuştur [2]. Ancak bugüne kadar kitosanın radyasyon kararlılığının deasetilizasyon derecesine bağlı olarak nasıl değiştiği konusunda yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın temel amacı, iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalmış kitosanın bozunmasına deasetilizasyon derecesinin etkisinin incelenmesidir.

Bu kapsamda, çalışmanın birinci aşaması olarak, aynı başlangıç molekül ağırlığına ancak farklı deasetilizasyon derecesine (DD) sahip kitosan örneklerinin iyonlaştırıcı radyasyon kullanılarak ışınlama çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla,

farklı DD'ye sahip kitosan örnekleri Kobalt-60 gama kaynağı kullanılarak 26Gy/saat doz hızında sırasıyla 5, 10, 25, 35 kGy dozlarda ışınlanmıştır.

Çalışmanın bundan sonraki aşamasında, karakterizasyon çalışmaları başlatılmıştır. Bu kapsamda, ışınlanmamış ve farklı dozlarda ışınlanmış kitosan örneklerinin DD değerleri, $^1\text{H-NMR}$, FTIR, Potansiyometrik Titrasyon ve UV-görünür bölge spektroskopisi yöntemleri kullanılarak hesaplanmıştır.

Işınlama çalışmaları sonucunda meydana gelen molekül ağırlığındaki değişimler Büyüklükçe Ayırma Kromatografisi (BAK) yöntemiyle tayin edilmiştir. Işınlama dozu arttıkça kitosan örneklerinin BAK kromatogramlarında yüksek alıkonma sürelerine doğru bir kayma görülmüş, radyasyona ve deasetilizasyon derecelerine bağlı olarak farklı oranlarda molekül ağırlığı değerlerinde azalma görülmüştür. BAK ile elde edilen sayıca molekül ağırlığı değerleri kullanılarak kitosan örneklerinin zincir kesilme verimleri ve bozunma hız sabitleri hesaplanmıştır. Hesaplanan zincir kesilme verimi (G(S)) değerleri 75, 80, 90, 95/1000 'lik Kitosan örnekleri için sırasıyla $1,36 \pm 0,08$, $1,37 \pm 0,07$, $1,62 \pm 0,04$, $2,07 \pm 0,09$ $\mu\text{mol/J}$ 'dür. Bu sonuçlarla, deasetilizasyon derecesinin kitosanın zincir kesilme verimi üzerine etkisine bakıldığında, Kitosan 95/1000> Kitosan90/1000> Kitosan80/1000>Kitosan75/1000 ya da $78 < 80 < 89 < 97$ DD sıralamalarını yapmak mümkündür. Hesaplanan hız sabitleri(k) değerlerine bakıldığında G(S) değerinin değişiminde olduğu gibi DD'ye bağlı olarak değişim gösterdiği ve DD değerinin artmasıyla bozunma hız sabitinin arttığı görülmüştür.

Son olarak iyonlaştırıcı radyasyonla bozunmaya uğramış kitosan örneklerinin reolojik karakterizasyonu yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda, molekül ağırlıkları yaklaşık aynı mertebede olan ışınlanmamış kitosan örnekleri için deasetilizasyon derecesinin değişmesinin kitosanın viskozitesi üzerinde önemli bir değişime sebep olmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, ışınlama dozunun artmasıyla zincir kesilmelerine bağlı molekül ağırlığı azalmalarından dolayı viskozitenin önemli ölçüde azaldığı ve akış davranışının Newtonsal olmayan akıştan Newtonsal akışa geçtiği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Kitosan, deasetilizasyon, radyasyon, gama ışınları

ABSTRACT

THE EFFECT OF DEGREE OF DEACETYLATION ON THE RADIATION INDUCED DEGRADATION OF CHITOSAN

Pınar TAŞKIN

Master of Science, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Murat ŞEN

June 2015, 63 pages

After Cellulose, chitin is the second natural polymers that found in the world. Chitosan oligosaccharide, which has a polycationic property, is a partially or completely deacetylated polymer obtained from the alkaline deacetylation of chitin [1]. Thanks to its biocompatibility, antimicrobial activity, non-toxicity and many more fatures, Chitosan is a natural polymer widely used in medicine, food, cosmetic fields, agricultural activities, pharmaceuticals, waste water treatment and textiles, etc. Considerable attention has recently, especially in the last decade, been directed to the modification and preparation of low-molecular weight-fractions or oligosaccharides of Chitosan by radiation-induced degradation in dry-state or in aqueous solutions with various concentrations in order to use mainly in the plant growth promoter, plant protectors and tissue engineering applications. In the literature the general consensus is that the irradiation state (dry or aqueous solution) and the presence of hydroxy generating groups and the initial molecular weight of Chitosan are important factors in controlling its radiation induced degradation behavior [2]. So far, nonetheless, no relationship has been established between the DD and radiation stability of Chitosan. The main purpose of this study is to examine the effect of degree of deacetylation on the radiation induced degradation of chitosan.

In this context, the first stage of the study, the chitosan samples, which have same initial molecular weights but different degree of deacetylations (DD), were irradiated by using ionizing radiation. For his purpose, chitosan samples with different DD were irradiated by using Cobalt-60 gama source in air at ambient temperature in the solid state at 5, 10, 25, 35 kGy doses, employing a low dose rate 26Gy/h.

In the next phase of the study, characterization studies have been initiated. In this context, the DD values of non-irradiated and irradiated chitosan samples were calculated by using ^1H -NMR, FTIR, Potentiometric titration and UV-visible spectroscopy methods.

The changes in molecular weight occuring as a result of irradiation studies were assessed by Size Exclusion Chromatography (SEC). As the irradiation dose increased, the SEC chromatogram of the chitosan samples shifted to higher retention volumes indicating a decrease in the molecular weight of the samples as a function of irradiation. The molecular weight values, which were obtained by the Size Exclusion Chromatography, were used for the calculation of chain scission yield (G(S)) and degradation rate constants. The calculated G(S) values were 1.36 ± 0.08 , 1.37 ± 0.07 , 1.62 ± 0.04 , 2.07 ± 0.09 $\mu\text{mol/J}$ for Chi75/1000, Chi80/1000, Chi90/1000, and Chi95/1000, respectively. From these results, looking at the effect of DD on the chain scission yield of chitosan samples, it was followed the order Chitosan95/1000 > Chitosan90/1000 > Chitosan80/1000 > Chitosan75/1000 or 78 < 80 < 89 < 97 DD ratio. The calculated degradation rate constants followed the same order as chain scission yield and they increased with increasing DD values.

Finally, the rheological characterizations of the irradiated chitosan samples were executed. As a result of this study, it was found that DD was not caused a significant change on the viscosity of the non-irradiated chitosan samples which have nearly same initial molecular weight. In addition, when the irradiation dose increased, the molecular weight of the chitosan samples decreased because of the chain scissions. This caused the reduction of the viscosity and the non-Newtonian flow behavior turned into Newtonian flow behavior.

Key words: Chitosan, deacetylizaton, radiation, gamma rays

TEŞEKKÜR

Öncelikle, tüm tez çalışmam boyunca bilgilerini, deneyimlerini, ilgisini ve samimiyetini benden esirgemediğim yoluma ışık tutan, üzerimde sonsuz emeği olan danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr. Murat ŞEN'e,

Bilime ve hayata dair öğretilerini benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Olgun GÜVEN'e,

Çalışmalarım süresince bana her türlü desteği veren ve her zaman yanımda olan arkadaşım Semiha Duygu SÜTEKİN'e, güleryüzü ile her daim desteğini bana hissettiren Dr. Feyza GENÇ KIRAÇ'a, birlikte birçok çalışmada yer aldığım arkadaşım Hande HAYRABOLULU'ya,

Üyesi olmaktan gurur duyduğum Polimer ve Radyasyon Bilimi Araştırma Grubundaki tüm hocalarım ve arkadaşlarıma,

Tez çalışmalarım sırasında gerekli olan tüm kimyasallar Hacettepe Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen 013 D04601002 no'lu proje kapsamında temin edilmiştir. Proje ve tez çalışmalarımın başarıyla tamamlanması için her türlü desteği sağladığı için Hacettepe Üniversitesi Rektörlüğüne ve Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine ve tüm çalışanlarına,

Her zaman yanımda olan, benim için anlamı çok büyük olan manevi desteklerini esirgemeyen hayat arkadaşım A.Ahmet YILMAZCAN'a ve dostum Asena ERDEM'e,

Hayatımdaki en büyük şansım olan, maddi ve manevi hiçbir desteği benden esirgemeyen, çıktığım her yolda ve attığım her adımda yanımda olan, bugünlerimin en büyük mimarları sevgili annem ve babama,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	iv
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kitin ve Kitosan	3
2.2.1. Kitosanın Kullanım Alanları	5
2.2.2. Kitosanın Özelliklerini Etkileyen Parametreler	7
2.2.3. Deasetilizasyon Derecesi Nedir?	8
2.2.4. Deasetilizasyon Derecesini Hesaplamak İçin Kullanılan Yöntemler	8
2.3. Radyasyon ve Radyasyon Çeşitleri	8
2.3.1. İyonlaştırıcı Radyasyon	9
2.4. Doğal Polimerlerin Radyasyon Kimyası	10
2.4.1. Kitosanın Radyasyon Kimyası	11
2.5. Reolojik Analizler	12
2.5.1. Newtonsal akış (Newtonian flow)	12
2.5.2. Newtonsal olmayan akış	13
3. DENEYSEL TEKNİKLER	14
3.1 Kullanılan Kimyasallar	14
3.2 Kitosanın Işınlama Çalışmaları	15
3.3. Deasetilizasyon Derecesi (DD) Değerinin Hesaplanması	15
3.3.1. ¹ H-NMR Yöntemi	16
3.3.2. FT-IR Yöntemi	16
3.3.3. Potansiyometrik Titrasyon Yöntemi	16
3.3.4. UV-Görünür Bölge Spektroskopisi Yöntemi	16
3.4. Molekül Ağırlığı Tayini	17

3.5. Reolojik Analizler	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	18
4.1. ¹ H-NMR Yöntemi ile Deasetilizasyon Derecesinin Bulunması	18
4.2. FTIR Yöntemi ile Deasetilizasyon Derecesinin Bulunması	21
4.3. Potansiyometrik Titrasyon Yöntemi ile Deasetilizasyon Derecesinin Bulunması.....	27
4.4. UV- Vis Yöntemi ile Deasetilizasyon Derecesinin Bulunması	31
4.5. Yöntemlerin Karşılaştırılması	35
4.6. Işınlamanın kitosanın Deasetilizasyon derecesi üzerindeki etkisi	36
4.7. Işınlanmamış ve Farklı Dozlarda Işınlanmış Kitosanın Molekül Ağırlığı Karakterizasyonu	37
4.8. Kitosanın Radyasyonla Zincir Kesilme Verimi ve Bozunma Hız Sabitinin Hesaplanması.....	42
4.9. Işınlanmamış ve Farklı Dozlarda Işınlanmış Kitosanın Reolojik Karakterizasyonu	44
5. SONUÇLAR.....	49
KAYNAKLAR.....	51
EKLER	57
ÖZGEÇMİŞ	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Karides, yengeç ve kalamar kitosanının önemli ham madde kaynaklarıdır.	4
Şekil 2.2. Kitinin deasetilizasyonu sonunda elde edilen Kitosanın yapısı	4
Şekil 2.3. Radyasyon türleri.....	9
Şekil 2.4. Polimerlerde radyasyona bağlı zincir kesilmesi ve çapraz bağlanmanın şematik gösterimi	10
Şekil 2.5. Newtonsal akışkanların akış eğrileri (a) Kayma gerilimine karşı kayma hızı, (b) Viskoziteye karşı kayma hızı.	13
Şekil 2.6. Newtonsal olmayan bir akışkanın viskozitesi.....	13
Şekil 3.1. DD değerinin hesaplaması için kullanılan metot	17
Şekil 4.1. Kitosanın yapısındaki asetile ve deasetile birimler	18
Şekil 4.2. Farklı DD'ye sahip Kitosan örneklerinin ¹ H-NMR spektrumları	20
Şekil 4.3. Tahtat tarafından kullanılan pikler ve temel çizgiler	22
Şekil 4.4. Brugnetto tarafından kullanılan pikler ve temel çizgiler.....	23
Şekil 4.5. Guinesi tarafından kullanılan pikler ve temel çizgiler	23
Şekil 4.6. Zainol tarafından kullanılan pikler ve temel çizgiler.....	24
Şekil 4.7. Farklı DD'ye sahip kitosan örneklerinin IR spektrumları	24
Şekil 4.8. DD'nin hesaplamasında kullanılan zemin düzeltme tekniği	25
Şekil 4.9. Kitosan 75/1000'e ait potansiyometrik titrasyon eğrisi	28
Şekil 4.10. Kitosan 80/1000'e ait potansiyometrik titrasyon eğrisi	28
Şekil 4.11. Kitosan 90/1000'e ait potansiyometrik titrasyon eğrisi	29
Şekil 4.12. Kitosan 95/1000'e ait potansiyometrik titrasyon eğrisi	29
Şekil 4.13. Kitosan 75/1000'e ait f(x)'e karşı harcanan NaOH hacmi eğrisi.....	30
Şekil 4.14. GlcNAc ve GlcN'ye ait 0-50 µg/ ml aralığındaki UV spektrumları	32
Şekil 4.15. GlcNAc'in ilk türevine ait UV spektrumu	32
Şekil 4.16. GlcN'nin ilk türevine ait UV spektrumu.....	33
Şekil 4.17. GlcNAc ve GlcN'ye ait 200nm'deki UV kalibrasyon eğrisi.....	33
Şekil 4.18. %75, 80, 90, 95 DD'ye sahip kitosan örneklerine ait UV spektrumları	34
Şekil 4.19. %75, 80, 90, 95 DD'ye sahip kitosan örneklerinin ilk türevlerine ait UV spektrumları.....	35
Şekil 4.20. Kitosanın deasetilizasyon derecelerinin doza karşı değişimi	37

Şekil 4.21. Işınlanmamış ve 5, 10, 25, 35 kGy dozlarda ışınlanmış 75, 80, 90, 95/1000'lik Kitosanların BAK kromatogramları	39
Şekil 4.22. Kitosan 75, 80, 90, 95/1000'lik örnekler için Mn-Doz Grafiği	40
Şekil 4.23. Kitosan 75, 80, 90, 95/1000'lik örnekler için Mw-Doz Grafiği	40
Şekil 4.24. Kitosan 75, 80, 90, 95/1000'lik örnekler için $1/M_n-1/M_{n_0}$ - doz grafiği	42
Şekil 4.25. Farklı dozlarda ışınlanmış Kitosan 75/1000'in kayma hızına bağlı olarak viskozitesinin değişimi	44
Şekil 4.26. Farklı dozlarda ışınlanmış Kitosan 80/1000'in kayma hızına bağlı olarak viskozitesinin değişimi	45
Şekil 4.27. Farklı dozlarda ışınlanmış Kitosan 90/1000'in kayma hızına bağlı olarak viskozitesinin değişimi	45
Şekil 4.28. Farklı dozlarda ışınlanmış Kitosan 95/1000'in kayma hızına bağlı olarak viskozitesinin değişimi	46
Şekil 4.29. Tüm kitosan örnekleri için doza karşı 100 rpm'deki Viskozite grafiği...	46
Şekil 4.30. a) Işınlanmamış b) 5kGy ışınlanmış c) 10kGy ışınlanmış d) 25kGy ışınlanmış e) 35kGy ışınlanmış Kitosan örneklerine ait Kayma Hızına karşı Viskozite grafiği	48

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Kitosanın Üretim Koşulları	3
Tablo 2.2. Kitosanın kullanım alanları	6
Tablo 3.1. Kullanılan kitosanların isimleri, viskozite değerleri, firma tarafından belirlenmiş deasetilizasyon değerleri(DD)	15
Tablo 4.1. Deasetilizasyon Derecesi Değerleri.....	20
Tablo 4.2. FT-IR yöntemiyle DD' nin hesaplanmasında kullanılan metodun adı, hesaplanan pikler ve kalibrasyon eğrisi denklemi.....	21
Tablo 4.3. FTIR metoduyla hesaplanan DD değerleri	26
Tablo 4.4. Potansiyometrik titrasyon yöntemiyle hesaplanan DD değerleri.....	30
Tablo 4.5. UV metodu kullanılarak hesaplanan DD değerleri	35
Tablo 4.6. DD'nin hesaplanmasında kullanılan yöntemler ve hesaplanan DD değerleri	36
Tablo 4.7. Kitosan 75/1000'ün molekül ağırlığının ışınlama dozu ile değişimi.....	41
Tablo 4.8. Kitosan 80/1000' ün molekül ağırlığının ışınlama dozu ile değişimi.....	41
Tablo 4.9. Kitosan 90/1000' ün molekül ağırlığının ışınlama dozu ile değişimi.....	41
Tablo 4.10. Kitosan 95/1000' ün molekül ağırlığının ışınlama dozu ile değişimi...	42
Tablo 4.11. Kitosan örneklerinin zincir kesilme verimi ve bozunma hız sabitleri değerleri	43

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

η	Viskozite
μ	İyonik Şiddet
G(S)	Zincir Kesilme Verimi
J	Joule
k	Bozunma Hız Sabiti
M_n	Sayıcı Ortalama Molekül Ağırlığı
M_v	Viskozite Ortalama Molekül Ağırlığı
M_w	Ağırlıkça Ortalama Molekül Ağırlığı
τ	Kayma Gerilmesi
γ	Kayma Hızı

Kısaltmalar

$^1\text{H-NMR}$	Proton-Nükleer Manyetik Rezonans
Co	Kobalt
D_2O	Döteryum oksit
DD	Deasetilizasyon Derecesi
eV	Elektron volt
FT-IR	Fourier Dönüşümlü İnfrared
GG	Guar Sakızı

GlcN	D-Glikozamin Hidroklorik Asit
GlcNAc	Asetil-glikozamin
H ⁺	Hidrojen İyonu
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H ₃ PO ₄	Fosforik Asit
kDa	Kilodalton
kGy	Kilogray
LBG	Keçiboynuzu Çekirdeği Sakızı
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
NaOH	Sodyum Hidroksit
NHCOCH ₃	Asetamid
nm	Nanometre
PEO	Polietilen Oksit
ppm	Milyonda Bir
TG	Tara Sakızı
UV	Ultra Viyole

1. GİRİŞ

Günümüzde çevre ile dost ürünler için yenilenebilir kaynaklara olan ilgi gitgide artmaktadır. Dünyanın birçok yerinde, büyük miktarda yengeç ve karides gibi kabuklu su ürünleri, deniz ürünleri üretimi yapan şirketler tarafından değerlendirilmeden doğaya atılmaktadır. Son yıllarda atıkların yeniden değerlendirilmesinin ön plana çıkmasıyla birlikte, kabuklu su ürünleri çürümeye bırakılmak yerine, çeşitli yöntemler kullanılarak geri kazanılmaktadır. Bu şekilde elde edilen ürünlerin başında, kitin ve başlıca türevi olan kitosan bulunmaktadır [3]. Kitin, selülozdan sonra doğada en fazla bulunan ikinci yenilenebilir polimerdir. Doğada, deniz yosunları, tek hücreli canlılar, selentereler, yumuşakçalar, eklembacaklılar, bakteriler, mantarlar, böcekler ve bazı bitkilerin yapısında bulunur [4]. Kitinin deasetilizasyonu sonucunda oluşan kitosan, sahip olduğu eşsiz fonksiyonel özellikleri sayesinde birçok alanda kullanılmaktadır. Toksik özelliğinin olmaması, biyolojik olarak parçalanabilir olması, biyouyumlu olması, kimyasal ve fiziksel özellikleri açısından diğer biyopolimerlere göre üstün özellikler göstermesi sebebiyle su arıtımı, biyoteknoloji, gıda, kozmetik, medikal alanlar ve daha birçok alanda tercih edilmektedir.

Kitosanın, kitine göre birçok avantaja sahip olması ve birçok alanda kullanılması, kitosanın tüm özelliklerinin aydınlatılması ihtiyacını doğurmaktadır. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, kitosanın radyasyonla bozunması ve düşük molekül ağırlıklı kitosan elde edilmesiyle ilgili yapılan birçok çalışma ve uygulanan yöntem bulunmaktadır. Çeşitli yöntemler arasında, oksitleyici bozunma [5], elektrokimyasal işlem [6], ultrasonik muamele [7], ısıl depolimerizasyon [8], enzimatik yöntemler [9,10], mikro akışkanlaştırma ile birlikte ultrafiltrasyon işlemi [11], ultraviyole bozunma [12], ultraviyole ışık ve hidrojen peroksit kullanılarak gerçekleştirilen sinerjetik bozunma [13] ve gama ışınları ile bozunması [14, 15, 16] yer almaktadır. Gama ışınları ve elektron demetleri gibi çarptığı maddede yüklü parçacıklar ve radikaller oluşturan yüksek enerjili iyonlaştırıcı radyasyonlar kullanılması, yöntemin oldukça kullanışlı, ucuz ve temiz bir yöntem olması sebebiyle tercih edilir hale gelmiştir.

Kitosanın özellikle iyonlaştırıcı ışınlarla bozundurulması ve oligosakkaritlerinin hazırlanması konusunda yapılan çalışmaların hız kazanmasının en önemli nedeni,

oligosakkaritlerin özellikle tarımda bitki büyümesini hızlandırmak için gübre yerine kullanımının giderek yaygınlaşmasıdır. Bu konuda, Uzak Doğu ülkeleri başta olmak üzere birçok ülkede yapılan çalışmaların sonunda, bitki büyümesini kontrol eden parametrelerin başında molekül ağırlığının geldiği kanıtlanmıştır. Ancak tüm bu çalışmaların sonunda optimum molekül ağırlığının ne olması gerektiği konusunda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bunun altında yatan en önemli sebebin ise, farklı araştırma grupları tarafından farklı deasetilizasyon derecesine sahip kitosan örnekleri kullanılarak oligosakkaritlerin hazırlanması olduğu düşünülmektedir. Bu tez kapsamında yapılacak sistematik çalışmaların sonunda, deasetiliasyon derecesinin kitosanın radyasyonla bozunmasına olan katkısının belirlenmesi ile bu alanda literatürdeki boşluğun doldurulması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

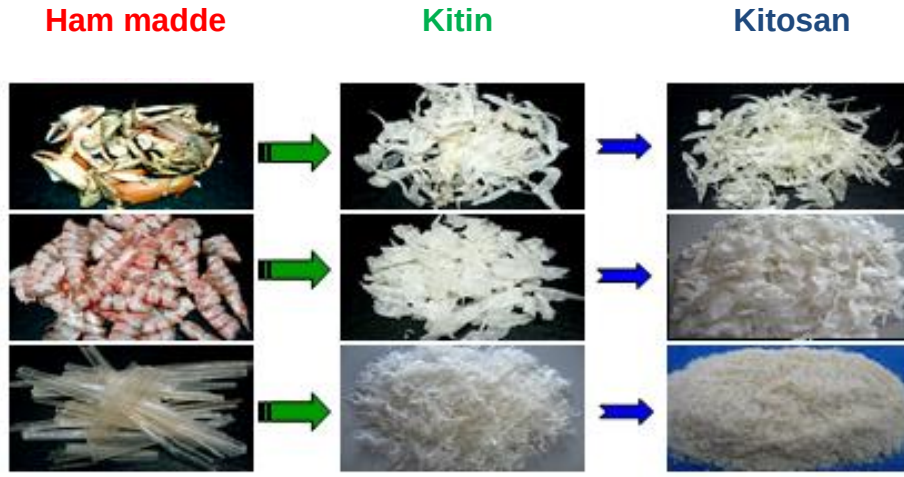
2.1. Kitin ve Kitosan

Kitin ilk kez Fransız bilim adamı Henri Bracannot tarafından 1811'de keşfedilmiştir. Bracannot mantarlarda bulunan kitini sülfürik asitte çözmeye çalışmış ancak başarılı olamamıştır. Hoppe-Seyler, 180°C' de kitini potasyum hidroksit ile işleme sokmuş ve asetil içeriği azaltılmış olan kitosanı 1894 yılında elde etmiştir. Bu işlem günümüzde deasetilizasyon işlemi olarak adlandırılmaktadır [17]. Kitin, yengeç, karides gibi kabuklu su ürünlerinin kabuğunun ana bileşeni olup, böceklerin iskeletinde ve mantarların hücre duvarlarının yapısında da bulunmaktadır [4]. Bir biyopolimer olan kitin, esas olarak poli-[b-(1,4)-2-asetamid-2-deoksi-b-D-glukopiranoz] yapısında olup çok düşük oranda 2-amino-2-deoksi-b-glukopiranoz monomerlerini de içermektedir. Kitinin türevlendirilmesi sonucunda oluşan en önemli doğal polimer kitosandır. Kitosanın elde edilmesi süreci genel olarak dört basamaktan oluşmaktadır. Bunlar, deproteinizasyon, demineralizasyon, ağartma ve deasetilizasyon basamaklarıdır [18]. Deproteinizasyon basamağında, yapısında bulunan proteinleri çözmek için kitin, seyreltik sodyum hidroksit çözeltisi ile muamele edilir. Demineralizasyon basamağında, deproteinize olmuş kitin seyreltik hidroklorik asit ile ekstrakte edilir. Deproteinize ve demineralize edilmiş kitin astaxanthin pigmentinin varlığından dolayı açık pembe renktedir. Çeşitli organik çözücüler kullanılarak ağartma işlemi gerçekleştirilir ve böylece kitin ticari olarak kabul edilebilir halde getirilir. Deasetilizasyon basamağında, 1 M'lık sodyum hidroksit çözeltisi kullanılır. NaOH, kitinin kısmen deasetillenmesine ve biyopolimerin hidrolize olması sonucu molekül ağırlığının azalmasına neden olmaktadır. Bu basamaklar Tablo 2.1' de özetlenmiştir.

