

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KALSİYUM ALJİNAT KÜRELERİNİN SAF SU, İZOTONİK NaCl, YAPAY
MİDE VE BAĞIRSAK SIVILARINDA ZAMANA BAĞLI ŞİŞMELERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Orhun CELEN

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

MAYIS 2018

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KALSİYUM ALJİNAT KÜRELERİNİN SAF SU, İZOTONİK NaCl, YAPAY
MİDE VE BAĞIRSAK SIVILARINDA ZAMANA BAĞLI ŞİŞMELERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Orhun CELEN
509141024**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. F. Bedia ERİM BERKER

MAYIS 2018

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 509141024 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Orhun CELEN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "KALSİYUM ALJİNAT KÜRELERİNİN SAF SU, İZOTONİK NaCl, YAPAY MİDE VE BAĞIRSAK SIVILARINDA ZAMANA BAĞLI ŞİŞMELERİNİN İNCELENMESİ" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. F. Bedia ERİM BERKER**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. H. Hüceste GİZ**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Hakan KAYGUSUZ
Altınbaş Üniversitesi

Teslim Tarihi : **4 Mayıs 2018**
Savunma Tarihi : **30 Mayıs 2018**



ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmam süresince çalışmalarımda bana yol gösteren ve yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. F.Bedia ERİM BERKER'e ve yürütülen çalışmada fikir ve önerilerini her zaman benimle paylaşıp; yardımını esirgemeyen hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hakan KAYGUSUZ'a, yüksek lisans öğrenimimin başından sonuna kadar desteğini esirgemeyen Aslı ALDEMİR'e ve tüm hayatım boyunca yanımda olan sevgili aileme tüm içtenliğimle teşekkür ederim

Mayıs 2018

Orhun CELEN
Kimyager



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
SEMBOLLER	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
2. TEORİK BİLGİ	3
2.1 Biyopolimer	3
2.2 Hidrojeller	3
2.2.1 Hidrojellerin içerisindeki su	4
2.3 Aljinat.....	4
2.3.1 Yapısı ve sentezi	5
2.3.2 Aljinatların kimyasal özellikleri.....	6
2.3.3 Aljinatın çözünürlüğü.....	7
2.3.4 Aljinat jellerinin kimyasal yapısı ve çapraz bağlanma	8
2.3.5 Aljinatın uygulamaları	9
2.3.5.1 Tekstil uygulamaları	9
2.3.5.2 Gıda uygulamaları.....	9
2.3.5.3 Farmasötik ve medikal uygulamalar	10
2.3.5.4 Çevre kirliliği uygulamaları	11
3. KONTROLLÜ İLAÇ SALIM MEKANİZMALARI	13
4. DENEYSEL ÇALIŞMA	15
4.1 Kullanılan Kimyasallar	15
4.2 Kullanılan Cihazlar	15
4.2.1 Nem Tayin Cihazı	15
4.3 Kalsiyum Aljinat Küreleri İçin Yapılan İşlemler.....	16
4.3.1 Kalsiyum aljinat kürelerinin hazırlanması	16
4.3.2 Kürelerin şişirilmesinde kullanılan çözeltiler	16
4.3.2.1 İzotonik NaCl çözeltisinin hazırlanması	16
4.3.2.2 SGF (yapay mide sıvısı) çözeltisinin hazırlanması.....	17
4.3.2.3 SIF (yapay bağırsak sıvısı) çözeltisinin hazırlanması.....	17
4.3.3 Kurutulmuş kalsiyum aljinat kürelerinin şişirilmesi.....	17
4.3.4 Şişirilen kürelerin şişme oranlarının ölçülmesi.....	17
5. SONUÇLAR	19
6. GENEL DEĞERLENDİRME	27
KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ.....	33



KISALTMALAR

- pH** : Hidrojen konsantrasyonunun kologaritması
pKa : Asitlik sabiti
CaCl₂ : Kalsiyum Klorür
NaCl : Sodyum klorür
NaOH: Sodyum hidroksit
HCl : Hidroklorik Asit
Ca²⁺ : Kalsiyum iyonu
Na⁺ : Sodyum iyonu
SGF : Yapay mide ortamı
SIF : Yapay bağırsak ortamı
RPM : Bir cismin kendi ekseni etrafında dakikada kaç tur döndüğünü gösteren ölçü birimi
Alg : Aljinat
W_i : Kalsiyum aljinat küre tanelerinin başlangıç ağırlığı
W_s : Kalsiyum aljinat küre tanelerinin şişirilme sonrası ağırlığı
g : Gram
mL : Mililitre
L : Litre
N : Normalite
Mol : Avogadro sayısı kadar atom ya da molekül içeren madde
M : Mannuronat
G : Guluronat



SEMBOLLER

°C : Santigrat derece

% : Yüzde

β : Beta

α : Alfa





ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Aljinik asidin temel özellikleri.....	6
Çizelge 5.1 : Deiyonize su ile yüzde şişme verileri.....	19
Çizelge 5.2 : İzotonik NaCl ile yüzde şişme verileri.....	20
Çizelge 5.3 : SGF çözeltisi ile yüzde şişme verileri.....	21
Çizelge 5.4 : SIF çözeltisi ile yüzde şişme verileri.....	22





ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Yosunlardan aljinat ekstraksiyonu	5
Şekil 2.2 : Aljinik asidin kimyasal yapısı.	6
Şekil 2.3 : Aljinatı oluşturan fraksiyonlar	7
Şekil 2.4 : Yumurta-Kafes modeli	8
Şekil 3.1 : Difüzyon kontrollü sistemlerde ilacın salınması	13
Şekil 3.2 : Jelin bozunarak ilacın ortama çıkması	14
Şekil 3.3 : İlacın matriks maddesinin şişmesi ve ilacın difüzyonu.....	14
Şekil 4.1 : Nem tayin cihazının görüntüsü.....	15
Şekil 5.1 : Deiyonize su ile yüzde şişme verileri.....	19
Şekil 5.2 : İzotonik NaCl ile yüzde şişme verileri	20
Şekil 5.3 : SGF çözeltisi ile yüzde şişme verileri	21
Şekil 5.4 : SIF çözeltisi ile yüzde şişme verileri	22
Şekil 5.5 : Şişme davranışlarının toplu gösterimi.....	23



KALSİYUM ALJİNAT KÜRELERİNİN SAF SU, İZOTONİK NaCl, YAPAY MİDE VE BAĞIRSAK SIVILARINDA ZAMANA BAĞLI ŞİŞMELERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Kalsiyum aljinatın kullanıldığı farmakolojik uygulamalar günümüzde artarak devam etmektedir. Özellikle ilaç salım sistemlerinde kullanılan aljinat jellerinin şişme kapasiteleri tasarlanan sistemin temel noktalarından biridir. Kalsiyum aljinat hidrojelinin şişme kapasitesinin ölçümü genel olarak klasik gravimetrik metotla gerçekleştirilirken, bu yöntemde görülen düşük tekrarlanabilirlik ve ölçüm süresinin uzunluğu sebebiyle yeni deney yöntemleri üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Bu çalışmada, aljinat hidrojelinin farklı ortamlarda şişme oranlarını inceleyecek ve analiz hatasını en aza indirebilecek yeni bir ölçüm tekniğinin denenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla rutin laboratuvar analizlerinde nem tayin cihazı olarak bilinen numunenin içerisinde bulunan nem miktarını ölçmeye yarayan ve yapısında halojen ısıtıcı ve hassas terazi bulundurup; termogravimetrik yöntem ile çalışan bir cihaz kullanılmıştır. Şişen aljinat jelleri kurutulurken aynı anda kütle değişimleri tayin edilmiştir. Aljinatın dört farklı ortamda şişme oranları karşılaştırılmıştır.

Kalsiyum aljinat küreleri, %1'lik sodyum aljinat çözeltisinin %3'lük CaCl_2 çözeltisine enjektör yardımıyla damlatılmasıyla oluşturulmuştur. Kurutulan kalsiyum aljinat küreleri deiyonize su, izotonik NaCl, yapay mide sıvısı (SGF), yapay bağırsak sıvısı (SIF) gibi ilaç salım sistemlerinde önemli yeri olan çözeltilerde belirli zaman aralıklarında şişirilmiştir. Bu işlemden sonra şişmiş olan kalsiyum aljinat kürelerinin yapısındaki çözücü miktarı nem cihazı yardımıyla ölçülmüştür.

Cihaz içinde tartım alındığı için, işlem süresi kısalmış ve analiz hatası ihtimali azaltılmıştır ve tekrarları sonuçlar elde edilmiştir. Analiz yapılan zamana karşılık iki analiz yapılarak her noktanın tekrarlanabilirliği ölçülmüş ve RSD değeri en fazla altı olarak bulunmuştur.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde şişme yüzdelerinin SIF, izotonik NaCl, SGF ve saf su sıralamasına göre azaldığı gözlenmiştir. Şişme oranları su ve mide sıvısında birbirine yakınken, izotonik NaCl ve bağırsak sıvısındaki şişme oranlarının yakınlığı gözlenmiştir. Şişme davranışlarının kullanılan çözücülerin kimyasal yapılarıyla, ortamın pH ve iyonik şiddetiyle olan ilgisi deney sonucunda irdelenmiştir.

Bu bağlamda pH değerleri birbirine yakın olan çözeltilerde yapılan deneylerdeki sonuç farkını iyonik şiddetin belirlediği; iyonik şiddet değerleri birbirine yakın çözeltilerde yapılan deneylerdeki sonuç farkını ise pH değerlerinin belirlediği gözlemlenmiştir. Nem cihazında yapılan ölçümler ile teorik bilgilerin birbiriyle örtüştüğü belirlenmiştir.