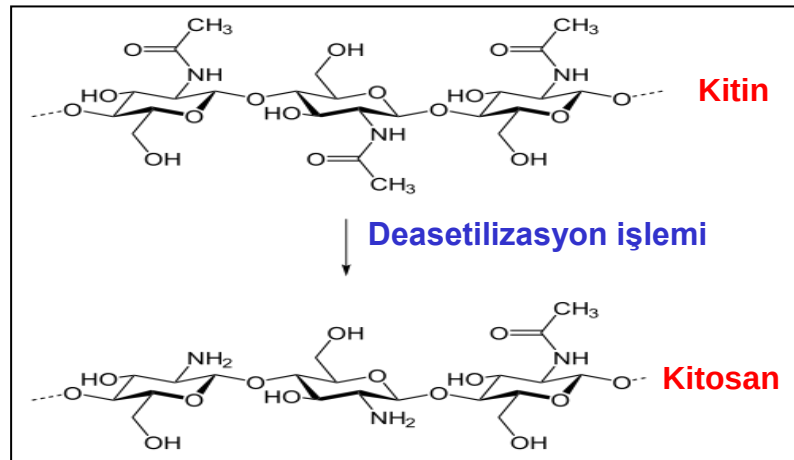
Tablo 2.1. Kitosanın Üretim Koşulları.

Basamak	Kimyasal Madde	Sıcaklık	Süre
Deproteinizasyon	%0,5-15 NaOH	25-100 °C	0,5-72 saat
Demineralizasyon	%2-8 HCl	15-30 °C	0,5-48 saat
Dekolorizasyon (Ağartma)	Çeşitli organik çözücüler (NaOCl, H ₂ O ₂)	20-30 °C	Yıkama, 60 dakika
Deasetilizasyon	%39-60 NaOH	60-150 °C	0,5-144 saat

Hammaddelerin farklılığı kitin ve kitosanın fiziksel özelliklerini etkiler. Yengeçten elde edilen kitosan yaprak şeklindeyken, kalamarda bulunan kemiksi yapılardan elde edilen kitosan toz şeklindedir. (Şekil 2.1) Kitosanın kimyasal yapısı ise, poli-[b-(1,4)-2-amino-2-deoksi-b-D-glukopiranoz] şeklindedir ve Şekil 2.2 'de gösterilmektedir. Kitin ve kitosan polisakaritleri, kimyasal olarak selüloza benzemekle birlikte kendi aralarında birtakım farklılıklar göstermektedir. Selülozda, ikinci karbon atomuna bağlı hidroksil (-OH) grubu bulunurken, kitinde asetamid (-NHCOCH₃), kitosanda ise amin (-NH₂) grubu bulunmaktadır.



Şekil 2.1. Karides, yengeç ve kalamar kitosanının önemli ham madde kaynaklarıdır [19].



Şekil 2.2. Kitinin deasetilizasyonu sonunda elde edilen Kitosanın yapısı

2.2.1. Kitosanın Kullanım Alanları

Kitosan toksik özellik göstermeyen, immünojenik olmayan, antimikrobiyal, biyolojik olarak ayrışabilen, vücut içerisinde tamamen zararsız ürünlere parçalanabilen özellikte bir biyopolimer olması sebebiyle çok geniş kullanım alanlarına sahiptir [20]. Kitosan diğer polisakkaritler selüloz, alginat ve karragenan gibi gıda, tıp, ziraat, kozmetik, eczacılık, atık su arıtımı ve tekstil gibi sayısız alanda yaygın olarak kullanılmaktadır ve bazı kullanım alanları Tablo 2.2' de verilmiştir [59, 21-27].

İyon değiştirme özelliği sayesinde atık sulardaki metal iyonların uzaklaştırılmasında en etkili malzemelerden biridir [28]. Son zamanlarda ziraat alanındaki kullanımı oldukça artan kitosan, bu alanda bitkilerin büyütülmesinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmada, 30 ppm ve 15 ppm'lik kitosan çözeltisi ışınlanmış, şeker kamışı ve pirinçlere püskürtülerek büyümelerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, oligokitosanın bitkilerin büyütülmesinde umut verici bir biyopolimer olduğu sonucuna varılmıştır [29].

Yapılan in-vivo testler sonucunda, kitosanın tablet halinde alınması halinde lipaz enzimi tarafından parçalanabildiği, diğer bir değişle insan vücudunda herhangi bir yan etkisinin olmadığını göstermektedir. İnsan sağlığı açısından, doğal olması, toksik olmaması, tümör oluşumunu engelleyebilmesi, serum kolesterolü seviyesini düşürebilmesi gibi yararlı etkilerinin olması oldukça önemlidir [30].

Buna ek olarak kitosan esaslı hidrojelers sayesinde, yaraların iyileşmesinde keratinosit çoğalmasını ve buna bağlı olarak epidermis rejenerasyonuna katkı sağlayabildiği görülmüştür [27]. Kitosanın yapısında bulunan serbest amin gruplarının, polimere katyonik özellik kazandırması sayesinde, negatif yüklü ilaçlar, polimerler ve biyoaktif moleküller etkileşimini sağlar. Bu sayede ilaç formülasyonlarına uygun bir matris olarak kullanılarak ilaç salım sistemlerinde önemli bir rol oynar. Sahip olduğu jel oluşturabilme ve çok çeşitli formlarda bulunma özelliği sayesinde ilaçların kontrollü salımında ön plana çıkmaktadır [31]. Şenel ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, mukozal aşılama için BHV-1 enfeksiyonuna karşı kitosan esaslı girişimsel olmayan ilaç salım sistemleri geliştirilmesi amacıyla farklı molekül ağırlığına ve farklı çözünürlüğe sahip kitosan

örnekleri kullanılarak jel ve mikropartikül formlarda formülasyonlar geliştirilmiştir [32].

Tablo 2.2. Kitosanın kullanım alanları

Kullanım Alanı	Spesifik Kullanımları
Su arıtımı	❖ Kirlenmiş atık sular için koagülasyon ve flokülasyon
	❖ Atık sudaki metal iyonlarının uzaklaştırılması ve geri kazanımı
Ziraat	❖ Bitki katkı maddesi
	❖ Antimikrobiyal madde
	❖ Bitki tohumu kaplanması
	❖ Gübre yapımı
	❖ İnsektisid ve nematoistler
Biyoteknoloji	❖ Kromatografi
	❖ Enzim immobilizasyonu
Gıda	❖ Doğal kıvamlaştırıcı
	❖ Katkı maddesi
	❖ Hipokolestrolemik madde(zayıflama maddesi)
	❖ Atık yiyeceklerin tekrar işlenmesi
Medikal Alan	❖ Yara bandı yapımı
	❖ Sargı bezi yapımı ve yara tedavisi
	❖ Kanı pıhtılaştırıcı madde
	❖ Hidrojel yapımı
	❖ Kontakt lens yapımı
	❖ İlaç salımı
	❖ Medikal yapay deri
	❖ Cerrahi dikiş iplikleri
	❖ Yapay kan damarları
	❖ Antifungal, antibakteriyal, antimikrobiyal ve hemostatik madde olarak kullanımı

2.2.2. Kitosanın Özelliklerini Etkileyen Parametreler

Deasetilizasyon derecesi, çözünürlük, molekül ağırlığı, sıcaklık, viskozite ve pH derecesi gibi etmenler kitosanın özelliklerine doğrudan veya dolaylı yoldan etki etmektedir.

Kitosanın özelliklerini etkileyen parametrelere bakıldığında ilk olarak deasetilizasyon derecesi (DD) öne çıkmaktadır. Bilindiği üzere deasetilizasyon derecesi, kitinin yapısında bulunan asetil gruplarının uzaklaştırılma derecesi olarak tanımlanmaktadır. Bu işlem sonunda, birçok kimyasal reaksiyon için aktif kısım olarak kullanılabilen amin grupları serbest kalır ve bu durum kitosanın kitine göre avantajlarından biridir. DD'nin farklılığı başta çözünürlük olmak üzere molekül ağırlığını ve viskoziteyi etkilemektedir.

Kitosanın, kitine göre avantajlarından en önemlisi çözünürlüktür. Kitin, çok miktarda molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağlarına sahip olan yarı kristalin bir polimerdir. Bu sebeple, derişik asit çözeltilerinde ve birçok toksik özellikteki çözenler varlığında çözünmektedir. Kitosan ise katyonik bir polimer olması sayesinde pH değeri 6'dan düşük çözeltilerde kolaylıkla çözünmektedir. Çözücü olarak asetik asit, formik asit, laktik asit ve sitrik asit çözeltileri kullanılmaktadır. Bu çözücüler arasında en çok kullanılan asetik asit çözeltisidir. Asidik ortamlarda kitosanın yapısında bulunan NH_2 grubu $-\text{NH}_3^+$ şeklinde bulunur ve ortamdaki anyonik gruplarla elektrostatik etkileşime girer. Bu sayede protonlanmış durumda olan kitosan katyonik polielektrolit davranışı göstererek viskozitesi yüksek, zıt yüklü molekül ve yüzeylerle etkileşime giren bir polimer haline gelir [33,34]. Kitosanın çözünürlüğünü etkileyen parametreler arasında sıcaklık, çözelti derişimi ve parçacık büyüklüğü yer almaktadır.

Kitosanın molekül ağırlığı 50-2000 kDa arasında değişmektedir. Bu sebeple, düşük, orta ve yüksek molekül ağırlıklı kitosan olarak sınıflandırılır. Deasetilizasyon koşulları ve elde edildiği kaynağa göre molekül ağırlığı değişiklik göstermektedir. Örneğin; çok yüksek sıcaklıklarda polimer zincirleri kopar ve buna bağlı olarak molekül ağırlığında düşüş meydana gelir. Ortamda bulunan çözünmüş oksijen, kitosani parçalayarak molekül ağırlığını düşürmektedir.

Kabuklu deniz hayvanlarının yapısında bulunan pigmentler, kitin ile kompleks oluşmasına ve renklenmeye neden olmaktadır. Kitosan açık sarıdan beyaza kadar çeşitli tonlarda bulunmaktadır. Kitosan eldesindeki basamaklardan biri olan dekolorizasyon (ağartma) işleminde renk giderilmesi amacıyla aseton ve bir takım kimyasallar kullanılmaktadır.

2.2.3. Deasetilizasyon Derecesi Nedir?

Kitinin deasetilizasyonu sonunda elde edilen polimer kitosan olarak bilinmektedir. Kitin ve kitosan arasındaki temel farklılık, yapılarındaki asetil içeriğinden kaynaklanmaktadır. “Deasetilizasyon Derecesi (DD)” kitinin yapısında bulunan aminoasetil gruplarından asetil grubunun uzaklaştırılma derecesidir [20]. Böylece geride sadece amin grubu kalmaktadır. Kitosanın deasetilizasyon derecesinin, başta çözünme özelliği olmak üzere birçok parametre üzerinde büyük etkisi bulunmaktadır. Kitinin belli derecede deasetillenmesi (% 60 ve üzeri) sonucunda “kitosan” elde edilmektedir. Deasetilizasyon derecesi, deniz kabuklularının cinsine ve üretim yöntemine göre % 56-99 arasında değişiklik göstermektedir [35,36]. Sıcaklık, deasetilizasyon süresi, baz derişimi, kitinin izolasyonundan önce uygulanan işlemler, atmosfer(hava veya azot), kitin/baz oranı, kitinin yoğunluğu ve parçacık boyutu DD'yi etkileyen önemli faktörlerdir [37].

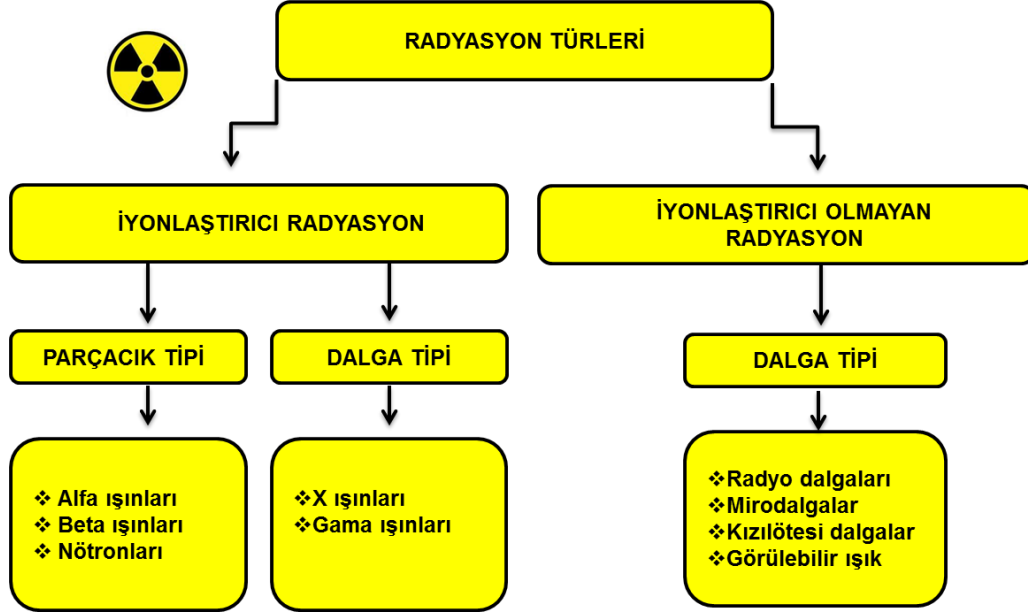
2.2.4. Deasetilizasyon Derecesini Hesaplamak İçin Kullanılan Yöntemler

Deasetilizasyon derecesini hesaplamak için kullanılan yöntemlerden bazıları ¹H-NMR [38,39], FT-IR [40], potansiyometrik titrasyon [41], UV-görünür bölge spektroskopisidir [42]. Yöntemler ayrıntılı bir şekilde Bulgular ve Tartışma kısmında anlatılmıştır.

2.3. Radyasyon ve Radyasyon Çeşitleri

Herhangi bir maddenin atom çekirdeğindeki nötronların sayısı proton sayısından fazla ise çekirdekte kararsızlık oluşur ve fazla nötronlar parçalanır. Bu parçalanma sırasında ortaya alfa, beta, gama adı verilen ve çıplak gözle görülmeyen ışınlar çıkar. Bu ışınlara “radyasyon” denir. Alfa, beta, gama ve x-ışınları iyonlaştırıcı radyasyonlar olup, girdiği ortamda iyonları ayrıştırırlar, radyo dalgaları,

mikrodalgalar, kızılötesi dalgalar ve görülebilir ışık ise iyonlaştırıcı olmayan radyasyonlardır (Şekil 2.3) [43].



Şekil 2.3. Radyasyon türleri

2.3.1. İyonlaştırıcı Radyasyon

Radyasyon kimyası, 102-107 eV aralığında enerji ile iyonlaştırıcı radyasyon olarak adlandırılan yüksek enerji yüklü parçacık ya da elektromanyetik radyasyon ile indüklenen kimyasal değişimler ile ilgilidir. İyonlaştırıcı radyasyonun neredeyse tamamı emicinin elektronik yapısı tarafından emilir. Reaktif türlerin üretilmesi ve kimyasal reaksiyonların başlatılması için çok etkili bir yöntemdir. Atom veya molekül ile iyonlaştırıcı radyasyonun etkileşimi spesifik değildir. Bu yüzden doğada bulunan tüm maddeler iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalabilir [44].

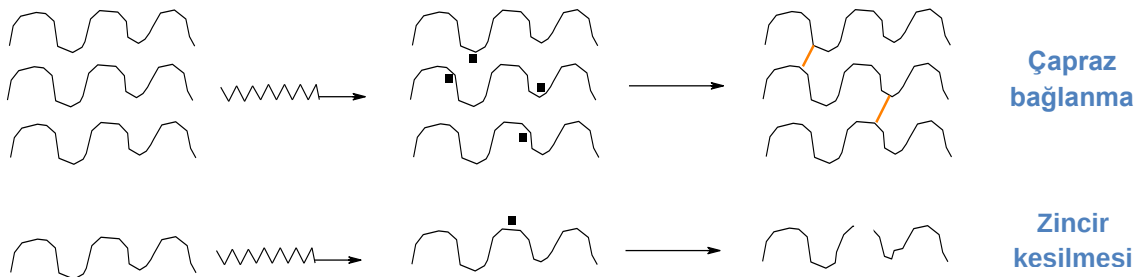
İyonlaştırıcı radyasyon ile polimerlerin tanışması 60 yıl öncesine dayanmaktadır [45]. Bilim insanlarının bu alanda deneyimlerinin artması, iyonlaştırıcı radyasyonun sağladığı avantajlarla birleşince iyonlaştırıcı radyasyonun polimerler üzerine etkisi çalışmalara sıkça konu olmuştur. Son yıllarda radyasyon teknolojisi kullanılarak farklı kimyasal yapıda sentetik, doğal ve sentetik/doğal polimerlerin hazırlanması, karakterizasyonu ve özelliklerinin incelenmesi konusunda başta Hacettepe

Üniversitesi, Radyasyon ve Polimer Bilimi Araştırma Laboratuvarları olmak üzere radyasyon teknolojisi kullanan hemen hemen her araştırma merkezinde bu konuda yapılan çalışmalar yoğunlaşarak devam etmektedir.

2.4. Doğal Polimerlerin Radyasyon Kimyası

Polimerik malzemelerin iyonlaştırıcı radyasyon (gama ışınları, X-ışınları, hızlandırılmış elektronlar, iyon ışınları) kullanılarak ışınlanması sonucunda reaktif ortamlar, serbest radikaller, uyarılmış iyonlar oluşmaktadır. Bu oluşumlar sonucunda polimerlerde, radyasyona bağlı polimerizasyon, çapraz bağlanma veya zincir kesilme reaksiyonları oluşmaktadır [46]. Polimerlerin iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalması sonucunda, kimyasal, fiziksel ve yüzey morfolojisinde bir takım değişiklikler meydana gelir. Kimyasal değişiklikler, çapraz bağlanma, zincir kesilmesi, gaz oluşumu, çift bağ oluşumu, oksijen etkisi, hapsedilmiş radikaller ve ışınlama sonrası etkileri ve katkı maddesi etkisi sıralanabilir. Polimerlerin mekanik özelliklerindeki değişimler, renk değişimi, kristalinite özelliğindeki değişim ve termal geçişler, fiziksel değişimlerdir. Yüzey morfolojisindeki değişimler ise, yüzey sertliğinin ve yüzeyin hidrofilik veya hidrofobik özelliğindeki değişikliklerdir.

Doğal polimerler kolay elde edilebilirliği, biyouyumluluğu, biyobozunurluğu ve daha birçok eşsiz özelliği sayesinde tercih edilmektedir. İyonlaştırıcı radyasyon son yıllarda doğal polimerlerin büyük molekülleri parçalayarak oligomerlerini elde etmek için sıklıkla kullanılan bir yöntem haline gelmiştir. Aslında, doğal polimerler, iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalması sonucunda ya çapraz bağlanırlar, ya da zincir kesilmesine uğrarlar. (Şekil 2.4) Bazı polimerlerde radyasyon sonucu oluşan radikallere bağlı olarak iki reaksiyon da gerçekleşebilir [47].



Şekil 2.4. Polimerlerde radyasyona bağlı zincir kesilmesi ve çapraz bağlanmanın şematik gösterimi

Wasikiewicz ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, gama ışınları kullanılarak sodyum aljinat, katı ve sulu çözelti fazında ışınlanmış, iyonlaştırıcı radyasyonun ışınlama koşulları üzerine etkisi incelenmiştir [48]. Diğer bir çalışmada, iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalmış kitosanın molekül ağırlığındaki değişim incelenmiş ve ışınlama dozu arttıkça M_v değerinin zincir kesilmesine bağlı olarak azaldığı sonucuna varılmıştır [22]. Şen ve arkadaşları tarafından yapılan, keçiyoynuzu çekirdeği sakızı (LBG), tara sakızı (TG) ve guar sakızı (GG) galaktomannanlarının katı halde iyonlaştırıcı ışınlarla etkileşimi ve radyasyonun zincir yapısında yarattığı etkilerin incelenmesi konusundaki çalışmaları sonucunda, radyasyonun galaktomannanlar üzerindeki ana etkisinin zincir kesilmesi olduğu belirlenmiştir [49].

Özellikle son on yılda kappa karragenan, sodyum aljinat [50–53] ve kitosanın [54–59] düşük molekül ağırlıklı fraksiyonlarının ya da oligosakkaritlerinin katı halde ve farklı çözelti derişimlerinde radyasyonla hızlandırılmış bozunma ile hazırlanması, modifikasyonu ve hazırlanan bu fraksiyonların bitki büyütme hızlandırıcısı, bitki koruyucusu olarak ve doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmasına yönelik yoğun bir ilgi vardır.

Ancak ne polisakkaritlerin radyasyonla uyarılmış bozunma çalışmalarında ne de sodyum aljinat, kitosan, galaktomannan oligosakkaritlerinin bitki büyütme hızlandırıcısı ve bitki koruyucusu olarak hazırlanması konusunda [48,60] yapılan diğer çalışmalarda polisakkaritin yapısal parametrelerinin radyasyon kararlılığı üzerindeki etkisi konusu bugüne kadar dikkate alınmamıştır. Bu konuda ilk çalışma Şen ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada, galaktomannanların NaAlg'ın, karragenanların yapısal parametreleri ile radyasyon kararlılıkları arasındaki ilişki ayrıntılarıyla verilmiştir [61]. Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda, kitosan için literatürdeki bu boşluk doldurulmuş ve bir polisakkarit olan kitosanın radyasyonla uyarılmış bozunmasına yapısal parametrelerin etkisi ayrıntılarıyla açıklanmıştır.

2.4.1. Kitosanın Radyasyon Kimyası

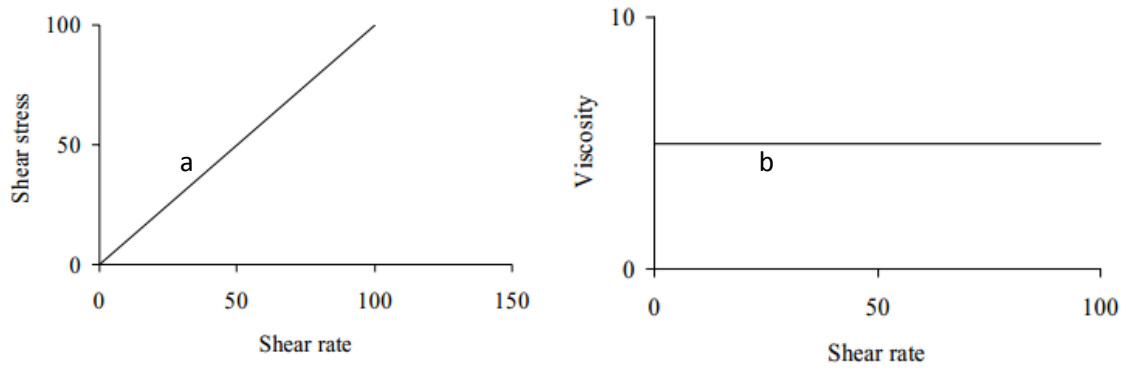
Birçok radyasyon işleme merkezinde, farklı alanlarda potansiyel uygulamalara ve yararlı özelliklere sahip olması nedeniyle, düşük molekül ağırlığına sahip kitosan

ve oligokitosanların gama ışını veya elektron demetleri kullanılarak hazırlanması konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Son yıllarda, kitosanın radyasyonla bozunması ve düşük molekül ağırlıklı kitosan elde edilmesiyle ilgili yapılan birçok çalışma ve uygulanan yöntem bulunmaktadır. Çeşitli yöntemler arasında, oksitleyici bozunma [5], elektrokimyasal işlem [6], ultrasonik muamele [7], ısıl depolimerizasyon [8], enzimatik yöntemler [9,10], mikro akışkanlaştırma ile birlikte ultrafiltrasyon işlemi [11], ultraviyole bozunma [12], ultraviyole ışık ve hidrojen peroksit kullanılarak gerçekleştirilen sinerjetik bozunma [13] ve gama ışınları ile bozunması [14-16] yer almaktadır. Kitosan doğal polimerinin gama ve elektron demetleri gibi iyonlaştırıcı radyasyon ile ışınladığında, zincir kesilmesine uğrayan bir polimer olduğu ve zincir kesilme veriminin başlangıç molekül ağırlığına ve sulu çözeltisinde veya katı halde ışınlanmasına bağlı olarak önemli oranda değiştiği bulunmuştur. [20,2] Ancak bu güne kadar kitosanın radyasyon kararlılığının deasetilizasyon derecesine bağlı olarak nasıl değiştiği konusunda yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu tez çalışmasında farklı deasetilizasyon derecesine sahip kitosan örnekleri iyonlaştırıcı radyasyon ile ışınlanarak, molekül ağırlığındaki değişim incelenmiş, bu değerler kullanılarak zincir kesilme verimleri ve bozunma hız sabitleri hesaplanmış ve deasetilizasyon derecesi ile radyasyon kararlılığı arasındaki ilişki belirlenmiştir.

2.5. Reolojik Analizler

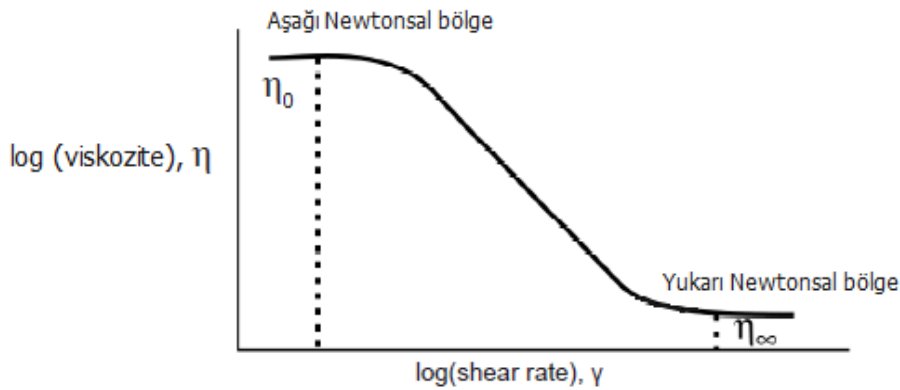
2.5.1. Newtonsal akış (Newtonian flow): Kayma gerilimi (shear stress (τ)) akışkanın birim alanının hareket ettirilebilmesi için gereken kuvvet olarak tanımlanmaktadır. Newtonsal akış eğilimi gösteren akışkanlar için kayma gerilimine karşı kayma hızı grafiğe geçirildiğinde sabit eğimi olan ve kayma hızına bağlı olmayan bir doğru elde edilir (Şekil 2.5). Bu eğim akışkanın viskozitesidir. Bütün gazlar ve su, etanol ve benzen gibi sıvılar Newtonsal akış gösterirler.



Şekil 2.5. Newtonsal akışkanların akış eğrileri (a) Kayma gerilimine karşı kayma hızı, (b) Viskoziteye karşı kayma hızı.

2.5.2. Newtonsal olmayan akış: Kayma gerilimi ve kayma hızı arasındaki Newtonsal ilişkiye uymayan tüm sıvılar Newtonsal olmayan akışkanlardır. Reolojinin konusu genellikle bu tip sıvılara yöneliktir. Yüksek molekül ağırlıklı polimerlerin sulu çözeltileri, polimer eriyikleri ve süspansiyonları vb. genellikle Newtonsal olmayan akış davranışı gösterir.

Şekil 2.6, Newtonsal olmayan bir akışkan için viskoziteye karşı kayma hızı eğrisini göstermektedir. Bu eğride genellikle çok yüksek ve çok düşük kayma hızlarında viskozitenin kayma hızından tamamen ya da hemen hemen bağımsız olduğu bir bölge ve bunların arasında da kayma hızına bağlı olarak oldukça değişen bir bölge bulunmaktadır [62].



Şekil 2.6. Newtonsal olmayan bir akışkanın viskozitesi

Akışkanın viskozitesi kayma hızı arttıkça azalıyorsa, akışkan kayma incelmesi (shear thinning) davranışı göstermektedir. Ters durumda ise, yani kayma hızı arttıkça viskozite artıyorsa, akışkan kayma kalınlaşması (shear chickening) özelliğine sahiptir. Kayma incelmesi davranışı kayma kalınlaşması davranışından daha sık karşılaşılan bir durumdur.

Genellikle temel Newtonsal akışkan eşitliği ($\tau = \mu \dot{\gamma}$) düşük molekül ağırlıklı polimer çözeltilerinin ve hatta çok düşük deformasyon hızlarında yüksek molekül ağırlıklı polimer çözeltilerinin reolojik özelliklerini tam olarak tanımlayabilmektedir. Ancak, viskozite polimerik sıvılar, emülsiyonlar ve derişik süspansiyonlarda kayma hızına oldukça bağlıdır ve temel eşitlik bu tip akışkanların reolojik özelliklerini tanımlamada yetersiz kalabilmektedir. Bu sebeple Newtonsal olmayan akışkanların kayma gerilimi ve kayma hızı arasındaki ilişkiyi tanımlamak amacıyla pek çok matematiksel modeller geliştirilmiştir [63]. Bu modeller, akışkanın belli fonksiyonları gösterebilme yeteneğini belirlemek için akış özelliklerini karakterize etmek amacıyla kullanılmaktadırlar.

3. DENEYSEL TEKNİKLER

3.1 Kullanılan Kimyasallar

Bu çalışmada Heppe Medical Chitosan (HMC) GmbH firmasında üretilen deasetilizasyon derecesi yaklaşık 75, 80, 90, 95 olan kitosanlar kullanılmıştır. % 1' lik kitosan çözeltilerinin % 1'lik asetik asit deki viskoziteleri 755-1090 mPas aralığındadır. Bu nedenle kitosan örnekleri için üretici firma tarafından yapılan 75/1000, 80/1000, 90/1000 ve 95/1000 kısaltmaları tez kapsamında örneklerin tanımlanmasında kullanılmıştır. Kullanılan kitosanların isimleri, viskozite değerleri, firma tarafından belirlenmiş deasetilizasyon değerleri (DD) Tablo 3.1' de, sertifikaları ise Ekler bölümünde verilmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan kitosanların isimleri, viskozite değerleri, firma tarafından belirlenmiş deasetilizasyon değerleri (DD)

Örneğin Adı	Viskozite değeri (mPas)	DD değeri (%)
Chi 75/1000	803	74,3
Chi 80/1000	755	79,5
Chi 90/1000	1050	91,8
Chi 95/1000	1090	94,2

¹H-NMR analizleri için kullanılan D₂O, HCl, potansiyometrik titrasyon analizleri için kullanılan NaOH, UV analizlerinde standart çözeltilerin hazırlanması için kullanılan Asetil-glikozamin (GlcNAc), D-glikozamin hidroklorik asit (GlcN) ve fosforik asit Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir.

3.2 Kitosanın Işınlama Çalışmaları

İyonlaştırıcı ışınların kitosanın molekül ağırlığı, deasetilizasyon derecesi ve zincir kesilme verimi üzerindeki etkisinin incelenmesi amacıyla Tablo 3.1’ de verilen tüm kitosan örnekleri önce bir gün etüvde bekletilmiş, daha sonra 26 Gy/saat doz hızındaki Gamma Cell 220 ⁶⁰Co gama kaynağı kullanılarak 5, 10, 25, 35 kGy dozlarda ışınlanmıştır.

3.3. Deasetilizasyon Derecesi (DD) Değerinin Hesaplanması

İşinlanmamış ve farklı dozlarda ışınlamış kitosan örneklerinin deasetilizasyon derecelerini hesaplamak için kullanılan yöntemler ¹H-NMR, FT-IR, potansiyometrik titrasyon ve UV-görünür bölge spektroskopisidir.

3.3.1. ¹H-NMR Yöntemi

Deasetilizasyon derecesinin hesaplanmasında en sık kullanılan mutlak yöntem, ¹H-NMR yöntemidir. Çalışmada Analizler için Bruker 400 Ultra model ¹H-NMR cihazı kullanılmıştır. Analizler 70 °C de yapılmıştır. 5-10 mg kitosan örneğinin üzerine 1 mL D₂O eklenmiş çözünmesi için yaklaşık 20 cc HCl buharı çözücüye enjekte edilmiştir.

3.3.2. FT-IR Yöntemi

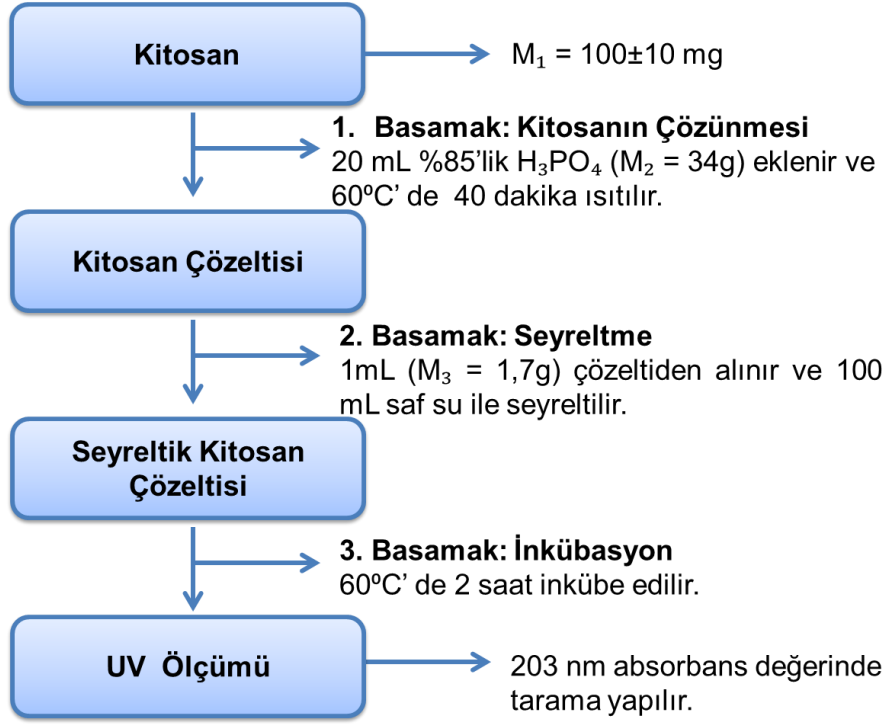
Örneklerin IR spektrumları Nicolet 520 model FT-IR spektrometresi kullanılarak 400 cm⁻¹ ila 4000 cm⁻¹ aralığında elde edilmiştir.

3.3.3. Potansiyometrik Titrasyon Yöntemi

0,2 g kitosan örnekleri 20 mL 0,10 M'lık HCl' de çözüldükten sonra 10 mL saf su ile seyreltilmiştir. 0,01 M NaOH ile pH değeri yaklaşık olarak 2'ye ayarlanmıştır ve başlangıç noktası olarak kabul edilmiştir. 0,250 mL'lik NaOH çözeltisi eklenerek dengeye gelinceye kadar sürekli karıştırılmış ve pH değeri kaydedilmiştir. pH değeri 12' ye gelinceye kadar bu işlem tekrarlanmıştır [64,41]

3.3.4. UV-Görünür Bölge Spektroskopisi Yöntemi

Kitosan örneklerinin DD'sinin UV-görünür bölge spektroskopisi yöntemi kullanılarak tayin edilmesinde Wu ve Zivanovic tarafından Şekil 3.1'de şematik olarak gösterilen metot kullanılmıştır [42].



Şekil 3.1.DD değerinin hesaplanması için kullanılan metot

Standart çözelti olarak kullanılan Asetil-glukozamin (GlcNAc) ve D-glukozamin hidroklorür (GlcN), %85'lik fosforik asitte 0,10, 20, 30, 40 ve 50 μ g/ml derişimlerde hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisi, GlcNAc ve GlcN derişimlerinin bir fonksiyonu olarak 200nm'de (H200) UV değerleri kullanılarak çizilmiştir.

3.4. Molekül Ağırlığı Tayini

İyonlaştırıcı radyasyonun bir doğal polimerin üzerindeki etkisini incelemek ve radyasyonun o polimer için zincir kesilmesi mi yoksa çapraz bağlanma reaksiyonlarını mı gerçekleştirdiğini incelemek amacıyla yapılan en temel analiz molekül ağırlığı tayinidir.

İşinlanmamış ve farklı dozlarda işinlanmış kitosan örneklerinin molekül ağırlığı karakterizasyonu için Waters marka Breeze model Büyüklükçe Ayırma Kromatografisi (BAK) , çözücü olarak 0,2 M asetik asit/0,1 M sodyum asetat tamponu ve Ultrahidrojel 2000, 1000, 500 ve 250 kolonları kullanılmıştır.

Evrensel kalibrasyon eğrisi çizmek için dar molekül ağırlığı dağılımına sahip polietilen oksit (PEO) polimeri kullanılmış ve PEO'nun kullanılan çözücündeki Mark-Houwink sabitleri olarak $K = 6,4 \times 10^{-5} \text{ dl/g}$ ve $\alpha = 0,82$ kullanılmıştır [65].

3.5. Reolojik Analizler

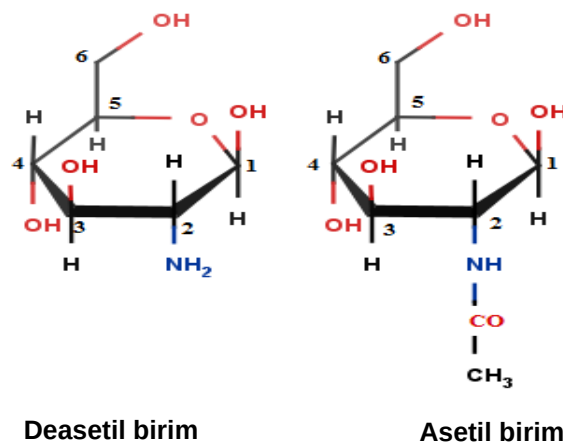
Işınlamanın ve deasetilizasyon derecesinin kitosan polimerinin viskozitesine ve akış davranışına olan etkisini belirlemek amacıyla %2'lik (v/w) kitosan çözeltilerinin 25 °C'deki akış eğrileri (flow curves) incelenmiştir.

Tüm kitosan çözeltileri için reolojik çalışmalar, koni-plaka düzeneğine sahip gerinim kontrollü reometre kullanılarak yapılmıştır. [Thermo-Haake (MARS) (Modular Advanced Rheometer System)] (koninin yarıçapı 35 mm, açısı 4° dir. Plakalar arası mesafe 0,139 mm dir.). Akış Eğrisi taraması testleri 25°C de ve 0,1-500 1/s arası geniş bir kayma hızı aralığında incelenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. ¹H-NMR Yöntemi ile Deasetilizasyon Derecesinin Bulunması

Literatürde, kitosanın deasetilizasyon derecesinin ¹H-NMR ile hesaplanmasında kullanılan genellikle üç farklı değerlendirme yöntemi kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi, Şekil 4.1'de verilen deasetile olmuş monomere ait (H1) proton ve asetil grubuna (H-Ac) ait üç proton pikinin integre edilmesiyle elde edilen alan değerleri kullanılarak oluşturulan ve bundan sonra Metot 1 olarak adlandırılacak olan yöntemdir [38,39].



Şekil 4.1. Kitosanın yapısındaki asetile ve deasetile birimler

$$DD(\%) = \left(\frac{H1D}{H1D + HAc / 3} \right) \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

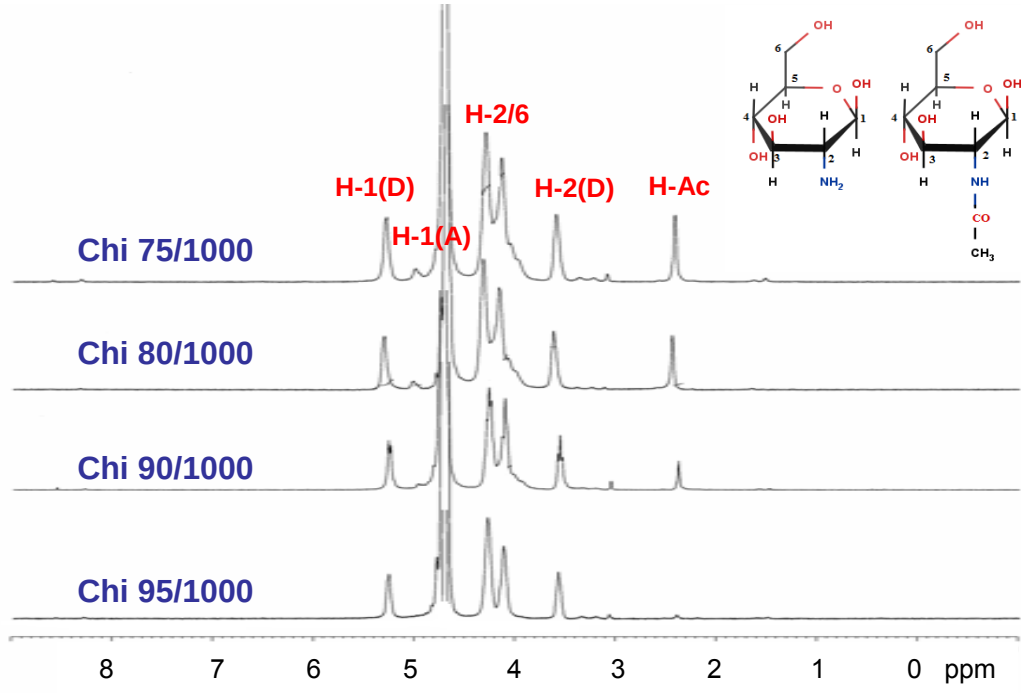
Hirai ve arkadaşları [66] tarafından önerilen ikinci değerlendirme yönteminde (Metot 2) asetile olmuş monomerin asetil grubuna ait protonların pik alanı (H-Ac) ve H2, H3, H4, H5, H6 protonlarının alanı (H26) kullanılarak deasetilizasyon derecesi hesaplanmaktadır.

$$DD(\%) = \left(1 - \left(\frac{1}{3} HAc / \frac{1}{6} H26 \right) \right) \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

Deasetilizasyon derecesinin hesaplanmasında kullanılan bir diğer eşitlikte ise asetile ve deasetile olmuş monomere ait (H1-D, H1-A) proton pikleri kullanılır. Bu metot, tez kapsamında Metot 3 olarak adlandırılmıştır [39].

$$DD(\%) = \left(\frac{H1D}{H1D + H1A} \right) \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

Ancak 3 no'lu yöntemin DD değeri % 90'ın altında ise kullanılabileceği, yüksek deasetilizasyon derecesine sahip kitosan için uygun olmadığı tespit edilmiştir. Bunun sebebi NMR spektrumlarında H1-A pikinin net olarak gözlenememesidir. Bu önerinin geçerli olduğu Chi 95/1000 örneğinin NMR spektrumunda da açıkça görülmüştür. DD değerinin tayin edilmesi için çalışılan tüm kitosan örneklerine ait ¹H-NMR spektrumları Şekil 4.2' de verilmiştir.



Şekil 4.2.Farklı DD'ye sahip Kitosan örneklerinin ¹H-NMR spektrumları

Şekil 4.2' de verilen ¹H-NMR spektrumlarının yukarıda belirtilen üç metoda göre değerlendirilmesi sonucunda elde edilen DD değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Deasetilizasyon Derecesi Değerleri

Kitosan	Metot 1	Metot 2	Metot 3	HMC Değerleri
75-1000	82,4	78,1	78,7	77,3 (+0,8)
80-1000	82,9	80,0	84,0	79,5 (+0,5)
90-1000	91,5	89,9	89,3	91,8 (-1,9)
95-1000	98,4	97,0	-	94,2 (+2,8)

Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi Metot 1 ve 2 ile hesaplanan DD değerleri HMC firması tarafından titrasyon yöntemi ile hesaplanan değerlerine oldukça yakındır. HMC değerlerinin altında parantez içinde verilen değerler, Metot 2 ile elde edilen değerlerin HMC tarafından tayin edilen değerlerden farkını göstermektedir. Metot 3 ile hesaplanan değerler H1A pikinin düşük pik şiddeti ve alanı nedeniyle diğer metotlarla hesaplananlara göre farklılık göstermektedir. Bu sonuçlar NMR yöntemi ve Metot 1 ile Metot 2 kullanılarak potansiyometrik sonuçlara yakın değerler elde edilebileceğini göstermiştir.