DETERMINATION OF SWELLING BEHAVIOR OF CALCIUM ALGINATE IN DEIONIZED WATER, ISOTONIC NaCl, SIMULATED GASTRIC AND SIMULATED INTERSTINAL FLUIDS

SUMMARY

The use of biopolymer based materials in pharmaceutical applications is continuously increasing nowadays. Although biopolymers are composed of a large number of monomers linked together, such as all existing polymers, the difference between them is considerably greater than that of synthetic polymers. Biopolymers can be seen to be more advantageous than synthetic polymers due to their non-toxicity, biodegradability, biocompatibility with biocompatible, edible, ecologically compatible and low cost in the abundance in nature.

Biopolymers consist of a wide range of materials, including polysaccharides and polypeptides. By the means of abundance, polysaccharides form an important percentage among the biopolymers. Cellulose, starch and glycogen are among the most common polysaccharides. These polysaccharides already find use in pharmaceutical, medicinal and environmental applications. One of the most important polysaccharides is alginate.

Hydrogels are hydrophilic polymer webs and have the ability to absorb water from 10-20% to 1000 times their dry weight depending on the type of hydrogel. Hydrogels are called physical gels if they are held together with molecular entanglements or secondary forces such as ionic, hydrogen bonding or hydrophobic interaction. These gels can be reversible. Physical gels are not homogeneous, free chain ends may be present. A polyelectrolyte can form a physical gel with ionotropic gelation with oppositely charged polyions. Calcium alginate is an example of such a gel. Also, when oppositely charged polyelectrolytes are mixed they form a gel or precipitate depending on their concentration, ionic strength and pH of the medium.

These are known as polyion or polyelectrolyte complexes. These interactions are reversible and can be degraded by changing the physical conditions such as the ionic strength, pH, temperature, materials added to the medium. The water in the hydrogels determines the permeability of the character, food, and gelatin of cellular products. If the network chains are fragile, the gel is dispersed or dissolved at the end of the swelling. For example, in this study, it was observed that spheres were disintegrated after a certain period of time during inflation with isotonic NaCl solution.

Alginate ensures that algae are resistant to harsh environmental conditions (such as pressure and wave in the ocean). Which is extracted from the cell walls of algae species, a diverse group of aquatic organisms. Being extracted as alginic acid, this material is easily converted to its sodium salt and is commercially available. This non-toxic and edible polysaccharide is currently used in food formulations as a thickening and coating agent. Besides this, sodium alginate is used in anti-acid drug

formulations. This biopolymer is composed of homopolymeric blocks of guluronate and mannuronate.

Alginate is soluble in solutions with a pH above ~ 3.5 , and when it is dissolved it is assumed that it forms an anionic polyelectrolyte. When dissolved alginate comes into contact with most divalent and trivalent cations, an immediate exchange reaction occurs and a hydrophilic gel is obtained. Most common alginate gel is calcium alginate. This gel is stable, can be easily adapted for many applications and very easy to prepare. Thanks to these properties, it finds many uses in various scientific and technological areas: From food industry to pharmaceuticals and water purification agents.

In water purification agents, it generally uses as an adsorbent in the removal of pollutant toxic substances in the water by adsorption. In medicine and pharmaceuticals, development of controlled release agents gained interest in last decades. In the classical form of medication, the medication should be taken at frequent intervals. Because the activity of the drug cannot be maintained for a long time. Therefore, the amount of time it takes to metabolize the drug substance is not dependent on the parameters to be set in conventional drug forms. Controlled drug release systems eliminate these situations.

The principle of controlled release is based on the sustained delivery of an active drug molecule over time, and preferably, under a predictable behavior. Controlled release of drugs from a release matrix is based on two principles: Chemical erosion of the support material (polymer) and diffusion of the drug. Since most drugs are water soluble, determination of the drug diffusion in water is crucial. Diffusion laws govern the drug transportation through the support material and it is strongly related to the swelling behavior.

Recently there are many reports on development of calcium alginate based controlled release systems. As a hydrophilic gel, calcium alginate swells especially in basic medium. The swelling properties of this material are well known. Most common technique to characterize the swelling ability of a controlled release material is to measure its wet mass and calculate the ratio to the dry mass.

This procedure is repeated for certain time intervals. While the swelling capacity of calcium alginate is generally measured by classic conventional gravimetric method, due to the disadvantages observed on these methods like low precision and long experiment time, various research have been made on the methods that will yield higher efficiency.

In the present study, a novel analysis technique has been tried using a moisture analyzer. The amount of water in the swollen alginate beads was measured quickly with high precisions at the same time when the beads were dried in the device. Moisture analyzer is basically a precision scale with a halogen heater. It gives a fast and accurate mass for moist materials. It is possible to preselect all parameters of a measurement (drying temperature, drying time, etc.). The cost of the device is very low. The device does not have consumable material. It is only necessary maintenance to be done at regular intervals.