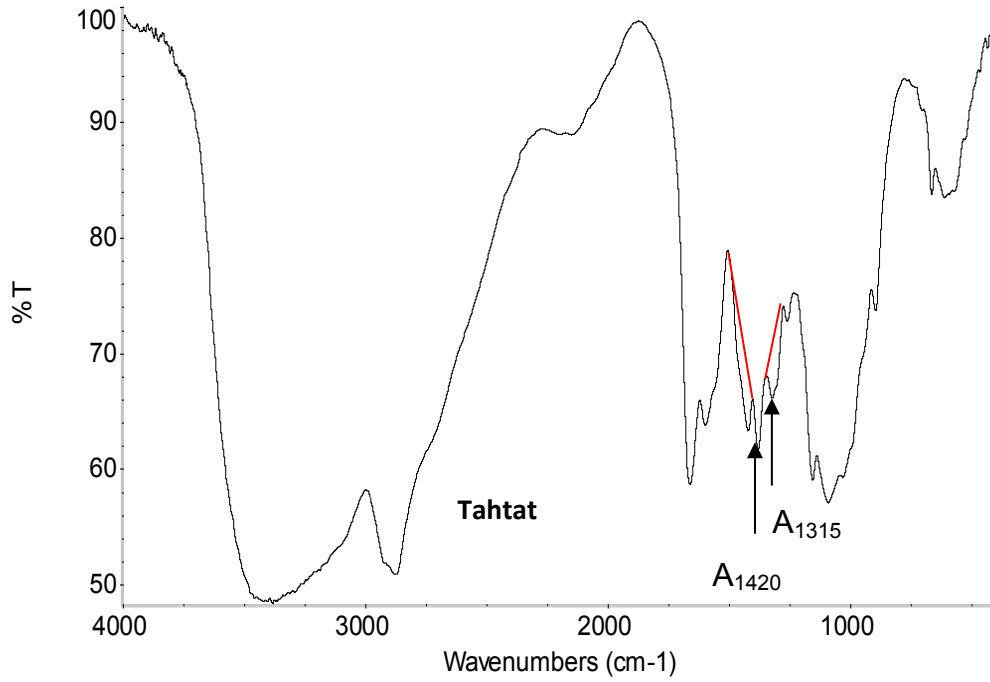
4.2. FTIR Yöntemi ile Deasetilizasyon Derecesinin Bulunması

Literatürde DD' nin FT-IR yöntemi ile hesaplanması için birçok araştırmacı tarafından farklı analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Bu çalışmalar Tablo 4.2' de özetlenmiştir.

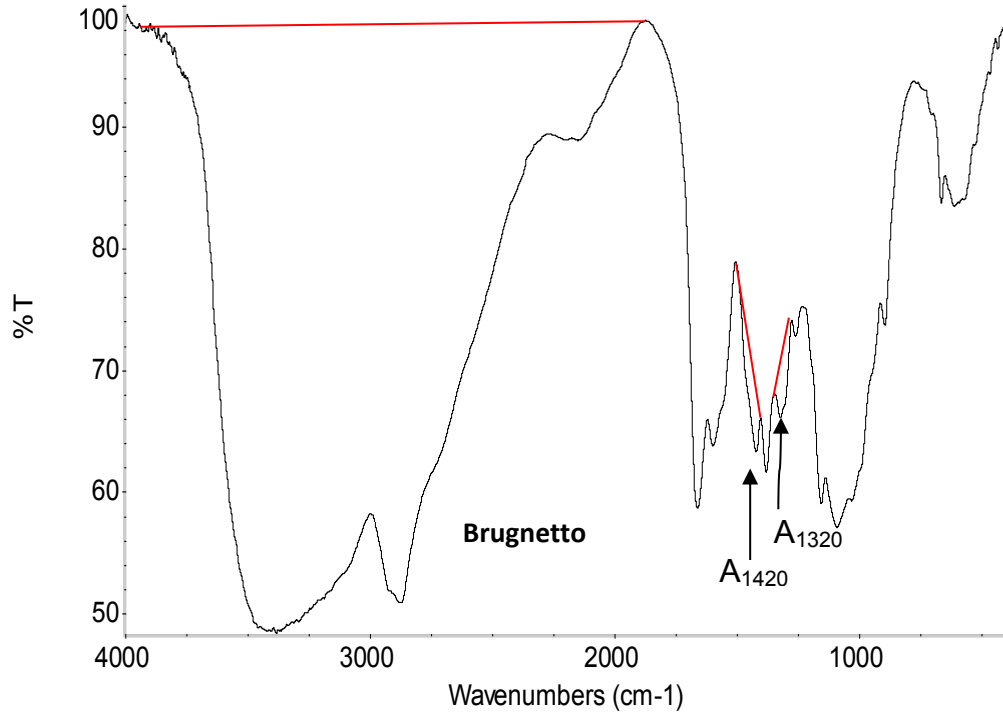
Tablo 4.2. FT-IR yöntemiyle DD' nin hesaplanmasında kullanılan metodun adı, hesaplanan pikler ve kalibrasyon eğrisi denklemi

Metodun Adı	Hesaplanan Pikler	Kalibrasyon Eğrisi Denklemi
Tahtat (a), 2007 [40]	A_{1315}/A_{1420}	$DD\% = [1.58-(A_{1315}-A_{1420})]/0,0104]$
Guinesi, 2006 [67]	A_{1655}/A_{3450}	$DD\% = 100-[(A_{1655}/A_{3450})\times 115]$
Zainol, 2009 Baseline(a) [68]	A_{1655}/A_{3450}	$DD\% = 100-[(A_{1655}-A_{3450})\times 100/1,33]$
Zainol, 2009 Baseline(b) Guinesi metodu ile aynıdır. [68]	A_{1655}/A_{3450}	$DD\% = 100-[(A_{1655}/A_{3450})\times 115]$
Brugnetto, 2001[69]	A_{1320}/A_{1420}	$DD\% = 100-[(A_{1320}-A_{1420})-0,03146]/0,00226]$
Brugnetto, 2001[69]	A_{1320}/A_{3450}	$DD\%=100-[(A_{1320}-A_{3450})-0,03822)/ 0,003133]$

Tahtat ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemde, Kitosanın yapısında bulunan N-asetil glikozamin birimine ait karakteristik absorbands bantı 1315 cm^{-1} dalga boyunda gözlenmiştir ve ışınlama dozunun artmasıyla pik şiddetinde azalma meydana gelmektedir. Deasetilizasyon derecesi hesaplanırken, Şekil 4.3’ de verilen IR spektrumunda yer alan 1420 cm^{-1} dalga boyundaki pik referans olarak kullanılmıştır. Deasetilizasyon derecesine karşı 1315 cm^{-1} ve 1420 cm^{-1} bantlarına ait absorbands değerleri oranı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur [40]. Benzer bir eğri Şekil 4.4’ de verilen 1320 ve 1420 cm^{-1} dalga boyundaki pik şiddetleri kullanılarak Brugnetto ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş ve kalibrasyon eğrisi denklemi Tablo 4.2’ de verilmiştir [69].

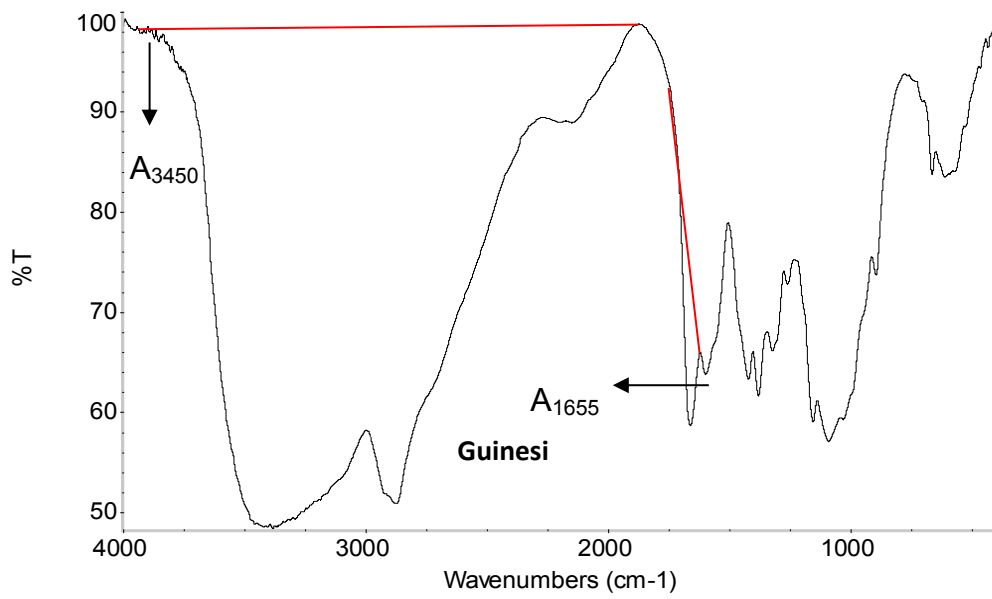


Şekil 4.3. Tahtat tarafından kullanılan pikler ve temel çizgiler



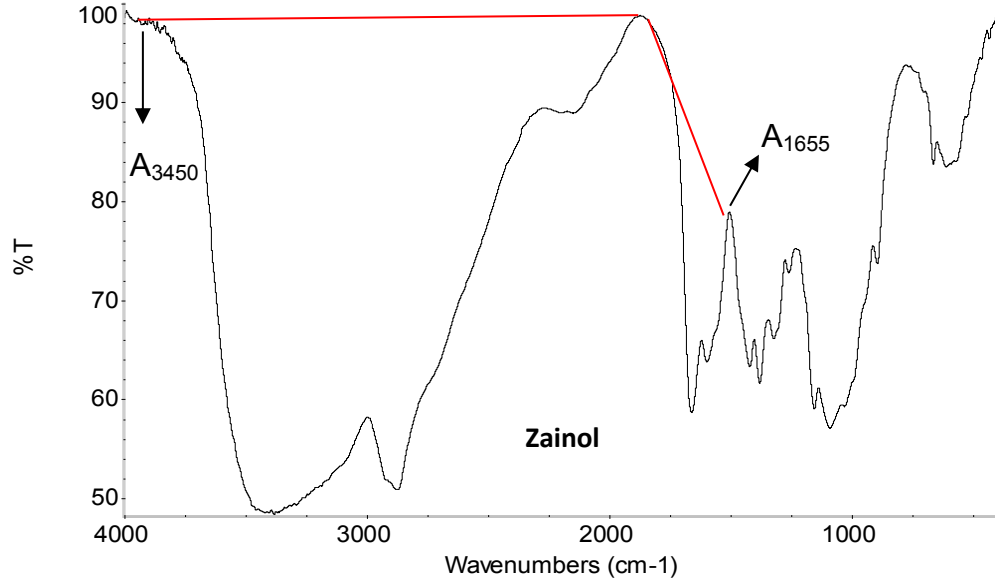
Şekil 4.4.Brugnetto tarafından kullanılan pikler ve temel çizgiler

Guinesi ve arkadaşları tarafından, DD'nin hesaplanması için 1655 cm^{-1} dalga boyunda pik veren asetil gruplarına ait amid I bandının ve 3450 cm^{-1} dalga boyundaki hidroksil gruplarına ait referans bandının pik şiddetleri kullanılmıştır (Şekil 4.5.) [67].



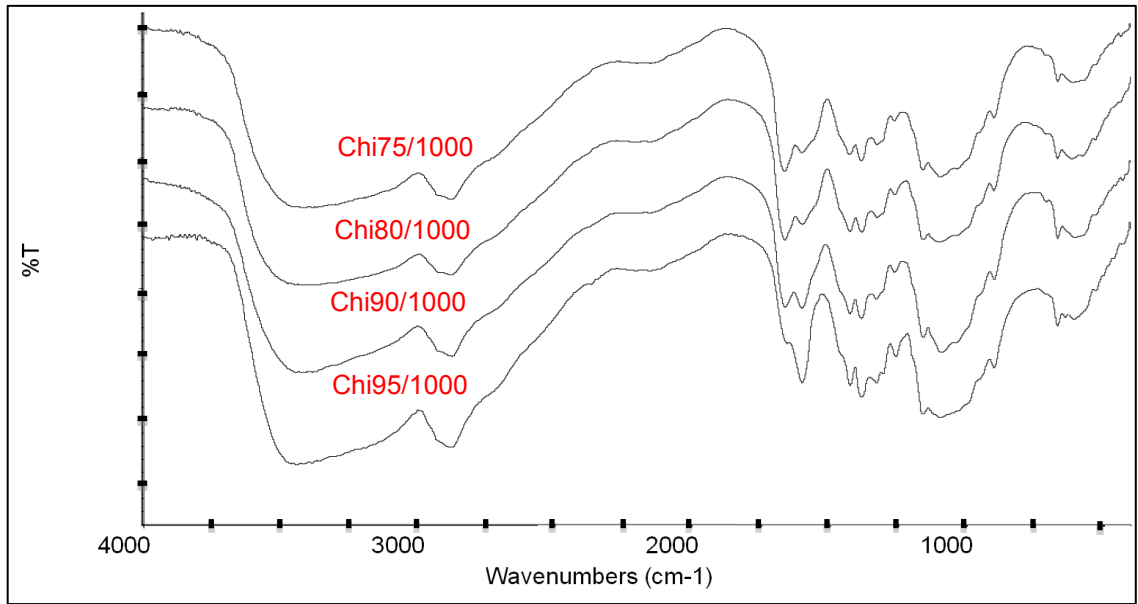
Şekil 4.5. Guinesi tarafından kullanılan pikler ve temel çizgiler

Zainol ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, kitosan örnekleri için DD değeri, 1655 ve 3450 cm^{-1} dalga boyundaki piklerin mutlak yükseklikleri kullanılarak hesaplanmıştır [68]. (Şekil 4.6.)



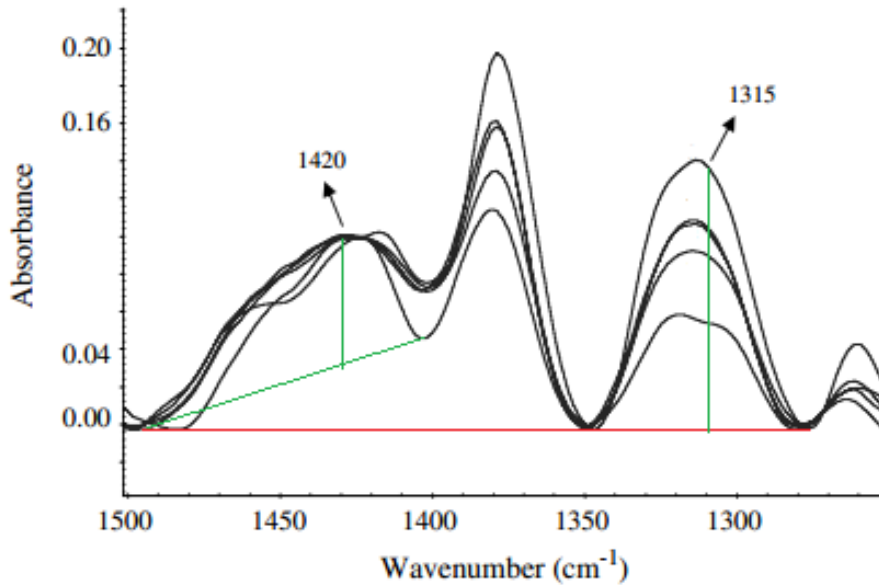
Şekil 4.6.Zainol tarafından kullanılan pikler ve temel çizgiler

75, 80, 90, 95/1000 deasetilizasyon derecesine sahip kitosan örneklerine ait FT-IR spektrumları Şekil 4.7.' de verilmiştir.



Şekil 4.7.Farklı DD' ye sahip kitosan örneklerinin IR spektrumları

Literatürde verilen ve yukarıda tanımlanan metotlar kullanılarak hesaplanan DD değerleri incelendiğinde her yöntemle birbirinden çok farklı DD değerleri bulunmuştur (Tablo 4.3). Yapılan değerlendirmeler sonunda absorbans şiddetindeki %2' lik bir değişimin yaklaşık olarak % 4 lük bir sapmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Bu sapmaya birçok parametrenin etki ettiği düşünülmektedir. Bunlardan bazıları, numunenin nemli olması, kalibrasyon eğrisi aralığı, zemin düzeltmesindeki farklılıklardır. Ancak bu parametrelerden en önemlisi kalibrasyon eğrisi aralığıdır. Tablo 4.3' de FTIR metoduyla hesaplanan DD değerleri ¹H-NMR yöntemiyle hesaplanan (parantez içinde kırmızı renkle verilen değerler) değerlerle kıyaslanmıştır. Tablo 4.3 incelendiğinde, Tahtat ve arkadaşlarının çalışmasında kullanılan zemin düzeltme tekniği (yaklaşık 1500cm⁻¹, 1300 cm⁻¹, ve 1280 cm⁻¹, deki spektrum noktası kullanılarak üç noktadan yapılan zemin düzeltmesi) ve geniş kalibrasyon eğrisi aralığı sayesinde hesaplanan DD değerlerinin HMC firmasının değerlerine oldukça yakın olduğu bulunmuştur. HMC firmasının hesapladığı değerler parantez içinde siyah renkle gösterilmiştir. Tahtat ve arkadaşları tarafından geliştirilen zemin düzeltme tekniği (Şekil 4.8) kullanılarak hesaplanmış DD değerinin FTIR ile deasetilizasyon değerinin hesaplanmasında bugüne kadar geliştirilen yöntemler içinde en güvenilir teknik olduğu sonucuna varılmıştır [40].



Şekil 4.8.DD' nin hesaplamasında kullanılan zemin düzeltme tekniği

Tablo 4.3. FTIR metoduyla hesaplanan DD değerleri

Metot	Kitosan 75/1000 (77,3)	Kitosan 80/1000 (79,5)	Kitosan 90/1000 (91,8)	Kitosan 95/1000 (94,2)
Tahtat (a), 2007 A_{1321}/A_{1421}	73,4 (-4,7)	90,7 (+10,7)	89,8 (-0,1)	91,8 (-5,2)
Tahtat (b), 2007 A_{1321}/A_{1421}	75,1 (-3,0)	78,7 (-1,3)	95,0 (+5,1)	96,0 (-1,0)
Guinesi, 2006 A_{1655}/A_{3450}	61,8 (-16,3)	66,1 (-13,9)	75,8 (-14,1)	94,6 (-2,4)
Zainol, 2009 A_{1655}/A_{3450}	53,5 (-24,6)	58,3 (-21,7)	64,8 (-25,1)	76,5 (-20,5)
Zainol, 2009 A_{1655}/A_{3450}	61,8 (-16,3)	66,1 (-13,9)	75,8 (-14,1)	94,6 (-2,4)
Brugnetto, 2001 A_{1320}/A_{1420} (BL6/BL9)	73,4 (-4,7)	90,7 (+10,7)	89,8 (-0,1)	91,8 (-5,2)
Brugnetto, 2001 A_{1320}/A_{3450} (BL6/BL1)	77,9 (-0,2)	78,4 (0,6)	82,8 (-7,1)	79,3 (-17,7)

4.3. Potansiyometrik Titrasyon Yöntemi ile Deasetilizasyon Derecesinin Bulunması

DD'nin potansiyometrik titrasyon yöntemi ile hesaplanmasında, Tan ve arkadaşları [60] tarafından önerilen yöntem öne çıkmaktadır. Bu yöntemde kitosan örnekleri HCl ile muamele edildikten sonra çözeltinin pH'ı NaOH ile 2'ye ayarlanır ve başlangıç noktası olarak kabul edilir. Daha sonra NaOH çözeltisi eklenerek dengeye gelinceye kadar sürekli karıştırılır ve pH değeri kaydedilir. Tez kapsamında kitosan örneklerine ait DD'nin hesaplanmasında bu teknik ve aşağıdaki eşitlikler kullanılmıştır.

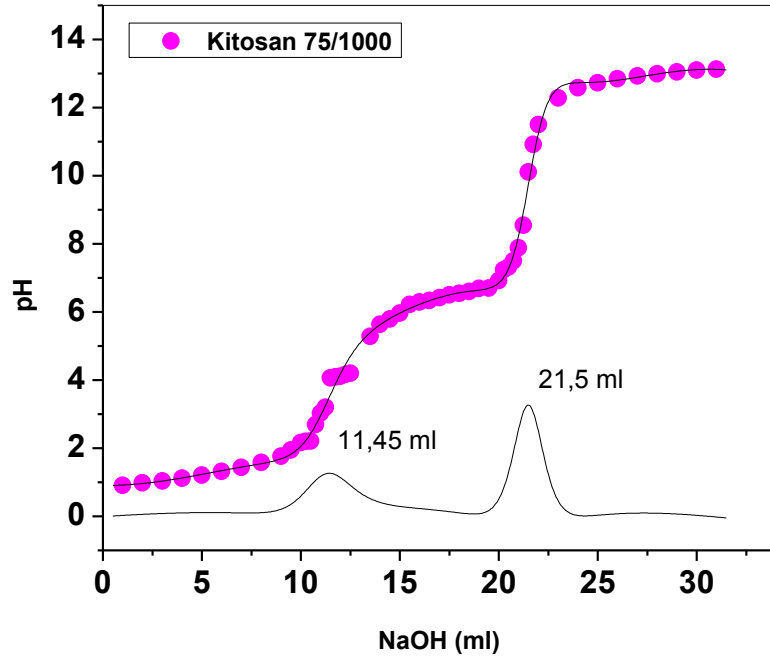
$$f(x) = \left(\frac{V_0 + V}{N_B} \right) \times ([H^+] - [OH^-]) \dots \dots \dots (4)$$

Eşitlik 4' de yer alan V_0 kitosan çözeltisinin hacmini (mL), V eklenen NaOH 'un hacmini (mL), N_B NaOH'un konsantrasyonunu (M), $[H^+]$ hidronyum iyonunun konsantrasyonunu (M), $[OH^-]$ ise hidroksil iyonunun konsantrasyonunu ifade etmektedir. Titrasyon eğrisi NaOH hacmine karşı $f(x)$ grafiği çizilerek elde edilmiştir. Titrasyonun dönüm noktasındaki NaOH hacmi V_e ekstrapole edilmiştir ve pH aralığı yaklaşık olarak 1,5-3,0 olarak belirlenmiştir. Kitosan örneklerine ait DD değerleri aşağıdaki 5 no'lu eşitlik ile hesaplanmıştır.

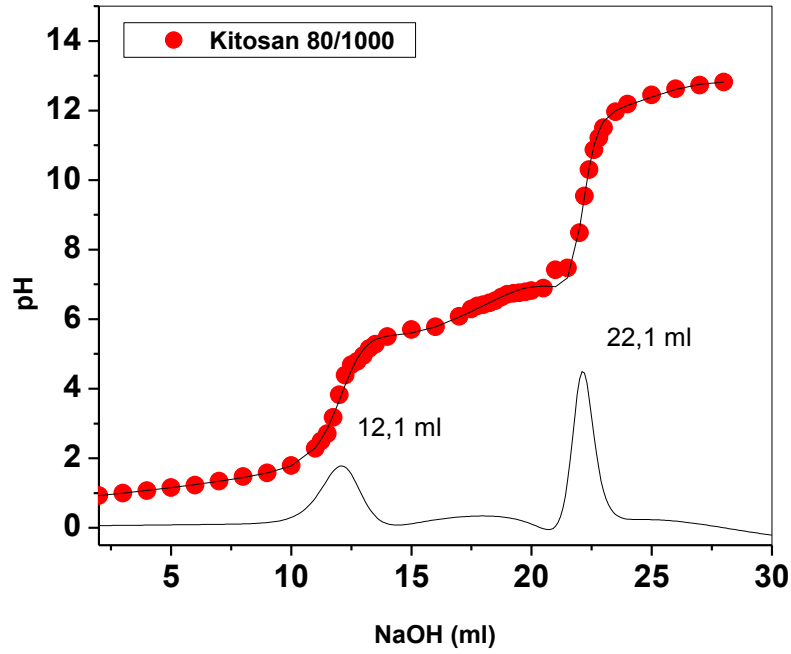
$$DD(\%) = \frac{\emptyset}{\left[\frac{(W - 161 \times \emptyset)}{204} + \emptyset \right]} \times 100 \dots \dots \dots (5)$$

Eşitlik 5' de yer alan $\emptyset$ değeri, $\emptyset = \frac{(N_A \times V_A - N_B \times V_e)}{1000}$ olarak ifade edilir ve N_A HCl'nin konsantrasyonunu (M), V_A HCl'nin hacmini (mL), N_B NaOH'un konsantrasyonunu, V_e NaOH'un dönüm noktasındaki hacmini, W örneğin kütlesini ifade etmektedir [64, 41].

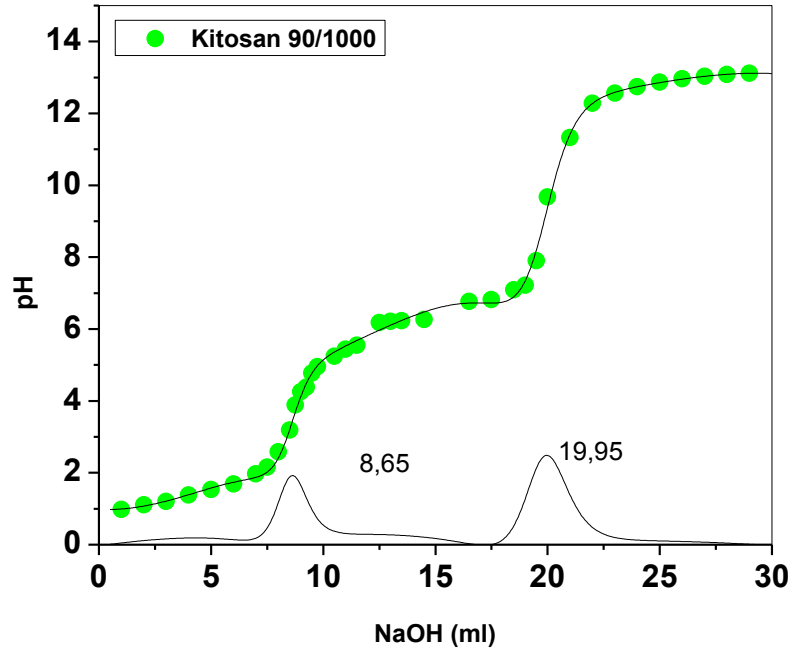
Şekil 4.9-4.12' de kitosan örneklerine ait potansiyometrik titrasyon eğrileri verilmiştir.



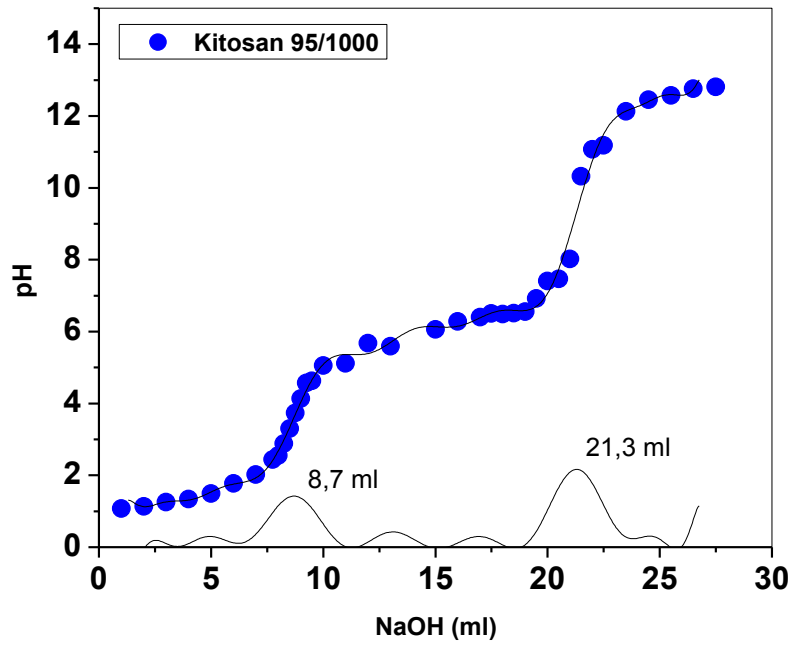
Şekil 4.9.Kitosan 75/1000' e ait potansiyometrik titrasyon eğrisi



Şekil 4.10.Kitosan 80/1000' e ait potansiyometrik titrasyon eğrisi

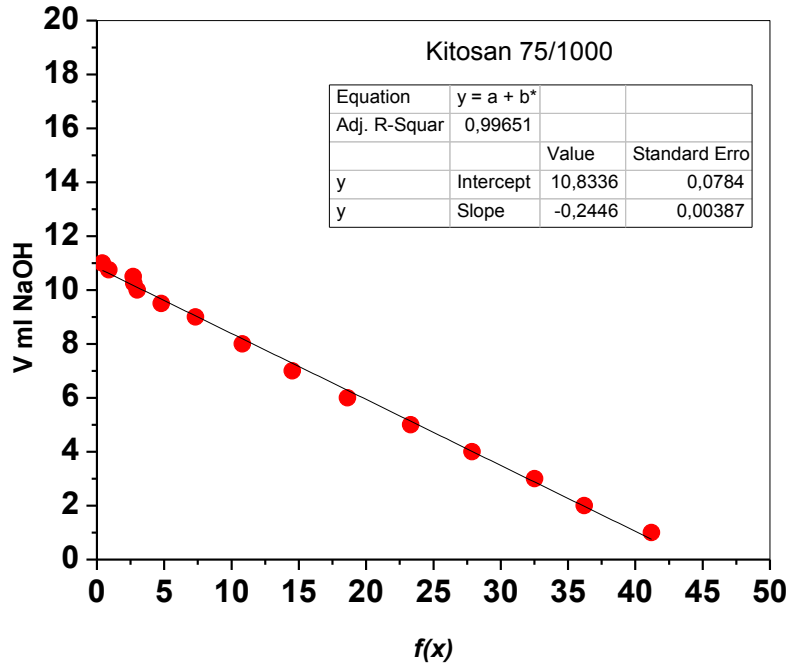


Şekil 4.11.Kitosan 90/1000' e ait potansiyometrik titrasyon eğrisi



Şekil 4.12.Kitosan 95/1000' e ait potansiyometrik titrasyon eğrisi

Şekil 4.13' de Kitosan75/1000'e ait $f(x)$ 'e karşı harcanan NaOH hacmi eğrisi bulunmaktadır. Hesaplanan DD değerleri Tablo 4.4'de özetlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, bu yöntem ile elde edilen değerlerin, HMC firması tarafından hesaplanan değerlere oldukça yakın olduğu görülmektedir. HMC firmasının hesapladığı değerler parantez içinde siyah renkle, $^1\text{H-NMR}$ metodu ile hesaplanan değerlerle olan farklar kırmızı renk ile Tablo 4.4'de gösterilmiştir.



Şekil 4.13.Kitosan 75/1000' ait $f(x)$ 'e karşı harcanan NaOH hacmi eğrisi

Tablo 4.4. Potansiyometrik titrasyon yöntemiyle hesaplanan DD değerleri

Kitosan	75/1000 (77,33)	80/1000 (79,50)	90/1000 (91,80)	95/1000 (94,20)
DD	78,1 (-4,4)	81,2 (-1,7)	88,9 (-2,6)	94,6 (-3,8)

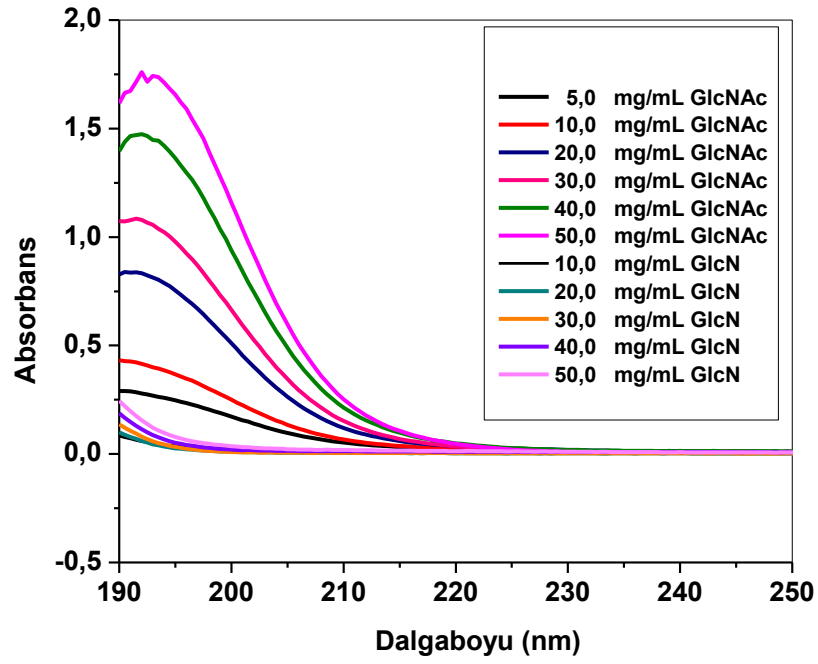
4.4. UV- Vis Yöntemi ile Deasetilizasyon Derecesinin Bulunması

Literatürde, Wu ve Zivanovic [42] tarafından önerilen yöntemde, UV-görünür bölge spektroskopisi yöntemi kullanılarak DD'nin hesaplanması amacıyla kitosan örnekleri H_3PO_4 ile çözündükten sonra seyreltilerek 60 °C'de inkübe edilmiştir. Tez kapsamında, tüm kitosan örnekleri bu metot ile hazırlanmış, hazırlanan kitosan çözeltilerinin 203 nm absorpsiyon değerinde UV ölçümleri yapılmıştır. Kalibrasyon eğrisi, standart çözelti olarak kullanılan GlcNAc ve GlcN derişimlerinin bir fonksiyonu olarak 200nm'de (H200) absorpsiyon değerleri kullanılarak çizilmiştir.

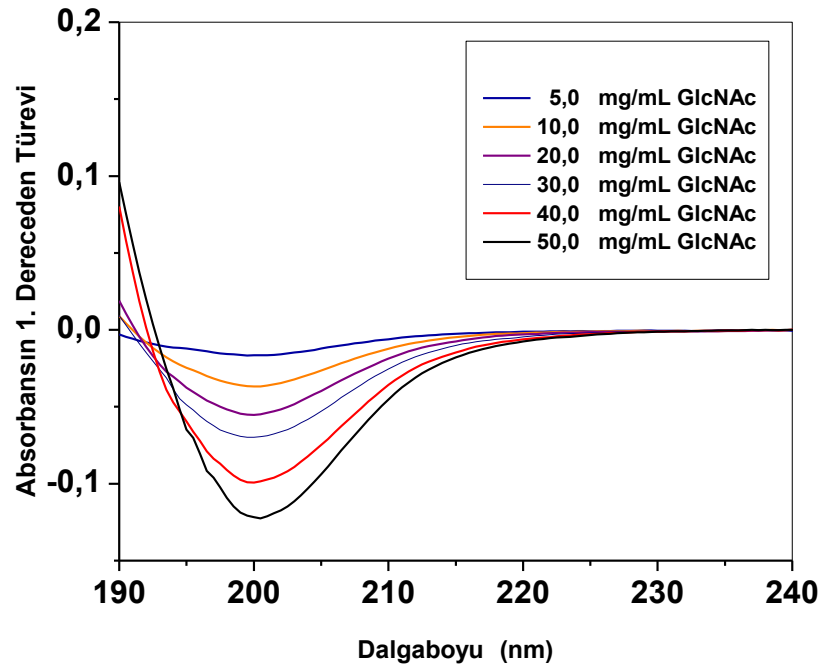
GlcNAc ve GlcN'ye ait UV spektrumları Şekil 4.14' de, ilk türevlerine ait eğriler ise sırasıyla Şekil 4.15 ve 4.16' da verilmiştir. Spektrumlar incelenerek yapılan doğrusal regresyon çalışmaları sonucunda en iyi regresyonun 200 nm' de gerçekleştiği görülmektedir. Bu sebeple DD'nin hesaplanmasında 200nm'deki değer seçilmiş ve H200 olarak sembolize edilmiştir. Şekil 4.17' de verilen, 0-50 µg/mL derişim aralığındaki GlcNAc ve GlcN'ye karşı H200 değerleri grafiği incelendiğinde iyi bir regresyon değeri ($R^2 = 0,994$) gözlenmiştir. DD değerinin hesaplanmasında, aşağıdaki 6 no'lu eşitlik kullanılmıştır.

$$DD(\%) = 100 - \frac{\frac{m_1}{203,21}}{\frac{m_1}{203,21} + \frac{m_2}{161,17}} \times 100 \dots\dots\dots (6)$$

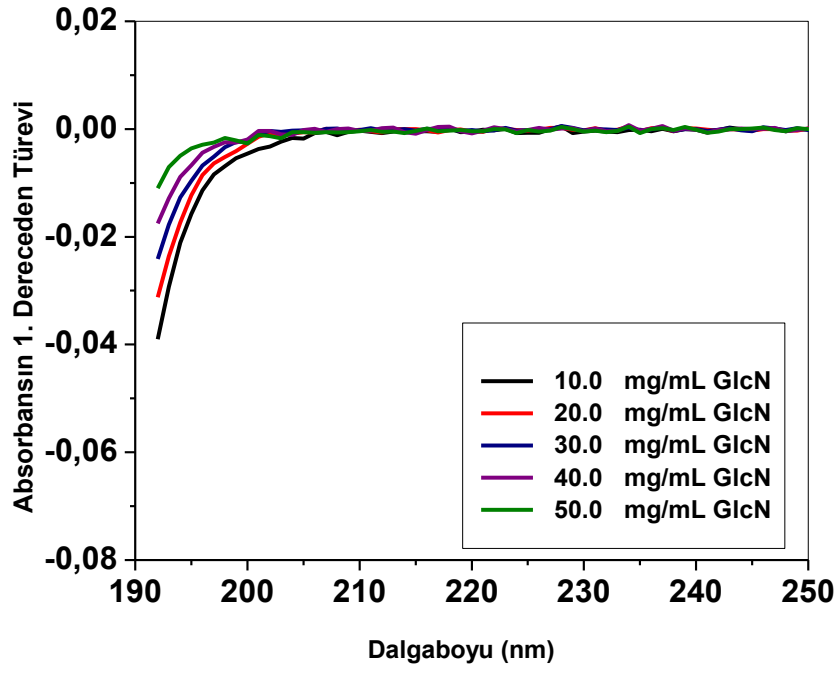
Eşitlikte yer alan m_1 1mL'lik kitosan çözeltisindeki asetil-glukozamin kütlesini, m_2 1mL'lik kitosan çözeltisindeki glukozamin kütlesini ifade etmektedir ve m_2 değeri; $m_2 = M - m_1$ eşitliği kullanılarak hesaplanır [42].



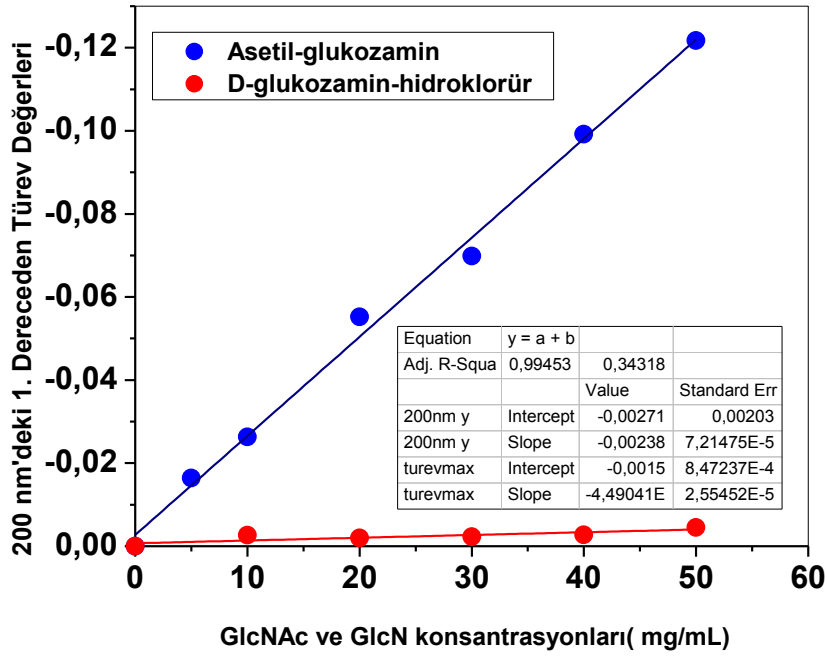
Şekil 4.14.GlcNAc ve GlcN'ye ait 0-50 µg/ ml aralığındaki UV spektrumları



Şekil 4.15.GlcNAc'in ilk türevine ait UV spektrumu

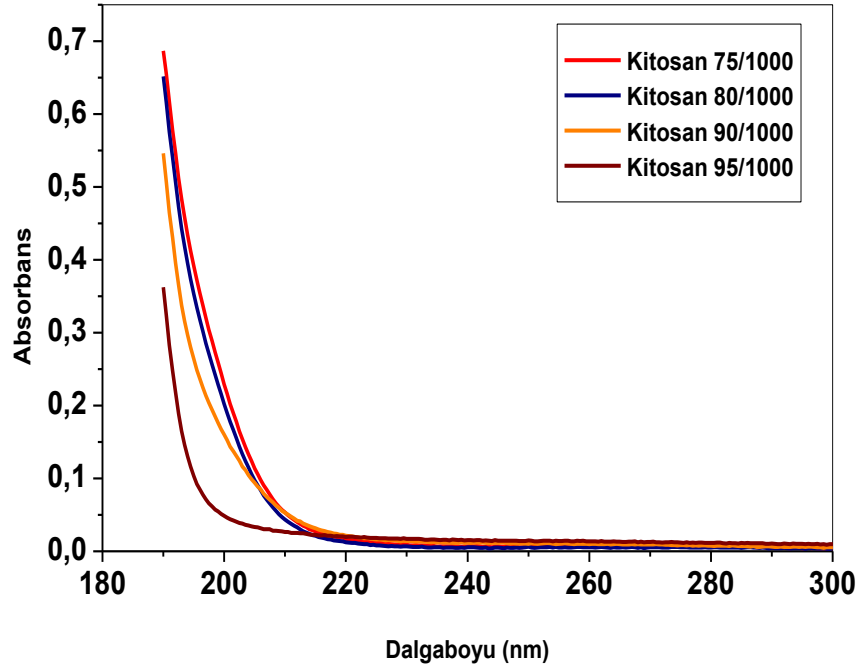


Şekil 4.16.GlcN'nin ilk türevine ait UV spektrumu

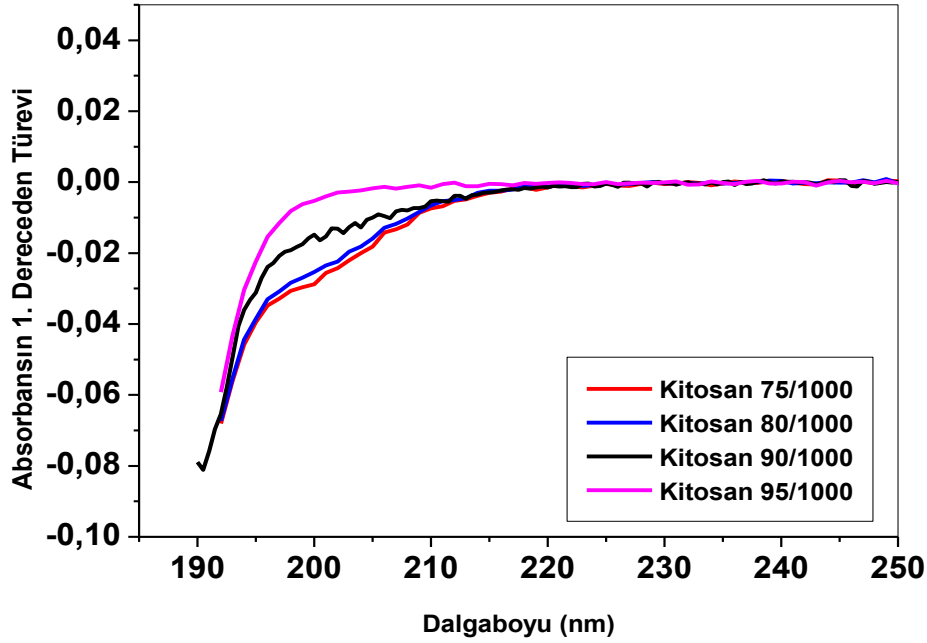


Şekil 4.17.GlcNAc ve GlcN'ye ait 200nm'deki UV kalibrasyon eğrisi

Şekil 4.18 ve 4.19 'da, farklı DD'ye sahip kitosan örneklerine ve ilk türevlerine ait UV spektrumları ve hesaplanan DD değerleri Tablo 4.5' de verilmiştir. Bu değerlere bakıldığında, $^1\text{H-NMR}$ yöntemi ile hesaplanan değerler arasında oldukça az bir fark olduğu göze çarpmaktadır. HMC firmasının hesapladığı değerler parantez içinde koyu renkle, $^1\text{H-NMR}$ metodu ile hesaplanan değerlerle olan farklar kırmızı renk ile Tablo 4.5'de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. %75, 80, 90, 95 DD'ye sahip kitosan örneklerine ait UV spektrumları



Şekil 4.19. %75, 80, 90, 95 DD'ye sahip kitosan örneklerinin ilk türevlerine ait UV spektrumları

Tablo 4.5. UV metodu kullanılarak hesaplanan DD değerleri

Kitosan	75/1000 (77,33)	80/1000 (79,50)	90/1000 (91,80)	95/1000 (94,20)
DD	81,0 (+2,9)	83,2 (+3,2)	91,2 (+1,3)	98,1 (+1,1)

4.5. Yöntemlerin Karşılaştırılması

Deasetilizasyon derecesini hesaplamak için kullanılan $^1\text{H-NMR}$, FTIR, potansiyometrik titrasyon, UV-görünür bölge spektroskopisi yöntemleri arasında, en iyi tekniklerin $^1\text{H-NMR}$ ve potansiyometrik titrasyon olduğu sonucuna varılmıştır. Tablo 4.6' da DD'nin hesaplanmasında kullanılan yöntemler ve hesaplanan DD değerleri verilmiştir. Tablo 4.6 incelendiğinde, HMC firması tarafından verilen değerlere yakınlığı ve kısa zamanda doğru sonuç vermesi sebebiyle $^1\text{H-NMR}$ yöntemi öne çıkmaktadır. UV tekniği, diğer tekniklere göre daha karmaşık olması

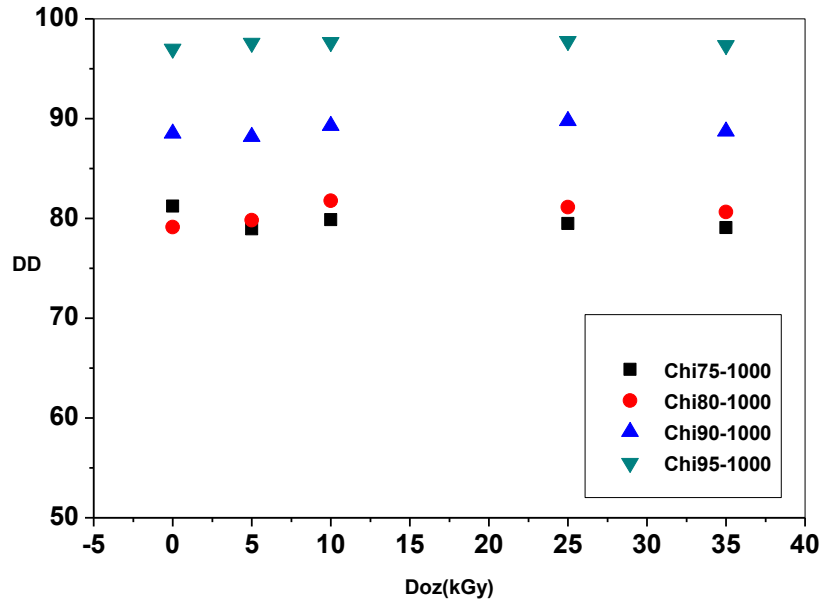
ve çok fazla zaman gerektirmesi sebebiyle geri planda kalmaktadır. Kısa zamanda sonuç alınması sebebiyle, FTIR yöntemi de birçok araştırmacı tarafından tercih edilen bir teknik olmasına rağmen birçok faktör yüzünden hatalı DD değeri bulunma olasılığı en yüksek olan tekniktir. Tahtat ve arkadaşları [40] tarafından geliştirilen zemin düzeltme tekniği kullanılarak hesaplanmış DD değerinin, FTIR ile deasetilizasyon derecesinin hesaplanmasında bugüne kadar geliştirilen yöntemler içinde en güvenilir teknik olduğu sonucuna varılmıştır.