In experimental section, calcium alginate beads were prepared by adding 1% (w/v) sodium alginate solution into 3% (w/v) calcium chloride solution using a syringe. While dropping, calcium alginate gel beads are immediately formed. After gelation, the calcium alginate spheres were filtered with filter paper. The filtered spheres were

washed several times with deionized water. If the spheres are not washed with water, it is observed that the constructions of the spheres deteriorate with time. After filtration, the calcium alginate beads were dried at a certain temperature in the drying chamber. The spheres were made ready to be swelled in the determined solutions. After which the spheres were made ready to be inflated in the specified solutions.

Swelling measurements were conducted by treating dried calcium alginate beads at specific time intervals with solutions that are important in drug release systems such as deionized water, isotonic NaCl solution, simulated gastric fluid (SGF), and simulated intestinal fluid (SIF). These solutions were selected because isotonic sodium chloride solution, SGF and SIF are commonly used in in vitro drug release studies. The solution remaining on the surface of the spheres was carefully removed with a napkin. After this analytical process, the amount of solvent in the swollen calcium alginate beads was measured by means of a moisture analyzer, based on the rate of swelling.

The device has reduced the analysis to one step and reduced the possibility of analysis errors. High precisions have been obtained for the swelling ratios of calcium alginate beads in four different medium. In response to time of the analysis at least two analyses were made and the reproducibility of each point was measured and the maximum RSD value found was six. This value is a good result when compared to the other classical method.

When the swelling percentages were compared, the results decrease in the following order: SIF, isotonic NaCl, SGF and pure water. While the swelling ratios were close to each other in the water and gastric fluid, the results in the salt solution and the intestinal fluid were close to each other. The relations of swelling ratios with the ionic strength and pH of the environment was discussed. In SIF solution, the affinity of phosphate towards calcium leads to a rapid swelling of calcium alginate matrix and following this, disintegration.

Similarly, in sodium chloride solution sodium ions compete with calcium for an ion-exchange like reaction and due to the increase in the ionic strength of the medium, calcium alginate gel is rapidly expanded by absorbing the solvent and this is followed by the disintegration of the gel structure. By the means of disintegration, it is meant an irreversible expansion and deformation of the capsule.

Due to the chemical balance, in SGF conditions calcium alginate gel beads only absorb the solvent however no chemical alteration is observed. This is due to the strong acidity (~1.2) of the SGF solution. Since the pKa of the alginate is around 3.5, the equilibrium tends towards calcium alginate, therefore the swelling is limited. Another limited swelling is observed for pure water, however in that case the reason is mostly the ionic strength instead of the pH.

It is observed that the result difference of the experiments done on solutions with pH values close to each other is determined by ionic strength; while the result difference of the experiments done on solutions with ionic strength values close to each other is determined by pH values.

It has been identified that the measurement done with humidity device coincided with the one in the theoretical information. Further studies with this technique might be beneficial for the characterization swelling-deswelling properties of the alginate beads as well. This technique can be used not only for alginate, but also other hydrophilic gels.



1. GİRİŞ

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde özellikle küçük ilaç moleküllerinin, bir hidrojel kapsülden dışarı çıkışı Fick difüzyon yasası mekanizmasıyla gerçekleşmektedir. Fick birinci difüzyon yasasına göre iyonlar yoğun oldukları bölgelerden daha az konsantre oldukları bölgelere hareket ederler yani iyonlar daha düşük konsantrasyonlara difüze olma eğilimindedirler [1].

Çözelti ortamında difüzyon gerçekleşirken, hidrojin yapısına giren çözücü (sulu çözelti) difüzyon hızını doğrudan etkileyen bir parametre olmaktadır. Dolayısıyla aljinat gibi bir hidrojel yapısındaki ilaç salımı kapsüllerinin içine giren çözücü miktarının, yani şişme oranının belirlenmesi; difüzyon ve dolayısıyla ilaç etkin maddesinin salım mekanizmasının aydınlatılmasında önemlidir.

Literatürdeki ilaç salımı çalışmalarında da kapsüllerin şişme özelliklerinin incelendiği görülmektedir. Bu çalışmalar ağırlıklı olarak klasik gravimetrik yöntemle yapılmaktadır. Kuru tartımı alınan hidrojel, şişme ortamında şişirildikten sonra dış yüzeyindeki çözücünün kurulanması ve tartımının alınması şeklinde yürüyen işlemde ölçüm tekrarlanırlığı düşük olabilmektedir.

Bu bilgiler ışığında yapılan bu yüksek lisans çalışmasında aljinat temelli ilaç salımı kapsüllerinin şişme kinetiğinin yeni bir deneysel yöntemle belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu yöntem ara basamakları ortadan kaldırarak deneysel hatayı azaltmayı sağlamaktadır. Yöntemin temeli; çözeltiyi içine hapsetmiş hidrojin nem tayin cihazında tek adımda çözücüsünü buharlaştırarak ve aynı anda kütle azalmasını ölçerek, hidrojel içine alınan çözücü miktarını bulmaktır. Bu sayede daha hızlı ve hassas bir ölçüm yapılabilmesi amaçlanmıştır.



2. TEORİK BİLGİ

2.1 Biyopolimer

“Biyopolimerler” genellikle canlı türler tarafından doğal yoldan üretilen polimerleri tanımlar. Molekül yapıları, tekrarlanan glikoz, nükleik asit ya da amino asit ve bazen de bu tekrarlanan birimlerle oluşturulan yapının işlevselliğine katkıda bulunabilecek çeşitli ek kimyasal yan zincirlerden oluşur [2].

Polisakkaritler (nişasta, aljinat, çitosan vb.), proteinler ve lipitler doğal biyopolimerler grubunda yer alan polimerlerdir. Bu tür polimerler bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalardan belirli yöntemlerle elde edilebilirler.

Biyopolimerler, var olan tüm polimerler gibi birbirine bağlanmış çok sayıda monomerden oluşmasına rağmen sentetik polimerler ile kıyaslandıklarında aralarındaki fark oldukça fazladır. Biyopolimerlerin canlı yapılardan elde edilmesi sebebi ile toksik olmaması; biyobozunabilen, canlı yapı ile biyoyumlu ve/veya yenilebilir olması, ekolojik yönden uygunluğu ve doğada bol miktarda bulunmasının sağladığı düşük maliyet ile sentetik polimerlere göre daha avantajlı oldukları görülebilir [3].

2.2 Hidrojeller

Hidrojeller, hidrofilik polimer ağları olup, hidrojinin tipine bağlı olarak kuru ağırlığının %10-20'sinden 1000 katına kadar su absorplama yeteneklerine sahiptirler. Hidrojeller, moleküler karmaşa ile veya iyonik, hidrojen bağı veya hidrofobik etkileşim gibi ikincil kuvvetlerle bir arada tutuluyorsa fiziksel jel olarak adlandırılır. Bunlar tersinir olabilen jellerdir. Fiziksel jeller homojen değildir serbest zincir uçları mevcut olabilir. Bir polielektrolit, zıt yüklü poliiyonlarla iyonotropik jelleşme ile bir fiziksel jel oluşturabilir. Kalsiyum aljinat bu tür jellerin bir örneğidir. Ayrıca zıt yüklü polielektrolitler karıştırıldığında da konsantrasyonlarına, ortamın iyonik şiddetine ve pH'ına bağlı olarak jel veya çökelti oluştururlar. Bunlar poliiyon veya polielektrolit kompleksler olarak bilinirler. Bu etkileşimler tersinirdir, ortamın iyonik

kuvveti, pH'ı, sıcaklığı, ortama ilave edilen maddeler gibi fiziksel şartların değişimi ile bozunabilirler.

Hidrojeller kovalent olarak bağlanmış ağlardan oluşuyor ise kalıcı veya kimyasal hidrojeller olarak adlandırılırlar. Kimyasal hidrojeller suda çözünen polimerlerin çapraz bağlaması ile de elde edilebilirler. Fiziksel hidrojeller gibi, kimyasal hidrojeller de homojen değildir. Suda çözünürlüğü düşük, yüksek oranda çapraz bağlanmış kümeler şişme oranı yüksek ve düşük çapraz bağlı bölgeler içinde dağılırlar [4].

2.2.1 Hidrojellerin içerisindeki su

Hidrojellerin içerisindeki içindeki suyun karakteri besinlerin ve hücresel ürünlerin jele olan geçirgenliğini belirler. Kuru bir hidrojel su absorplamaya başladığında, matrikse giren ilk su molekülleri önce hidrofilik polar gruplara gider. Bunlar birincil bağlı su molekülleri. Polar gruplar hidrate olurken ağ şişmeye başlar ve hidrofobik gruplar da su molekülleri ile etkileşerek, hidrofobik olarak veya ikincil bağlanmış su grupları oluşur. Birincil ve ikincil su moleküllerinin toplamı, toplam bağlanmış su olarak adlandırılır. Hidrofilik ve hidrofobik gruplar su moleküllerini bağladıktan sonra ağ ozmotik basıncın itici gücüyle sonsuz seyrelmeye kadar ilave su alabilir. Fiziksel veya kovalent çapraz bağlanma ise bu ilave şişme hareketine karşı gelmeye çalışır ve sonunda hidrojel bir denge şişme durumuna ulaşır. Jelin yapısındaki iyonik, polar ve hidrofobik grupların bağladıkları su ile doymalarından sonra jel içine alınan bu ilave su, serbest su olarak tanımlanır ve ağ zincirleri arasındaki boşlukları ve/veya büyük gözeneklerin merkezlerini doldurur. Eğer ağ zincirleri parçalanabilir yapıdaysa, şişme sonunda jel dağılır veya çözünür. Hidrojelin su miktarı, bağlı ve serbest su karakteri ilaç ile kimyasalın jel içine absorplanma veya jelden difüzyon davranışını tayin eder [4].