Tablo 4.6. DD'nin hesaplanmasında kullanılan yöntemler ve hesaplanan DD değerleri

	DD'nin Hesaplanmasında Kullanılan Yöntemler				
Kitosan	¹ H-NMR	FTIR	Potansiyometrik Titrasyon	UV-Görünür Bölge Spektroskopisi	HMC Değerleri
75/1000	78,0	75,1	78,1	81,0	77,3
80/1000	80,0	78,7	81,2	83,2	79,5
90/1000	89,0	95,0	88,9	91,2	91,8
95/1000	97,0	96,0	94,6	98,1	94,2

4.6. Işınlamanın kitosanın Deasetilizasyon derecesi üzerindeki etkisi

Işınlamanın kitosan örneklerinin DD'sine etkisini incelemek amacıyla tüm kitosan örnekleri ⁶⁰Co gama kaynağı kullanılarak 26 Gy/saat doz hızında ve 5, 10, 25, 35 kGy dozlarda ışınlanmıştır. Işınlanmamış ve farklı dozlarda ışınlanmış kitosan örneklerinin DD'si, ¹H-NMR, yöntemleri kullanılarak hesaplanmıştır. Işınlama dozunun kitosan örneklerinin DD'sine etkisini incelemek amacıyla, ¹H-NMR yöntemi ile hesaplanan DD değerleri kullanılarak deasetilizasyon derecelerinin doza karşı değişimi grafiği çizilmiştir (Şekil 4.20) Şekilde de görüldüğü gibi ışınlama dozunun artması ile DD değerinde herhangi bir değişim görülmemiştir. Bu nedenle, çalışmanın bundan sonraki aşamalarında farklı dozlarda ışınlanmış kitosan örnekleri için aynı DD değerleri kullanılmıştır.



Şekil 4.20. Kitosanın deasetilizasyon derecelerinin doza karşı değişimi

4.7. Işınlanmamış ve Farklı Dozlarda Işınlanmış Kitosanın Molekül Ağırlığı Karakterizasyonu

Büyükölçek Ayırma Kromatografisi ile molekül ağırlığı tayini için bilinmesi gereken en önemli parametre Mark-Houwink sabitleridir. Bu nedenle analize başlamadan ya Mark-Houwink sabitleri bilinen bir çözücü seçilmesi veya çalışılan çözücü için bu sabitlerin hesaplanması gerekir. Literatürde Mark-Houwink sabitlerinin hesaplanması ile ilgili Wang [70] ve Kassai [71] tarafından yapılan çalışmalar incelenmiştir. Wang'ın çalışmasında sabitleri etkileyen tek parametre DD'dir (Eşitlik 7).

$$K = 1,64 \times 10^{-30} \cdot DD^{14,0}$$

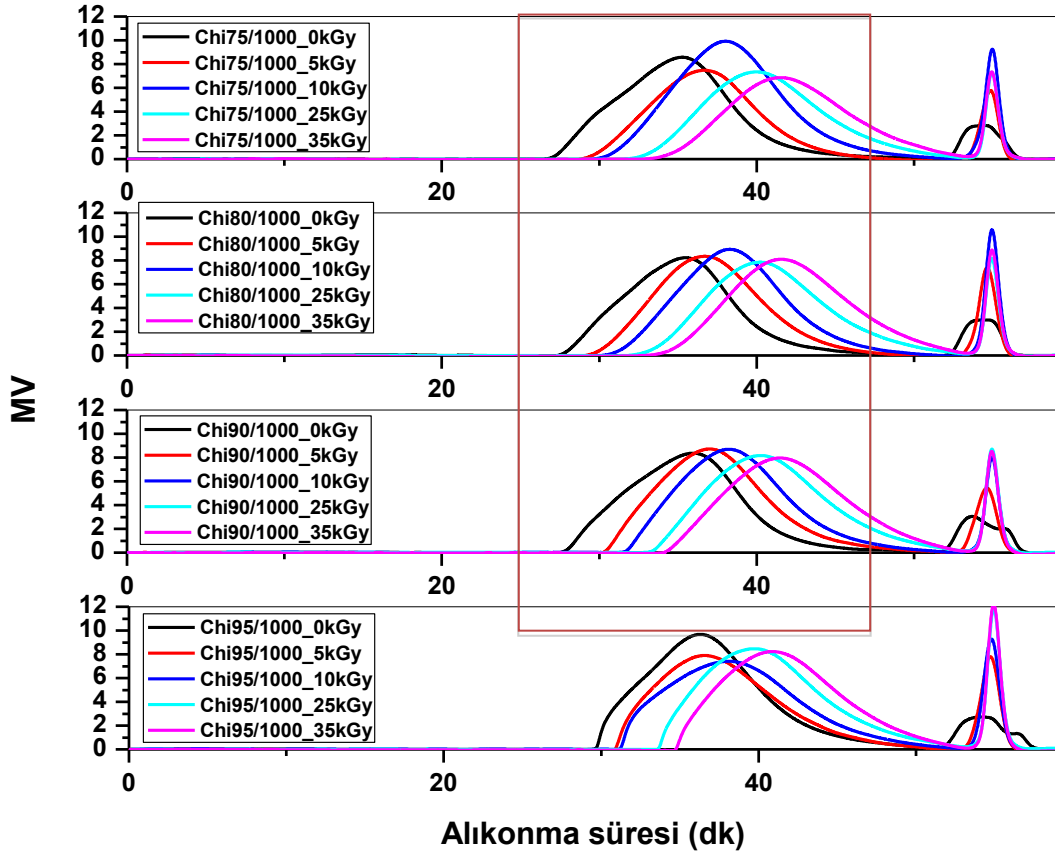
$$a = 1,02 \times 10^{-2} \cdot DD + 1,82 \quad \dots\dots\dots (7)$$

Kassai tarafından geliştirilen eşitliğe bakıldığında, bu sabitleri etkileyen parametrelerin, deasetilizasyon derecesine ek olarak pH ve iyonik şiddet olduğu görülmektedir. Bu sebeple sabitlerin hesaplanmasında Kassai'ye ait eşitlik kullanılmış (Eşitlik 8), DD değeri % 75, 80, 90, 95 olan kitosan örnekleri için K

sabitleri sırasıyla $K = 1,95 \times 10^{-5}$, $K = 2,37 \times 10^{-5}$, $K = 8,52 \times 10^{-5}$, $K = 79,2 \times 10^{-5}$ dl/g, α sabitleri ise sırasıyla 0,98, 0,96, 0,87, 0,70 olarak hesaplanmıştır.

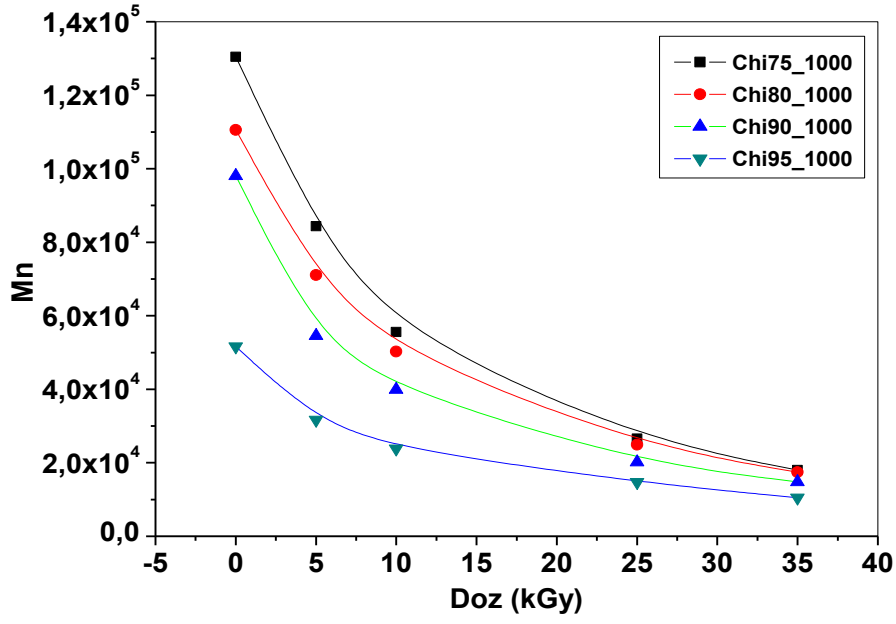
$$\begin{aligned} x &= [DD / pH \times \mu] \\ \alpha &= 0,6202 + 0,699x / (0,4806 + x) \dots\dots\dots (8) \\ \log K \cdot 10^{-5} &= -5,7676 \cdot \alpha + 5,9232 \end{aligned}$$

İyonlaştırıcı radyasyonun bir doğal polimerin üzerindeki etkisini incelemek ve radyasyonun o polimer için zincir kesilme mi yoksa çapraz bağlanma reaksiyonlarını mı gerçekleştirdiğini incelemek amacıyla yapılan en temel analiz molekül ağırlığı tayinidir. İyonlaştırıcı radyasyonun kitosan üzerindeki etkisini incelemek amacıyla katı halde ışınlanan tüm örneklerin Büyüklükçe Ayırma Kromatografisi (BAK) yöntemi kullanılarak kromatogramları alınmıştır. Absorplanan doz arttıkça kitosan örneklerinin BAK kromatogramlarında yüksek alıkonma sürelerine doğru bir kayma görülmüş ve radyasyona bağlı olarak molekül ağırlığında azalma görülmüştür. Şekil 4.21’ de dikdörtgen içinde gösterilen pikler sırasıyla ışınlanmamış ve 5, 10, 25, 35 kGy dozlarda ışınlanmış % 75, 80, 90, 95 deasetilizasyon derecesine sahip kitosan polimerine ait piklerdir. Bu piklerden sonra gözlenen şiddetli pikler ise hareketli faz içinde bulunan tuzların kolon içinde dışlanmasından kaynaklanan genellikle “after peak” olarak isimlendirilen piklerdir. Işınlama dozunun artması ile daha yüksek alıkonma hacimlerine kayma gözlenmiştir. Bu kayma, ışınlama sonunda kitosanın molekül ağırlığında bir azalma gösterdiğini kanıtlamaktadır.

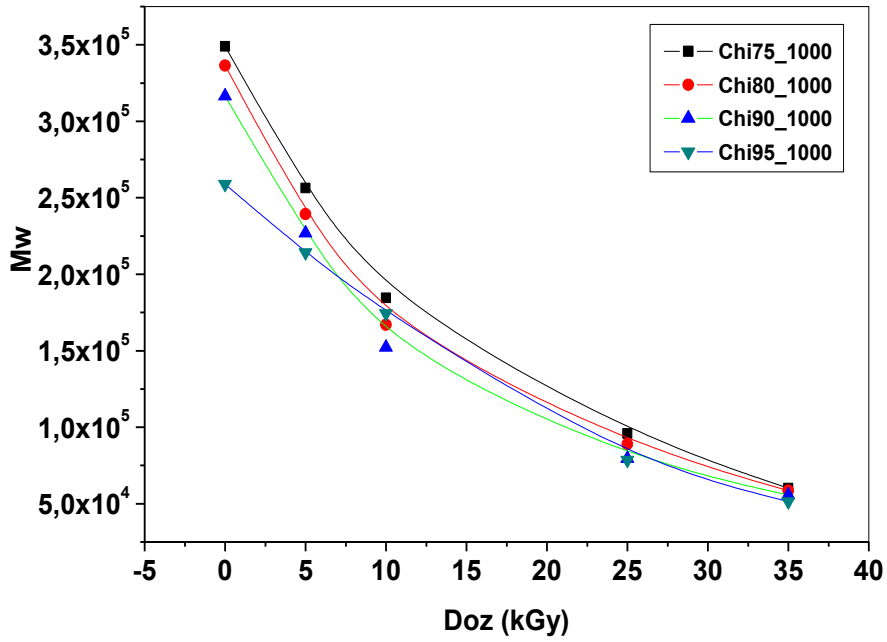


Şekil 4.21. Işınlanmamış ve 5, 10, 25, 35 kGy dozlarda ışınlanmış 75, 80, 90, 95/1000'lik Kitosanların BAK kromatogramları

Evrensel kalibrasyon eğrisi ve gerekli Mark-Houwink sabitleri kullanılarak kitosan örneklerinin sayıca ($\bar{M}_n$) ve ağırlıkça ($\bar{M}_w$) ortalama molekül ağırlıkları hesaplanmıştır. Doza karşı $\bar{M}_n$ ve $\bar{M}_w$ değişimleri sırasıyla Şekil 4.22 ve 4.23' de verilmiştir ve görüldüğü gibi her iki molekül ağırlığı da 35 kGy'e kadar hızlı bir düşüş göstermiştir.



Şekil 4.22.Kitosan 75, 80, 90, 95/1000'lik örnekler için Mn-Doz Grafiği



Şekil 4.23.Kitosan 75, 80, 90, 95/1000'lik örnekler için Mw-Doz Grafiği

Büyükölçek Ayırma Kromatografisi kullanılarak yapılan molekül ağırlığı analizi sonuçları toplu olarak Tablo 4.7.-4.10' da verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde her bir DD için ışınlama dozu arttıkça molekül ağırlığının sürekli azaldığı ve bu azalmanın DD oranına bağlı olarak değişim gösterdiği görülmüştür.

Tablo 4.7. Kitosan 75/1000'ün molekül ağırlığının ışınlama dozu ile değişimi

	Doz (kGy)	DD	K (dL/g)	a	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	Mv (g/mol)
75/1000	0	78	$1,95 \times 10^{-5}$	0,98	130500	349000	346800
75/1000	5	78	$1,95 \times 10^{-5}$	0,98	84400	256500	254300
75/1000	10	78	$1,95 \times 10^{-5}$	0,98	55600	184600	182800
75/1000	25	78	$1,95 \times 10^{-5}$	0,98	26600	96000	95000
75/1000	35	78	$1,95 \times 10^{-5}$	0,98	18000	60300	59600

Tablo 4.8. Kitosan 80/1000' ün molekül ağırlığının ışınlama dozu ile değişimi

	Doz (kGy)	DD	K (dL/g)	a	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	Mv (g/mol)
80/1000	0	80	$2,37 \times 10^{-5}$	0,96	110600	336500	332800
80/1000	5	80	$2,37 \times 10^{-5}$	0,96	71100	239300	236000
80/1000	10	80	$2,37 \times 10^{-5}$	0,96	50300	167000	164500
80/1000	25	80	$2,37 \times 10^{-5}$	0,96	25000	89000	87300
80/1000	35	80	$2,37 \times 10^{-5}$	0,96	17500	58500	57500

Tablo 4.9. Kitosan 90/1000' ün molekül ağırlığının ışınlama dozu ile değişimi

	Doz (kGy)	DD	K (dL/g)	a	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	Mv (g/mol)
90/1000	0	89	$8,52 \times 10^{-5}$	0,87	98100	316600	302600
90/1000	5	89	$8,52 \times 10^{-5}$	0,87	54600	227000	214400
90/1000	10	89	$8,52 \times 10^{-5}$	0,87	40000	152300	143600
90/1000	25	89	$8,52 \times 10^{-5}$	0,87	20200	79500	74600
90/1000	35	89	$8,52 \times 10^{-5}$	0,87	14800	55800	52100

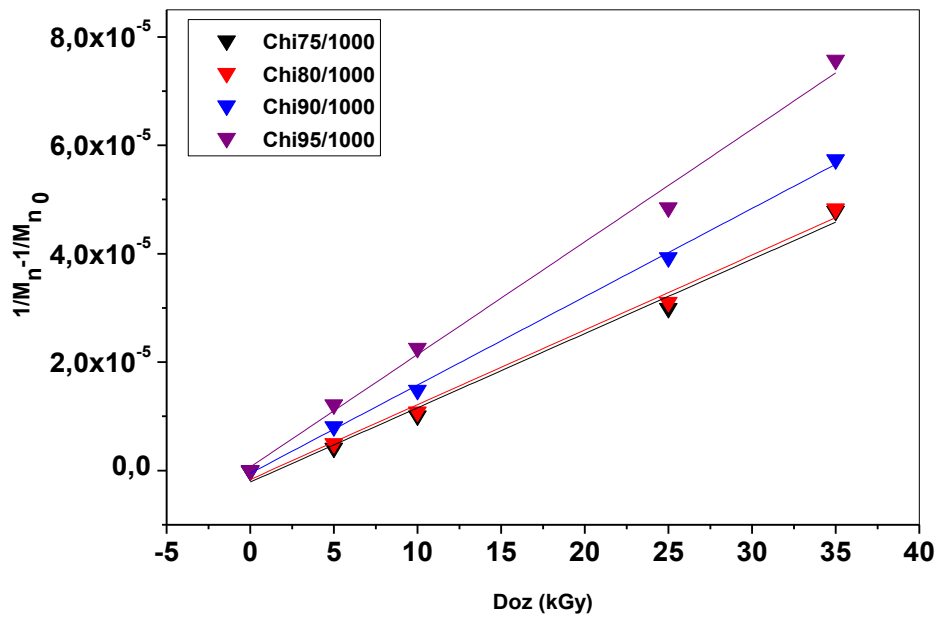
Tablo 4.10. Kitosan 95/1000' ün molekül ağırlığının ışınlama dozu ile değişimi

	Doz (kGy)	DD	K (dL/g)	a	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	Mv (g/mol)
95/1000	0	97	$79,2 \times 10^{-5}$	0,70	51600	258800	223500
95/1000	5	97	$79,2 \times 10^{-5}$	0,70	31700	214200	180900
95/1000	10	97	$79,2 \times 10^{-5}$	0,70	23900	17500	143300
95/1000	25	97	$79,2 \times 10^{-5}$	0,70	14725	78600	66500
95/1000	35	97	$79,2 \times 10^{-5}$	0,70	10500	51500	43400

4.8. Kitosanın Radyasyonla Zincir Kesilme Verimi ve Bozunma Hız Sabitinin Hesaplanması

İyonlaştırıcı radyasyonun kitosan doğal polimeri üzerindeki etkisini ve kitosanın zincir kesilme veriminin ve bozunma hız sabitlerinin DD'ye bağlı olarak değişimini incelemek amacıyla, BAK ile elde edilen sayıca molekül ağırlıkları kullanılarak tüm kitosan örneklerinin doza karşı $1/\bar{M}_n - 1/\bar{M}_{n_0}$ grafikleri çizilmiştir. (Şekil 4.24) Farklı deasetilizasyon derecesine sahip örnekler için doğruların eğimleri kullanılarak zincir kesilme verimleri aşağıdaki 9 no'lu Alexander-Charlesby-Ross eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır [72].

$$\frac{1}{\bar{M}_n} - \frac{1}{\bar{M}_{n_0}} = 1.04 \times 10^{-7} G(S)D(Gy) \dots\dots\dots (9)$$



Şekil 4.24.Kitosan 75, 80, 90, 95/1000'lik örnekler için $1/\bar{M}_n - 1/\bar{M}_{n_0}$ - doz grafiği

Hesaplanan zincir kesilme verimi (G(S)) değerleri 75, 80, 90, 95/1000'lik kitosan örnekleri için sırasıyla $1,36 \pm 0,08$, $1,37 \pm 0,07$, $1,62 \pm 0,04$, $2,07 \pm 0,09$ $\mu\text{mol/J}$ 'dür. Bu sonuçlarla, deasetilizasyon derecesinin kitosanın zincir kesilme verimi üzerine etkisine bakıldığında, $\text{Chi95/1000} > \text{Chi90/1000} > \text{Chi80/1000} > \text{Chi75/1000}$ ya da $78 < 80 < 89 < 97$ DD sıralamalarını yapmak mümkündür.

Tablo 4.11. Kitosan örneklerinin zincir kesilme verimi ve bozunma hız sabitleri değerleri

Kitosan	DD (%)	G(S) ($\mu\text{mol/J}$)	k (kGy^{-1})
Chi75/1000	78	$1,36 \pm 0,08$	$2,58 \times 10^{-7} \pm 0,14 \times 10^{-7}$
Chi80/1000	80	$1,37 \pm 0,07$	$2,59 \times 10^{-7} \pm 0,11 \times 10^{-7}$
Chi90/1000	89	$1,62 \pm 0,04$	$2,99 \times 10^{-7} \pm 0,60 \times 10^{-8}$
Chi95/1000	97	$2,07 \pm 0,09$	$3,75 \times 10^{-7} \pm 0,17 \times 10^{-7}$

Bozunma hız sabitlerinin hesaplanması için de Jellinek [73] tarafından bulunan ve Şen ve arkadaşları [74] tarafından geliştirilen 10 no'lu eşitlik kullanılmıştır. Buradaki D absorplanan doz, m_o monomer biriminin molekül ağırlığı, k bozunma hız sabiti, M_{n0} ve M_{nD} ışınlama öncesi ve sonrasındaki sayıca ortalama molekül ağırlığıdır.

$$\frac{1}{M_{nD}} - \frac{1}{M_{n0}} = \left(\frac{k}{m_o} \right) D \quad \dots\dots\dots (10)$$

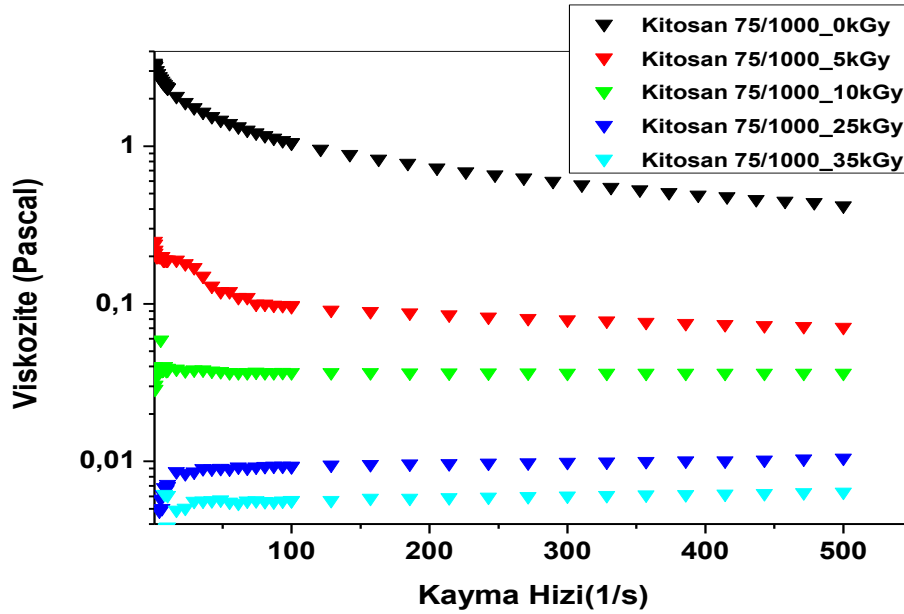
Hesaplanan hız sabitleri (k), G(S) değerleriyle birlikte Tablo 4.11' de verilmiştir ve sıralama $\text{Chi95/1000} > \text{Chi90/1000} > \text{Chi80/1000} > \text{Chi75/1000}$ şeklindedir. Bozunma hız sabiti (k) değerlerine bakıldığında G(S) değerinin değişiminde olduğu gibi DD'ye bağlı olarak değişim gösterdiği ve DD değerinin artmasıyla bozunma hız sabitinin arttığı görülmüştür.