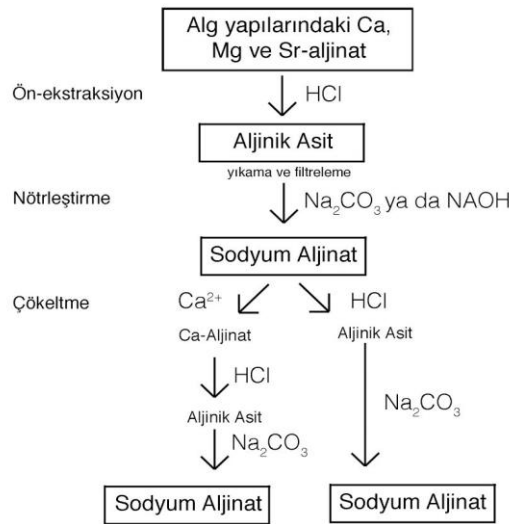
2.3 Aljinat

Aljinat, kahverengi deniz yosununun hücre duvarlarından ekstraksiyonla veya bakteriyel olarak üretilen, buldukları yapıya dayanıklılık ve elastikiyet sağlayan bir polisakkarit ailesi için kullanılan ortak bir terimdir [5]. Boyu metreleri aşan deniz yosunlarının denizdeki basınç, dalga gibi zorlu koşullara dayanarak yaşamlarını sürdürmesi aljinatın sağladığı bu özellikler ile mümkün olmaktadır.

2.3.1 Yapısı ve sentezi

1881'de İngiliz bilim insanı E.C.C. Stanford, Laminaria stenophylla olarak bilinen alkali davranışlı, kahverengi yosunları mineral asidi ile muamele ederek aljinik asidi keşfetmiştir. Bu keşfin ardından araştırma ve geliştirme çalışmalarına devam eden Stanford, aljinik asitin ticari olarak seri üretimini de gerçekleştirmiştir [6].

Aljinik asit, endüstriyel olarak *Macrocystis pyrifera*, *Ascophyllum nodosum* ve çeşitli *Laminaria* türlerinden ekstraksiyonla elde edilir. Dünya çapında yapılan aljinik asit üretiminin, yılda yaklaşık 30000 ton olduğu tahmin edilmektedir. Açıklanan rakamlar bu polisakkaritin sürekli olarak gelişim gösteren gıda ve ilaç gibi birçok endüstri için sınırsız bir kaynak olduğunu göstermektedir [5].



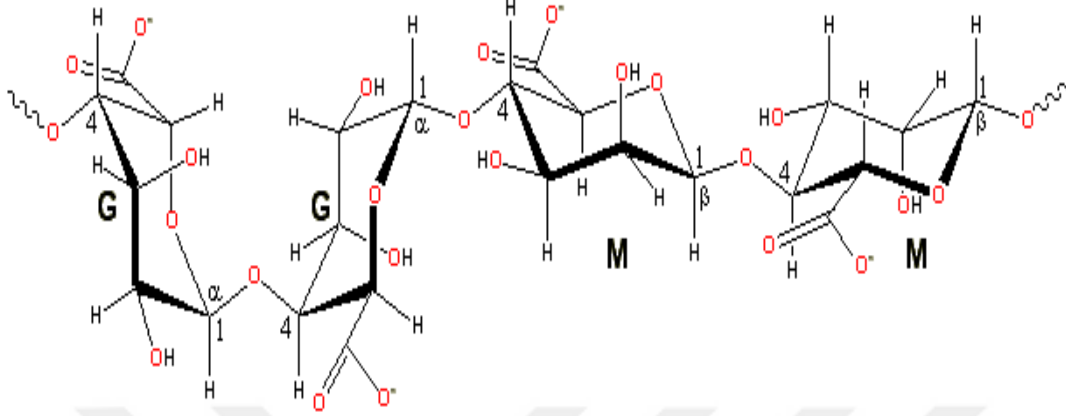
Şekil 2.1: Yosunlardan aljinat ekstraksiyonu [7].

Şekil 2.1'de görüneceği üzere öğütülmüş alg dokusu öncelikle bir mineral asidiyle muamele edilir. Daha sonra reaksiyon sonucunda elde edilen aljinik asidi nötrleştirip; aljinatı elde etmek amacıyla sodyum karbonat veya sodyum hidroksit kullanılır [7].

İşlem sırasında alglerin yapısından kalan partikülleri ayırmak için ise bu işlemden sonra eleme, yüzdürme, santrifüj ve filtrasyon gibi saflaştırma prosedürleri uygulanır. Son olarak elde edilen ürünü çökeltme ve kurutma prosedürleri uygulanarak saflaştırma işlemi tamamlanır [7].