Zincir kesilme verimindeki değişikliğin, DD'deki değişimin bir sonucu olarak, kitosan zincirlerinin yumaklanma eğiliminden veya uzanmış zincirler şeklinde bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kitosanın yumak karakterinin DD ile ters orantılı olduğu bilinmektedir. Mark Houwink sabiti a'nın DD ile değişimi bunun göstergelerinden biridir. DD'nin artması ile Mark Houwink sabiti a

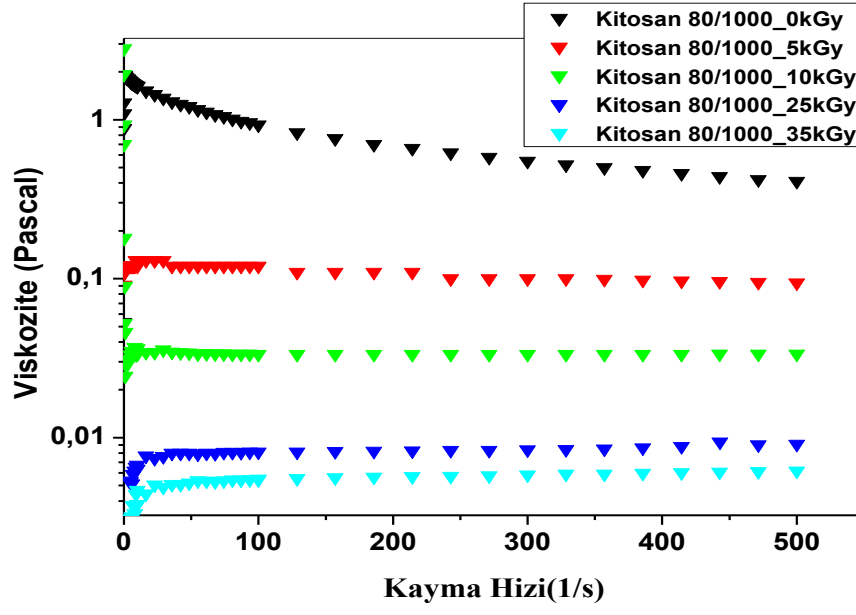
azalmakta, daha düzensiz bir yapı oluşturma eğilimi artmaktadır. DD nin azalmasıyla kitosan zinciri daha düzenli ve kompakt bir yapıda bulunur, bu da ışınlama sırasında ana zincir üzerindeki radikal-radikal birleşme olasılıklarının artmasına yol açar. Bu durumun bozunma hızını ve zincir kesilme verimini azaltan faktör olduğu düşünülmektedir.

4.9. Işınlanmamış ve Farklı Dozlarda Işınlanmış Kitosanın Reolojik Karakterizasyonu

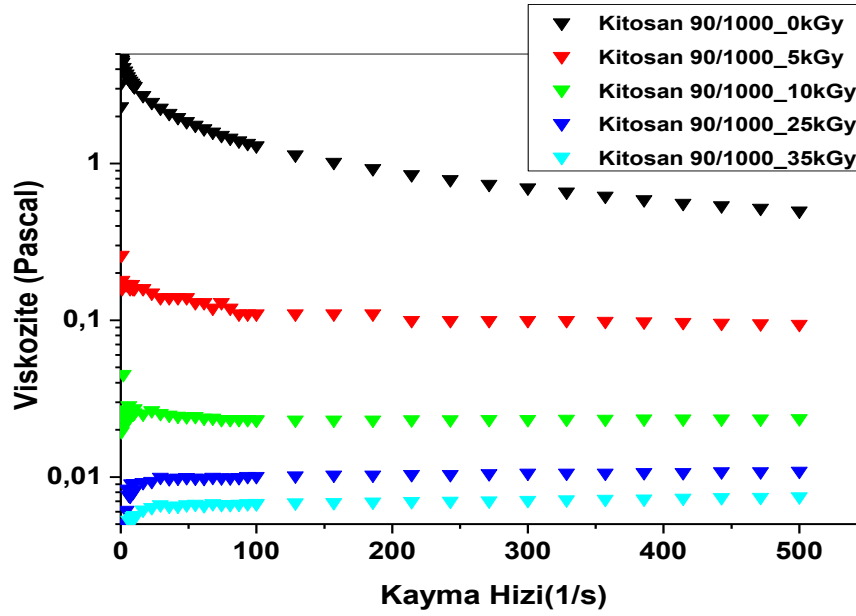
Işınlamanın ve deasetilizasyon derecesinin kitosan polimerinin reolojik özelliklerine olan etkisini belirlemek amacıyla %2'lik (v/w) kitosan çözeltilerinin 25 °C' deki akış eğrileri (flow curves) incelenmiş ve her bir kitosan örneği için kayma hızı ile viskozitenin ışınlama dozuna bağlı olarak değişimini gösteren eğriler Şekil 4.25-4.28' de verilmiştir.



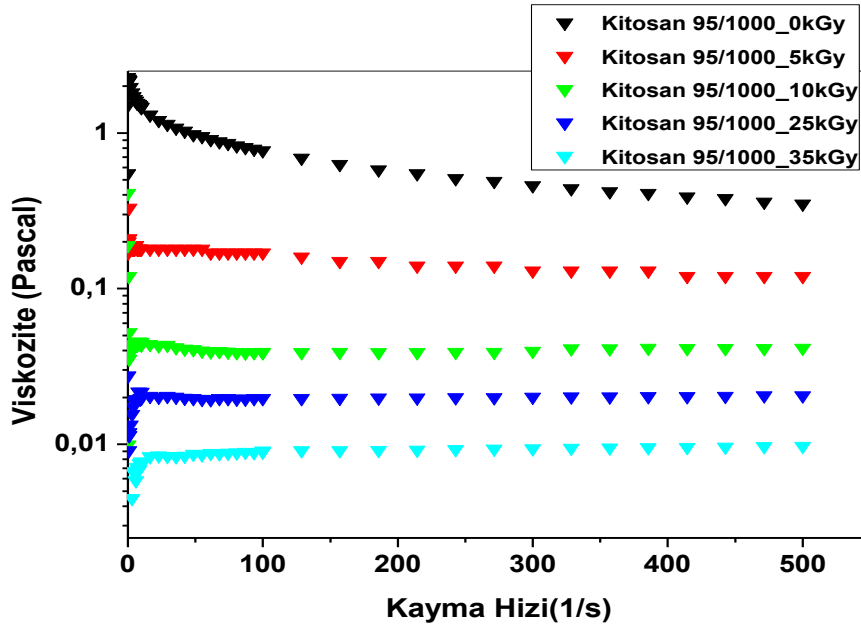
Şekil 4.25. Farklı dozlarda ışınlanmış Kitosan 75/1000'in kayma hızına bağlı olarak viskozitesinin değişimi



Şekil 4.26.Farklı dozlarda ışınlanmış Kitosan 80/1000'in kayma hızına bağlı olarak viskozitesinin değişimi

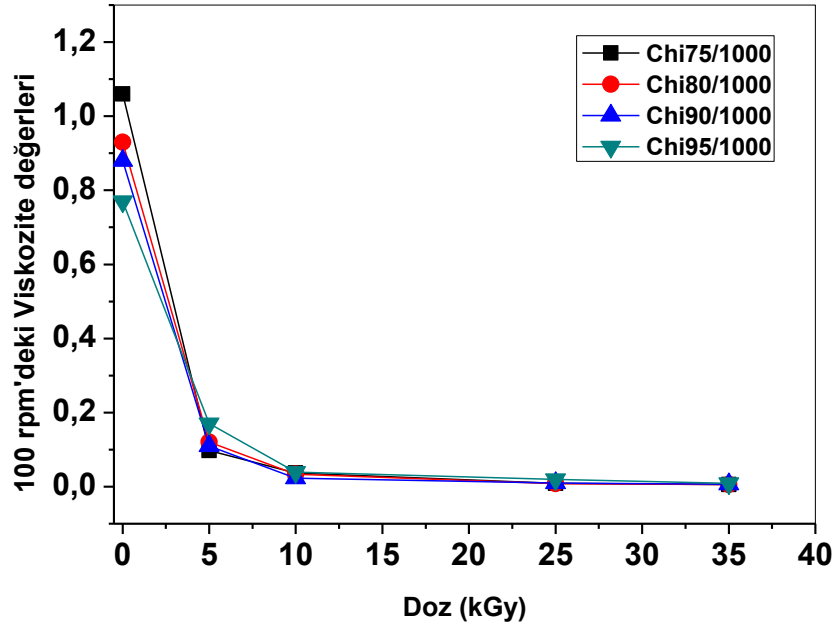


Şekil 4.27.Farklı dozlarda ışınlanmış Kitosan 90/1000'in kayma hızına bağlı olarak viskozitesinin değişimi



Şekil 4.28.Farklı dozlarda ışınlanmış Kitosan 95/1000'in kayma hızına bağlı olarak viskozitesinin değişimi

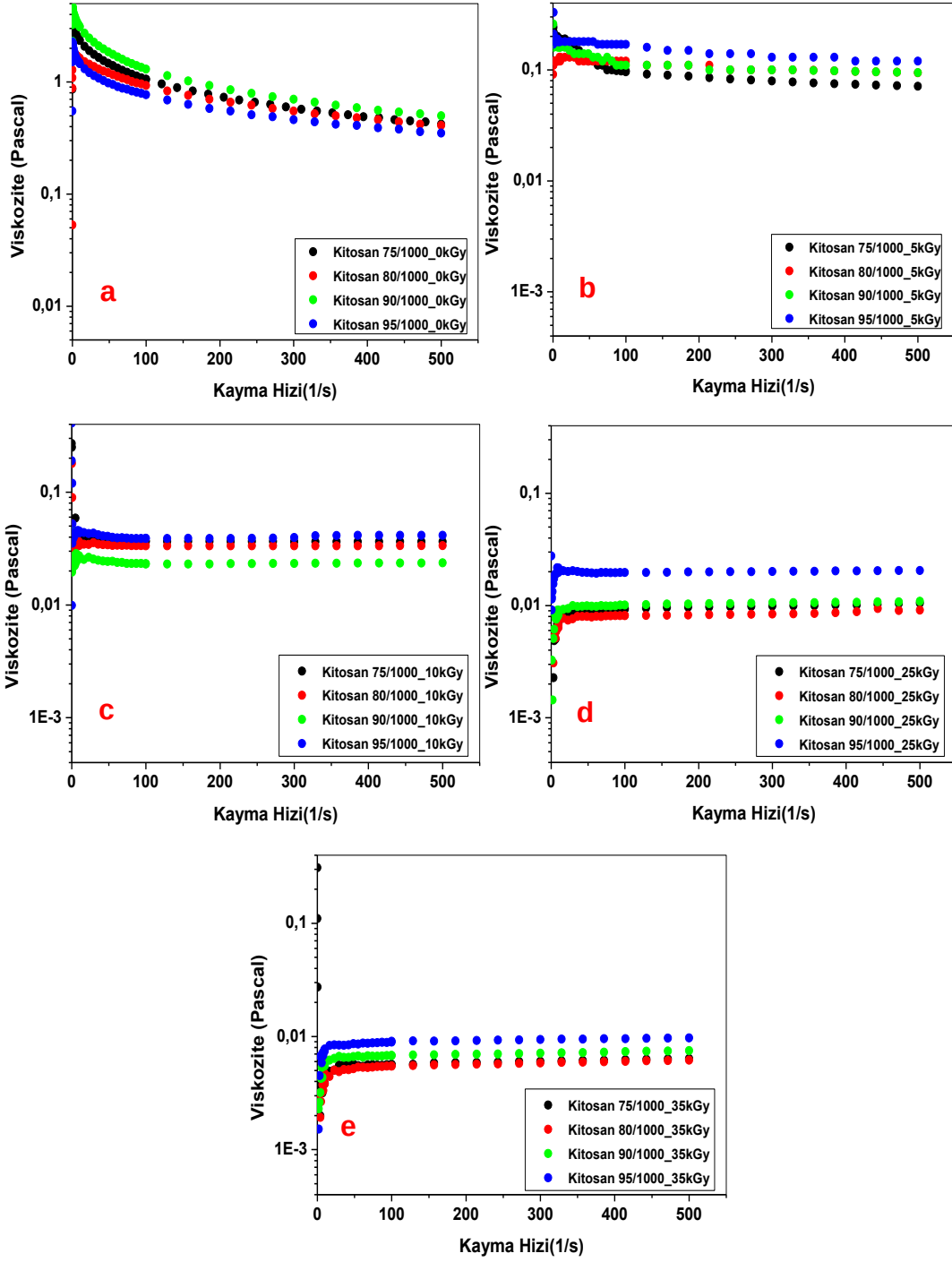
Şekil 4.25 - 4.28' de verilen farklı dozlarda ışınlanmış 75/1000, 80/1000, 90/1000 ve 95/1000 deasetilizasyon derecesine sahip kitosan örneklerinin kayma hızı-viskozite eğrileri incelendiğinde, ışınlama dozunun artmasıyla kitosan örneklerinde meydana gelen zincir kesilmelerine bağlı olarak molekül ağırlığı azalmalarından dolayı viskozitenin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Şekil 4.29 'da tüm kitosan örnekleri için doza karşı 100 rpm'deki viskozite değerleri grafiği verilmiştir. Grafik incelendiğinde, yüksek dozlarda eğrilerin üst üste çıktığı görülmektedir. Bunun sebebi, örneklerin molekül ağırlığı değerlerinin birbirine yakın olması nedeniyle doz ile viskozitenin aynı oranda değişim göstermesidir.



Şekil 4.29. Tüm kitosan örnekleri için doza karşı 100 rpm'deki Viskozite grafiği

Işınlanmamış Kitosan örnekleri, Newtonsal olmayan akış göstermekte ve kayma hızı arttıkça kitosan çözeltisinin viskozitesi azaldığı için kitosan kayma incelmesi (shear thinning) davranışı göstermektedir. Düşük kayma hızlarında, 5 ve 10 kGy ışınlanmış örneklerde de Newtonsal olmayan davranış görülmektedir. Ancak yüksek dozlarda ışınlanan Kitosan örnekleri incelendiğinde artan kayma hızıyla viskozite değerlerinde değişim olmadığı görülmekte ve kitosan örnekleri Newtonsal davranış göstermektedir. Yüksek dozda yapılan ışınlamanın kitosanda meydana gelen zincir kesilmesi üzerinde daha fazla etkisinin olduğu ve aynı şekilde viskozite değerlerinin düşmesine neden olduğu kromatografik analiz sonucunda elde edilen sonuçlarla da uyumludur.

Şekil 4.30' da farklı deasetilizasyon derecesine sahip sırasıyla ışınlanmamış, 5, 10, 25 ve 35 kGy dozlarında ışınlanmış kitosan örneklerine ait akış eğrileri verilmiştir. Akış eğrileri incelendiğinde, deasetilizasyon derecesi farklı olmasına rağmen molekül ağırlıklarının yaklaşık aynı olması nedeniyle, deasetilizasyon derecesinin kitosana ait viskozite değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Işınlanmamış örneklerde Newtonsal olmayan akış ve farklı dozlarda ışınlanan örneklerde Newtonsal akış özelliği net bir şekilde görülmektedir.



Şekil 4.30. a) Işınlanmamış b) 5kGy ışınlanmış c) 10kGy ışınlanmış d) 25kGy ışınlanmış e) 35kGy ışınlanmış kitosan örneklerine ait kayma hızına karşı viskozite grafiği

5. SONUÇLAR

Bu tezin temel amacı, iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalmış kitosanın bozunmasına deasetilizasyon derecesinin etkisinin incelenmesidir. Bu amaçla, ilk olarak kitosan polimerlerinin katı halde farklı dozlarda ışınlama çalışmaları yapılmıştır. Işınlanmamış ve ışınlanmış kitosan örneklerinin öncelikle deasetilizasyon dereceleri $^1\text{H-NMR}$, FTIR, Potansiyometrik Titrasyon ve UV-Görünür Bölge Spektroskopisi yöntemleri kullanılarak hesaplanmış, daha sonra Büyüklükçe Ayırma Kromatografisi kullanılarak molekül ağırlığı tayini yapılmış ve bu veriler kullanılarak kitosanın zincir kesilme verimi ve bozunma hız sabitleri hesaplanmıştır. Son olarak iyonlaştırıcı radyasyonla bozunmaya uğramış kitosan örneklerinin reolojik karakterizasyonu yapılmıştır.

$^1\text{H-NMR}$ yöntemi kullanılarak yapılan hesaplamalar sonucunda ışınlanmamış ve 5, 10, 25 ve 35 kGy dozlarda ışınlanmış kitosan örneklerinin deasetilizasyon dereceleri 78, 80, 89 ve 97 olarak bulunmuştur.

İyonlaştırıcı radyasyonun kitosan üzerindeki etkisini incelemek amacıyla katı halde ışınlanan tüm örneklerin BAK ile kromatogramları alınmıştır. Absorplanan doz arttıkça kitosan örneklerinin BAK kromatogramlarında yüksek alıkonma hacimlerine doğru bir kayma görülmüş, ışınlama dozunun artmasıyla molekül ağırlığı değerlerinde azalma görülmüştür. Bu azalmanın deasetilizasyon derecelerine bağlı olarak da değiştiği tespit edilmiştir. Büyüklükçe Ayırma Kromatografisi ile elde edilen sayıca molekül ağırlığı değerleri kullanılarak kitosan örneklerinin zincir kesilme verimleri ve bozunma hız sabitleri hesaplanmıştır. Hesaplanan zincir kesilme verimi ($G(S)$) değerleri 75/1000, 80/1000, 90/1000 ve 95/1000 'lik kitosan örnekleri için sırasıyla $1,36 \pm 0,08$, $1,37 \pm 0,07$, $1,62 \pm 0,04$, $2,07 \pm 0,09$ $\mu\text{mol/J}$ 'dür. Bu sonuçlarla, deasetilizasyon derecesinin kitosanın zincir kesilme verimi üzerine etkisine bakıldığında, Kitosan 95/1000> Kitosan 90/1000> Kitosan 80/1000> Kitosan 75/1000 ya da 78<80<89<97 DD sıralamalarını yapmak mümkündür. $G(S)$ nin yanı sıra iyonlaştırıcı radyasyonla kitosanın bozunma hız sabiti değeri de (k) hesaplanmıştır. Hız sabiti içinde, Kitosan 95/1000> Kitosan 90/1000> Kitosan 80/1000> Kitosan 75/1000 sıralamasının olduğu görülmüştür. Bozunma hız sabitinin de $G(S)$ değerinin değişiminde olduğu gibi DD'ye bağlı

olarak değişim gösterdiği ve DD değerinin artmasıyla bozunma hız sabitinin arttığı görölmüştür.

Yapılan reolojik çalışmaların sonunda, her bir kitosan örneğinin molekül ağırlığı birbirine yakın olduğu için deasetilizasyon derecesinin, kitosana ait viskozite değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı ve ışınlama dozunun artmasıyla kitosan örneklerinde meydana gelen zincir kesilmelerine bağlı molekül ağırlığı azalmalarından dolayı viskozitenin önemli ölçüde azaldığı, ışınlanmamış ve düşük dozlarda ışınlanmış kitosanın Newtonsal olmayan akış davranışı gösterirken, yüksek dozlarda ışınlama sonunda molekül ağırlığının çok azalmasından dolayı Newtonsal akış davranışına geçtiğı tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Kumar, M.N.V.R., A review of chitin and chitosan applications, *Reactive and Functional Polymers*, 46, 1-27, **2000**.
- [2] Duy, N. N., Phu, D.V., Anh, N.T., Hien, N. Q., Synergistic degradation to prepare oligochitosan by irradiation of chitosan solution in the presence of hydrogen peroxide, *Radiation Physics and Chemistry* 80,848–853, **2011**.
- [3] Demir, A. ve Seventekin N., Kitin, kitosan ve genel kullanım alanları, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3, 92-103, **2009**.
- [4] Rinaudo, M., Chitin and chitosan: Properties and applications, *Progress in Polymer Science*, 31, 603-632, **2006**.
- [5] Zhao, X., Kong, A., Hou, Y., Shan, C., Ding, H., Shan., Y., An innovative method for oxidative degradation of chitosan with molecular oxygen catalyzed by metal phthalocyanine in neutral ionic liquid, *Carbohydrate Research*, 344 (15),2010–2013, **2009**.
- [6] Cai, Q., Gu, Z., Chen, Y., Han, W., Fu, T., Song, H., Li., F., Degradation of chitosan by an electrochemical process. *Carbohydrate Polymers*, 79 (3), 783–785, **2010**.
- [7] Liu, H., Bao, J., Du, Y., Zhou, X., Kennedy, J.F., Effect of ultrasonic treatment on the biochemophysical properties of chitosan, *Carbohydrate Polymers*, 64, 553–559, **2006**.
- [8] Holme, H.K., Davidsen, L., Kristiansen, A., Smidsrød, O., Kinetics and mechanisms of depolymerization of alginate and chitosan in aqueous solution, *Carbohydrate Polymers*, 73, 656–664, **2008**.
- [9] Ren, D., Yi, H., Wang, W., Ma, X., The enzymatic degradation and swelling properties of chitosan matrices with different degrees of N-acetylation, *Carbohydrate Research*, 340, 2403–2410, **2005**.
- [10] Zhang, H., Neau, S.H.,In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: effect of molecular weight and degree of deacetylation, *Biomaterials*, 22, 1653–1658, **2001**.
- [11] Tsai, M.L., Tseng, L.Z., Chen, R.H.,Two-stage microfluidization combined with ultrafiltration treatment for chitosan mass production and molecular weight manipulation, *Carbohydrate Polymers*, 77, 767–772, **2009**.
- [12] Yue, W., He, R., Yao, P., Wei., Y., Ultraviolet radiation-induced accelerated degradation of chitosan by ozone treatment, *Carbohydrate Polymers*, 77, 639–642, **2009**.

- [13] Wang, S.M., Huang, Q.Z., Wang, Q.S., Study on the synergetic degradation of chitosan with ultraviolet light and hydrogen peroxide, *Carbohydrate Research*, 340, 1143–1147, **2005**.
- [14] Chmielewski, A.G., Chitosan and radiation chemistry, *Radiation Physics and Chemistry*, 79, 272–275, **2010**.
- [15] Wasikiewicz, J.M., Yoshii, F., Nagasawa, N., Wach, R.A., Mitomo, H., Degradation of chitosan and sodium alginate by gamma radiation, sonochemical and ultraviolet methods, *Radiation Physics and Chemistry*, 73, 287–295, **2005**.
- [16] Ulanski, P., Rosiak, J.M., Preliminary studies on the radiation-induced changes in chitosan, *Radiation Physics and Chemistry*, 39, 53, **1992**.
- [17] Guang Wu Y., 2002, Dutta et al, **2002**, http://www.vanderbilt.edu/AnS/psychology/health_psychology/chitosan1.htm1.
- [18] Meyers, S.P., No, H.K., Lee, K.S., Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 575, **1989**.
- [19] IAEA/RCA RTC, , Bangkok, Thailand, 19-23 Oct., **2009**.
- [20] Phillips, G.O. Williams, P A. Handbook of hydrocolloids, *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*, No. 173, **2009**.
- [21] Demir A., Seventekin N. “Chitin, Chitosan and General application Areas” *Electronic Journal of Textile Technologies*, 3(2) 92-103, **2009**.
- [22] Tahtat, D., Mahlous, M., Benamer, S., Nacer Khodja, A., Larbi Youcef, S., Hadjarab, N., Mezaache, W., Influence of some factors affecting antibacterial activity of PVA/chitosan based hydrogels synthesized by gamma irradiation, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 22, 2505–2512, **2011**.
- [23] Benamer, S., Mahlous, M., Tahtat, D., Nacer-Khodja, A., Arabi, M., Lounici, H., Mameri, N., Radiation synthesis of chitosan beads grafted with acrylic acid for metal ions sorption, *Radiation Physics and Chemistry*, 80, 1391–1397, **2011**.
- [24] Kang, B., Dai, Y.D., Zhang, H.Q., Chen, D., Synergetic degradation of chitosan with gamma radiation and hydrogen peroxide, *Polymer Degradation and Stability*, 92, 359–362, **2007**.
- [25] Taşkın P., Canısağ H., Şen M., The effect of degree of deacetylation on the radiation induced degradation of chitosan, *Radiation Physics and Chemistry*, 94, 236-239, **2014**.

- [26] Montazer, M., Afjeh, G., Simultaneous X-Linking and Antimicrobial Finishing of Cotton Fabric, *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 103, 178-185, **2007**.
- [27] Berger, J., Reist, M., Mayer, J.M., Fel, O., Peppas, N.A., Gurny, R., Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57, 19–34, **2004**.
- [28] Alyüz, B., Veli S., Low-cost adsorbents used in heavy metal contaminated waste water treatment, *Journal of Engineering and Natural Sciences*, 3, 94-105, **2005**.
- [29] Hien, N.Q., The, D.T., Phu, D.V., Duy, N.N., Preparation of biotic elicitor for rice and sugarcane by gamma irradiation, *Progress report of IAEA RC No. 14773/R0*, **2010**.
- [30] Çaklı, Ş., Kılınç, B., Kabuklu su ürünleri işleme artıklarının endüstriyel alanda değerlendirilmesi, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 21, 145–152, **2004**.
- [31] Queen, H.y A. Electrospinning Chitosan-based Nanofibers for Biomedical Applications –MSc Thesis, **2006**.
- [32] Sevda, Ş., Günbeyaz, M., Faraji, A., Özkul, A., Puralı, N., Chitosan based delivery systems for mucosal immunization against bovine herpesvirus 1 (BHV-1), *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41, 531-545, **2010**.
- [33] Lee, D.W., Powers, K. and Baney, R., Physicochemical properties and blood compatibility of acylated chitosan nanoparticles, *Carbohydrate Polymers*, 58, 371-377, **2004**.
- [34] Janes, K.A., Calvo, P. and Alonso, M.J., Polysaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, 83-97, **2001**.
- [35] Knaul J.Z., Hudson S. M., Katherine A. M. Creber, Crosslinking of Chitosan Fibers with Dialdehydes: Proposal of a New Reaction Mechanism, *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, Vol. 37, 1079–1094, **1999**.
- [36] Vilchez, S., Jovancic, P., Manich, A.M., Julia M. R., Erra P., , Chitosan Application on Wool Before Enzymatic Treatment, *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 98, 1938-1946, **2005**.
- [37] Sun, O., Fernandez, K., Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different Processing Protocols, **2004**, http://etd.lsu.edu/docs/available/etd-11102004-134343/unrestricted/Fernandez-Kim_thesis.pdf.

- [38] Kasaai, M. R. Determination of the degree of N-acetylation for chitin and chitosan by various NMR spectroscopy techniques: A review, *Carbohydrate Polymers* 79, 801–810, **2010**.
- [39] Lavertu, M. Xia, Z., Serreqi, A.N., Berrada, M., Rodrigues, A., Wang, D., Buschmann, M.D., Gupta, A., A validated, ^1H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 32, 1149-1158, **2003**.
- [40] Tahtat, D., Uzun, C. Mahlous, M., Güven, O., Beneficial effect of gamma irradiation on the N-deacetylation of chitin to form chitosan, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 265, 425–428, **2007**.
- [41] Tan, S. C., Khor, E., Tan, T. K., Wong, S. M., The degree of deacetylation of chitosan : advocating the first derivative UV-spectrophotometry method of determination, *Talanta*, 45,713-719, **1988**.
- [42] Wu, T., Zivanovic, S., Determination of the degree of acetylation (DA) of chitin and chitosan by an improved first derivative UV methoda, *Carbohydrate Polymers*, 73, 248-253, **2008**.
- [43] Petrucci R. H., Harwood W. S., Herring F. G., *General Chemistry Principle and Modern Applications*, 8th edition, Prentice Hall, 1024-1046, **2002**.
- [44] Radiation Chemistry of Polysaccharides, IAEA Radiation Technology Series, ed. S. Al-Assaf, P. Ulanski, M. Şen S. Sabharwal, X. Coqueret, H.M.D. Khairul Zaman, *Agency Publishing Section*, **2014**, In press
- [45] Clough, R.L., High-energy radiation and polymers: A review of commercial processes and emerging applications, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 185, 8-33, **2001**.
- [46] Chmielewski, Andrzej G., Haji-Saeid, M., Ahmed, S., Progress in radiation processing of polymers, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, Volume 236, Issue 1-4, 44-54, **2005**.
- [47] Silindir, M., Özer, Y., The Effect of Radiation on a Variety of Pharmaceuticals and Materials Containing Polymers, *PDA Journal Pharmaceutical Science and Technology*, 66 184-199, **2012**.
- [48] Wasikiewicz, J.M., Yoshii, F., Nagasawa, N., Wach, R.A., Mitomo, H., Degradation of chitosan and sodium alginate by gamma radiation, sonochemical and ultraviolet methods, *Radiation Physics and Chemistry*, 73, 287, **2005**.
- [49] Şen, M., Yolaçan, B., Güven, O., Radiation-induced degradation of galactomannan polysaccharides, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 265, 429-433, **2007**.
- [50] Hien, N.Q., Nagasawa, N., Tham, L.X., Yoshii, F., Dang, V., Mitomo, H.H., Makuuchi, K., Kume, T., Growth-promotion of plants with

depolymerized alginates by irradiation, *Radiation Physics and Chemistry*, 59, 97, **2000**.

- [51] Aftab, T., Masroor Khan, A., Idrees, M.N., Moinuddin, M., Hashmi, N., Varshney, L., Enhancing the growth, photosynthetic capacity and artemisinin content in *Artemisia annua* by irradiated sodium alginate, *Radiation Physics and Chemistry*, 80, 833, **2011**.
- [52] Luan, L.Q., Nagasawa, N., Ha, V.T.T., Hien, N.Q., Nakanishi, T.M. , Enhancement of plant growth stimulation activity of irradiated alginate by fractionation, *Radiation Physics and Chemistry*, 78, 796, **2009**.
- [53] Mollah, M.Z.I., M.A., Khan, R.A., Effect of gamma irradiated sodium alginate on red amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) as growth promoter, *Radiation Physics and Chemistry*, 78 , 61, **2009**.
- [54] Czechowska-Biskup, R., Rokita, B., Ulanski, P., Rosiak, J.M., Radiation-induced and sonochemical degradation of chitosan as a way to increase its fat-binding capacity, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B*, 236, 383, **2005**.
- [55] I. Zainol, H. Mdakil, A. Mastor, Effect of γ -irradiation on the physical and mechanical properties of chitosan powder. *Materials Science and Engineering: A*, C29, 292, **2009**.
- [56] Hien, N.Q., Radiation degradation of chitosan and some biological effects. Radiation Processing of Polysaccharides, *IAEA-TECDOC-1422*, IAEA, Vienna, Austria, 125–136, **2004**.
- [57] Relleve, L., Nagasawa, N., Luanc, L.Q., Yagi, T., Aranilla, C., Abad, L., , Kume, T., Yoshii, F., Dela Rosa, A., Degradation of carrageenan by radiation. *Polymer Degradation and Stability*, 87, 403, **2005**.
- [58] Thama, L.X., Nagasawa, N., Matsushashi, S., Ishioka, N.S., Ito, T., Kume, T., Effect of radiation-degraded chitosan on plants stressed with vanadium, *Radiation Physics and Chemistry*, 61, 171, **2001**.
- [59] Nagasawa, N., Mitomo, H., Yoshii, F., Kume, T., Radiation-induced degradation of sodium alginate, *Polymer Degradation and Stability*, 69, 279, **2000**.
- [60] Kume, T., Nagasawa, N., Yoshii, F., Utilization of carbohydrates by radiation processing, *Radiation Physics and Chemistry*, 63, 625, **2002**.
- [61] Guven, O., Şen, M., Taşkın, P., Effect of polysaccharide structural parameters on radiation-induced degradation, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 42(1), 9-21, **2014**.
- [62] Steffe, J.F., *Rheological Methods in Food Process Engineering. second ed.*, Freeman Press, East Lansing, USA, ISBN: 0-9632036-1-4, **1996**.
- [63] Mehrina, M.R., Garakani, A.H.K., Mostoufi, N., Sadeghi, F., Hosseinzadeh, M., Fatourechi, H., Sarrafzadeh, M.H., Comparison between different models for rheological characterization of activated

sludge, *Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 8, 255-264, **2011**.

- [64] Jiang, X., Chen, L., Zhong, W., A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosan, *Carbohydrate Polymers*, 54, 457–463, **2003**.
- [65] Kurata, M., Tsunashima, Y. Viscosity-Molecular weight relationships and unperturbed dimensions of linear chain molecules. In J. Brandrup and E.H. Immergut (Eds.), *Polymer Handbook*, New York: John Wiley and Sons, pp. VII/22, **1989**.
- [66] Hirai, A., Odani, H., Nakajima, A., Determination of degree of deacetylation of chitosan by ^1H NMR spectroscopy, *Polymer Bulletin*, 26, 87–94, **1991**.
- [67] Guinesi, L. S., Cavaleiro, E. T. G., The use of DSC curves to determine the acetylation degree of chitin/chitosan samples, *Thermochimica Acta* 444, 128–133, **2006**.
- [68] Zainol, I., Md Akil, H., Mastor, A., Effect of γ -irradiation on the physical and mechanical properties of chitosan powder, *Materials Science and Engineering C* 29, 292–297, **2009**.
- [69] Brugnetto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F.M., Argüelles-Monal, W., Desbrières, J., An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, *Polymer*, 42, 3569-3580, **2001**.
- [70] Wang, W., Bo, S., Qin, W., Determination of the Mark- Houwink equation for chitosan with different degrees of deacetylation, *International Journal Of Biological Macromolecules*, 13, 281-285, **1991**.
- [71] Kassai., Mohammed R., Calculation of Mark-Houwink-Sakurada equation viscosimetric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscosimetric constants data., *Carbohydrate Polymers*, 68 447-488, **2007**.
- [72] Charlesby, A., *Atomic Radiation and Polymers*, Pergamon Press, New York, **1960**.
- [73] Jellinek H.H.G., *Degradation of Vinyl Polymers*, Wiley and Sons, New York, **1955**.
- [74] Şen, M., Rendeovski, S., Kavaklı, Akkas, P., Sepehrianazar A., Effect of G/M ratio on the radiation-induced degradation of sodium alginate, *Radiation Physics and Chemistry*, 79, 279-282, **2010**.

EKLER



HEPPE MEDICAL CHITOSAN GmbH

CEO: Dipl. Biotechnol. Katja Heppe

Heinrich-Damerow Straße 1
D-06120 Halle (Saale)
Tel: +49 (0) 345 27 996 307
Fax: +49 (0) 345 27 996 378
info@medical-chitosan.com
www.medical-chitosan.com

Certificate of Analysis

Product line:

Chitoscience

Product: Chitosan 75/1000
CAS: 9012-76-4
Product No.: 23307
Batch No.: 212-060710-01
Storage conditions: < 25 °C, dry and well closed
Production date: 06.07.2010
Expiry date: 06.07.2013

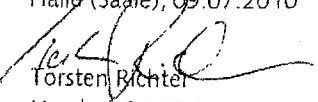
HypoVeranstbank Halle (Saale)
Account: 356 864 832 BLZ: 800 200 86
SWIFT: HYVE DE MM 440
IBAN: DE33 8002 0088 0356 8848 32

Volksbank Halle (Saale) eG
Account: 0001 160 966 BLZ: 800 937 84
SWIFT: GENO DE F1 HAL
IBAN: DE83 8009 3784 0001 1609 66

VAT ID: DE 249 728 508
Amtsgericht Stendal HRB 5561

Parameter	Method	Limit	Result
Appearance of solid product	HMC QK-PA-0001	white to light yellow	complies
Appearance of solution	HMC QK-PA-0002	clear, colorless to slightly yellowish	complies
Degree of deacetylation	HMC QK-PA-0003	72.6 - 77.5 %	74,33 %
Viscosity (1% in 1% acetic acid, 20°C)	HMC QK-PA-0004	751 - 1250 mPas	803 mPas
Ashes (sulphated)	HMC QK-PA-0005	≤ 1 %	0,4%
Dry matter content	HMC QK-PA-0006	≥ 85 %	90,1 %
Heavy metals			
Hg	HMC QK-PA-0020	≤ 0.2 ppm	complies
Cd	HMC QK-PA-0020	≤ 0.5 ppm	complies

Halle (Saale), 09.07.2010


Torsten Richter
Head of QA/QC

Page: 1/1
Rev: 01

Heppchen-Dammweg-Strasse 1
D-06120 Halle (Saale)
Tel.: +49 (0)345 27 996 307
Fax: +49 (0)345 27 996 378
e-mail: medical-chitosan.com
www.medical-chitosan.com

Halle-Vertriebsbank Halle (Saale)
KTO: 356 884 837 Bf / RUG 200 86
Bf: HYVE DE MM 440
IBAN: DE33 8002 0096 0358 8646 32

Volksbank Halle (Saale) eG
KTO: 0901 168 851 Bf / RUG 937 84
Bf: GENO DE FI HAL
IBAN: DE06 8002 3764 0901 1688 51

HALE DE 249 228 508
Antisepark Halle (Saale) 5581

Certificate of Analysis

Product: Chitoscience Chitosan 80/1000
CAS: 9012-76-4
Product-No. 23407
Storage conditions: dry, well closed, < 25°C
Lot: 200-151209-01
Production date: 15.12.2009
Best before: 15.12.2012

	Limit	Result
Appearance of solid product:	White to light yellow	complies
Appearance of solution:	Clear, colorless to slightly yellowish	complies
Dry matter content:	≥ 85 %	95,1 %
Ash content:	≤ 1 %	0,4 %
Viscosity: (1% in 1% acetic acid, 20 °C)	751 – 1250 mPas	755 mPas
Degree of deacetylation:	77,6 – 82,5 %	79,5 %
Heavy metals:		
Cd	≤ 0,5 ppm	complies
Hg	≤ 0,2 ppm	complies

Torsten Richter
QM



Halle, 21.01.2010

Hennrich-Damerow-Straße 1
D 06120 Halle (Saale)
Tel. +49 (0) 345 27 896 307
Fax +49 (0) 345 27 896 378
info@medical-chitosan.com
www.medical-chitosan.com

Stift- und Seefischparkstraße Halle (Saale)
KIT: 3900 001 153 BLZ: 800 537 62
BIC: NOLA DE 21 HAL
IBAN: DE 8005 3762 3900 0011 53

Volksbank Halle (Saale) AG
KIT: 0001 160 366 BLZ: 800 937 64
BIC: DE00 0001 160
IBAN: DE 83 8009 3784 0001 1609 86

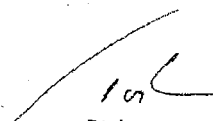
Ust-ID DE 249 128 508
Amtsgericht Stendal HPR 6561

HMC+ Hennrich-Damerow-Straße 1 D 06120 Halle (Saale)

Certificate of Analysis

Product:	Chitosan 90/1000/A1
CAS:	9012-76-4
Product-No.	20212
Storage conditions:	<25°C, dry and well closed
Lot:	200-250706-02
Production date:	25.07.2006
Best before:	25.07.2009

	Limit	Result
Appearance of solid product:	White to light yellow	complies
Appearance of solution:	Clear, colorless to slightly yellowish	complies
Dry matter content:	>85%	93,9 %
Ash content:	≤ 1 %	0,4 %
Viscosity: (1% in 1% acetic acid, 20 °C)	751 - 1250 mPas	1050 mPas
Degree of deacetylation:	87,6 - 92,5 %	91,8%
Heavy metals:		
Cd	< 0,5 ppm	complies
Hg	< 0,2 ppm	complies


Richter
QM

Halle, 05.10.2006

Certificate of Analysis

Product line:

Chitoscience

Product:

Chitosan 95/1000

CAS:

9012-76-4

Product No.:

23707

Batch No.:

212-020710-02

Storage conditions:

< 25 °C, dry and well closed

Production date:

02.07.2010

Expiry date:

02.07.2013

HypoVereinsbank Halle (Saale)

Account: 356 884 832 BLZ: 800 200 86

SWIFT: HYVE DE 3303 0000

IBAN: DE33 8002 0088 0356 8648 32

Volksbank Halle (Saale) eG

Account: 0001 160 966 BLZ: 800 937 84

SWIFT: GENO DE 3111 0000

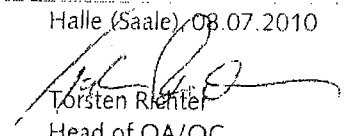
IBAN: DE83 8009 3784 0001 1609 66

VAT ID: DE 249 728 508

Amtsgericht Stendal HRB 5561

Parameter	Method	Limit	Result
Appearance of solid product	HMC QK-PA-0001	white to light yellow	complies
Appearance of solution	HMC QK-PA-0002	clear, colorless to slightly yellowish	complies
Degree of deacetylation	HMC QK-PA-0003	≥ 92.6 %	94,2 %
Viscosity (1% in 1% acetic acid, 20°C)	HMC QK-PA-0004	751 - 1250 mPas	1090 mPas
Ashes (sulphated)	HMC QK-PA-0005	≤ 1 %	0,4%
Dry matter content	HMC QK-PA-0006	≥ 85 %	90,9 %
Heavy metals			
Hg	HMC QK-PA-0020	≤ 0.2 ppm	complies
Cd	HMC QK-PA-0020	≤ 0.5 ppm	complies

Halle (Saale) 08.07.2010


 Torsten Richter
 Head of QA/QC

Page: 1/1

Rev: 01

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Pınar TAŞKIN
Doğum Yeri : Ankara
Medeni Hali : Bekar
E-Posta : ptaskin@hacettepe.edu.tr
Adresi : Sancak Mah. 547. Sokak 10/13 Çankaya ANKARA

Eğitim

Lise : 2002-2006, Bahçelievler Deneme Yabancı Dil Ağırlıklı
(Süper) Lisesi, Ankara
Lisans : 2006-2011, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya
Bölümü, Ankara
Y.Lisans : 2012-Şimdi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Kimya Bölümü, Polimer Kimyası Ana Bilim Dalı, Ankara

Yabancı dil ve Düzeyi

İngilizce (KPDS notu : 72,5)

İş Deneyimi

Staj (2010) : TOBB ETU Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı, Ankara

(2012-2014) : TÜBİTAK Türkiye-Romanya İkili İşbirliği Projesi, “İyonlaştırıcı

Radyasyonla Ksantan Sakızı Esaslı Süper Emici Polimerlerin

Hazırlanması için Optimum Koşulların Belirlenmesi”, Proje No:

112T628, Yüksek Lisans Öğrencisi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara

(2014- Şimdi): Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri, Adli Tıp Ana Bilim Dalı, Adli

Toksikoloji Laboratuvarı, Ankara

Deneyim Alanları

- “ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi Temel Eğitimi”, 24 – 25 Eylül 2011, Ankara.
- “İyi Üretim Uygulamaları (GMP) Eğitimi”, 24 – 25 Eylül 2011, Ankara.
- “MSMS (Kütle Spektrometresi, Sıvı Kromatografisi) Teknolojileri Çalışma Prensipleri ve Uygulamaları Eğitimi”, 10 Haziran 2014.

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

- “Kitosanın Radyasyonla Bozunmasına Deasetilizasyon Derecesinin Etkisi”, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi Projesi, Proje No: 013D04601002, **(2100 TL)**

Tezden üretilmiş Yayınlar

1. “The Effect of Degree of Deacetylation on The Radiation Induced Degradation of Chitosan”, *Radiation Physics and Chemistry*, Volume 94, Pages 236-239, DOI: 10.1016 /j.radphyschem.2013.04.007, **2014**.

2. “Effect of polysaccharide structural parameters on radiation-induced degradation”, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 42(1), 9-21, **2014**.

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

1. **Murat Şen, Hande Hayrabolulu, Pınar Taşkın, Olgun Güven**, “Radiation Synthesis of Superabsorbent Polymers Based on Natural Polymers” *3th IAEA Research Coordinated Meeting on The Development Of Radiation-Processed Products of Natural Polymers For Application In Agriculture, Healthcare, Industry And Environment*, Viyana, Avusturya, **27 Haziran-1 Temmuz 2011**.
2. **Murat Şen, Pınar Taşkın, Olgun Güven**, “Effect of Deacetylation Degree Of Chitosan On The Radiation Induced Degradation And On The Identification Of Its Accurate Molecular Weight”, *4th IAEA Research Coordinated Meeting on The Development Of Radiation-Processed Products of Natural Polymers For Application In Agriculture, Healthcare, Industry And Environment*, Viyana, Avusturya, **2-8 Eylül 2012**.
3. **Poster sunumu**, “Kitosanın Radyasyonla İndüklenmiş Bozunmasına Deasetilizasyon Derecesinin Etkisi” 4. Ulusal Polimer Bilim ve Teknoloji Kongresi, Çanakkale 18 Mart Üniversitesi, Çanakkale, TÜRKİYE, **5-8 Eylül 2012**.
4. **Poster sunumu**, “The effect of degree of deacetylation on the radiation induced degradation of chitosan”, *10th meeting of the Ionizing Radiation and Polymers Symposium IRAP*, Krakow, Polonya, **14-19 Ekim 2012**.