2.3.2 Aljinatların kimyasal özellikleri

Aljinik asidin manuronat ve guluronat monomerlerinin polimerizasyonu neticesinde meydana gelmektedir. Kimyasal yapısı Şekil 2.2’de gösterilmiştir



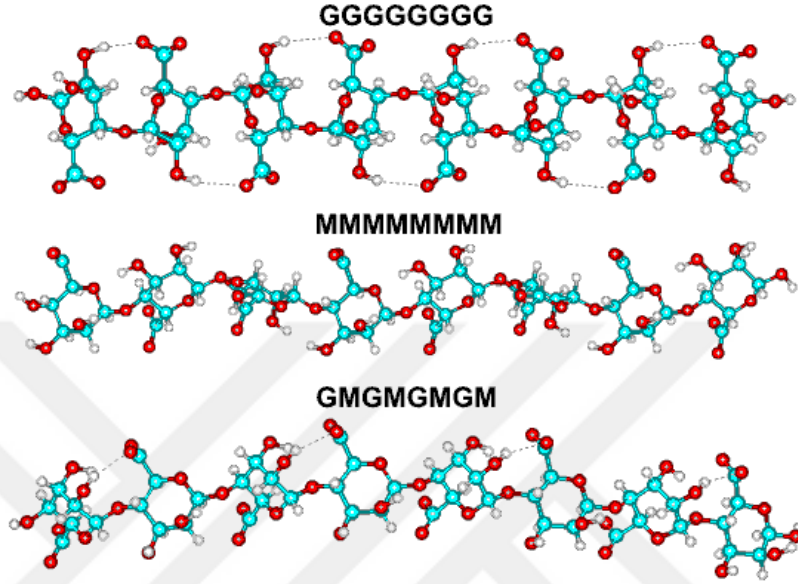
Şekil 2.2: Aljinik asidin kimyasal yapısı [8].

Çizelge 2.1’de Aljinik asidin temel özellikleri yer almaktadır. Aljinik asit, (1-4) bağlı β -D-mannuronat (M) ve onun C-5 epimeri α -L-guluronat (G) gruplarından oluşan kopolimer yapısında bir polisakkarittir.

Çizelge 2.1: Aljinik asidin temel özellikleri.

Molekül Formülü:	$(C_6H_8O_6)_n$
Molekül Kütlesi:	10000-600000 g/mol
pKa:	1,5 – 3,5
Görünüş:	Kirli beyaz toz

Şekil 2.3’de aljinatların üç ayrı fraksiyona sahip olduğu görülmektedir. Birinci fraksiyon guluronat (G) monomerlerinden, ikinci fraksiyon ise manuronat (M), üçüncü fraksiyon ise her iki monomerin eşit oranlarından meydana gelir. Aljinat, M ve G'nin homopolimerik bölgelerinden oluşan bir blok kopolimer olarak kabul edilmektedir.



Şekil 2.3: Aljinatı oluşturan fraksiyonlar [8].

Sentez yöntemine göre hangi homopolimer bloğunun baskın olduğu değişkenlik gösterebilir. Bu da elde edilen aljinik asidin tek bir molekül ağırlığında ve çözünürlükte olmadığını ortaya koyar [5].

Homopolimer zincirlerinin dizilimi ardışık olabileceği gibi, farklı kısımlar halinde, farklı oranlarda ve hatta rastgele olarak konumlanmış olabilirler. Bu yerleşim her polimer zincirinde olduğu gibi, aljinatın da fiziksel yapısını ve özelliklerini doğrudan etkileyen bir parametredir [9].

2.3.3 Aljinatın çözünürlüğü

Aljinatların çözünürlüğü, çözücü ortamının pH’ı, iyonik kuvveti ve ortamdaki iyonların çeşidine göre üç parametreden etkilenir ve bu parametrelerden faydalanılarak kullanım alanı çeşitlendirilir [7].

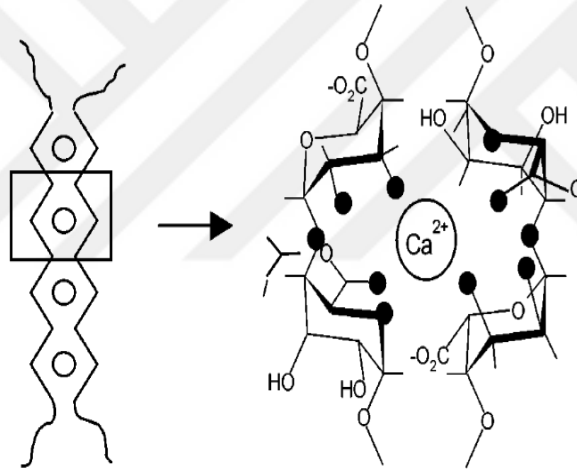
Aljinat, birlikte oluşturulduğu tuzların türüne bağlı olarak suda çözünebilir veya çözünmez olmaktadır. Buna bağlı olarak sodyum tuzları, amonyum tuzları ve diğer alkali metallerin tuzları varlığında aljinat suda çözünür ancak magnezyum katyonu

hariç diğer polivalent iyonların tuzları ile aljinat çapraz bağlandığında suda çözünmeyen jel oluşturur [10]. Suda belirli bir konsantrasyona kadar çözünür. Çözündüğünde ise derişimine bağı olarak viskoz ve sarı renkli bir çözelti oluşturur.

2.3.4 Aljinat jellerinin kimyasal yapısı ve çapraz bağlanma

Sulu bir aljinat çözeltisinden hidrojel hazırlamak için en yaygın yöntem, çözeltiyi iki değerlikli katyon çözeltileri ile karıştırarak iyonik çapraz bağlama işlemine tabi tutmaktır.

Sodyum aljinat çözeltisine iki değerlikli iyonlar içeren bir çözelti ilave edildiğinde, bu iyonlar aljinat çözeltisindeki karboksil ve hidroksil gruplarına bağlanarak “yumurta-kafes” modeli oluşturulmaktadır. Şekil 2.4’de bu model gösterilmektedir. Bu durum guluronik asit ünitelerindeki sodyum iyonlarının kalsiyum iyonlarıyla yer değıştirmesi neticesinde gerçekleşir [11].



Şekil 2.4: Yumurta-Kafes modeli [11].

Jelleşme işlemi gerçekleştirilmek için kalsiyum(II) ve baryum(II) en çok kullanılan katyonlar arasındadır. Bu katyonlar belirlenen uygun tuzlar (CaCl₂, BaCl₂) vasıtasıyla kullanılır. Kalsiyum veya baryum katyonları kullanılarak elde edilen, aljinat hidrojelleri, kontrollü ilaç salım çalışmaları, dolgu maddesi kullanımında ve adsorpsiyon çalışmaları kullanılırlar. Özellikle ilaç salınım uygulamalarında kullanılacak aljinat hidrojellerinin yapısındaki katyonların canlı organizmalarla uyumlu ve toksik etkisinin olmaması gerekmektedir [9].

Jel oluşumunu etkileyen en önemli faktör, jelleşmenin katyonların guluronik asit yapısıyla reaksiyonu sonucunda olduğu göz önüne alındığında aljinat jelinin yapısındaki guluronik asit ünitelerinin miktarı ve uzunluğudur [12].

Jelleşme hızı, jelin homojenliğini ve mukavemetini kontrol etmekte kritik bir faktördür. Jelleşme hızı yavaş olduğu zaman yapılar daha homojen olur ve daha fazla mekanik bütünlük sağlanır [13].

Jelleşmenin meydana geldiği sıcaklık ise jellerin, jelleşme hızını ve mekanik özelliklerine etki eder. Buna göre daha düşük sıcaklıklarda iyonik çapraz bağlayıcıların (örneğin Ca^{2+} katyonu) reaktivitesi düşer ve bu yüzden katyonun çapraz bağlanması yavaşlar [13].

Guluronik asit miktarının artması durumunda jel, mekanik olarak dayanıklı ve mukavemetli olarak; oluşumunu bozan maddelere ve ortam şartlarına karşı da daha dayanıklı hale gelir. Mannuronik asit içeriği arttıkça jel daha yumuşak ve elastik bir hal alır [12].

Oluşan hidrojelin gözenekliliği açısından ise yüksek guluronik asit içeren jellerin gözenek miktarı, yüksek mannuronik asit içeren jellerin gözenek miktarından daha fazladır [12].

Farklı yöntemler ile üretilen kalsiyum aljinat jellerinden film ve küre şekilleri en çok kullanılanlardır. Film daha çok yüzey kaplama amacıyla kullanılırken, salım çalışmalarında önemli bir yeri olan küreler ise adsorpsiyon çalışmalarında tercih edilir [9].

2.3.5 Aljinatın uygulamaları

Aljinatın polimerik malzeme olarak endüstriyel uygulamaları, jelleşme, çözücüleri yapısında tutabilme, şekil alabilme, adsorpsiyon yapabilme ve canlı dokularla uyum içerisinde olma yetenekleriyle bağlantılıdır.

2.3.5.1 Tekstil uygulamaları

Aljinat, kesilebilme ve inceltilmeye yatkın elastik özelliklerinden dolayı tekstil baskılarında kıvam verici olarak kullanılmakla beraber renk verimliliğini ve parlaklığını arttıran uygulamalarda da kullanılmaktadır [5].

2.3.5.2 Gıda uygulamaları

Aljinat temelli modifiye edilmiş gıdalar (soğan halkası, evcil hayvan yemi vb.) günümüzde piyasada yaygın şekilde yer almaktadır. Buna ek olarak reçel, jöle, margarin, dondurma gibi ürünlerde kıvam arttırıcı katkı maddesi olarak yaygın

olarak kullanılmaktadır. Bu uygulamalarda aljinatların diğer proteinler ve diğer polisakaritler gibi biyolojik materyallerle sinerjik etkileşimlerinde uyumlu olmaları aljinatların bu alandaki kullanımını arttırmaktadır [5].

Gıda alanında olan bir başka uygulama ise mikroorganizmaların aljinat jelleri içine hapsedilerek yüksek verimle fermantasyon işleminin yapılmasıdır. Bu duruma örnek olarak aljinat jelleri içine hapsedilen maya hücrelerinden etanol üretilmesi gösterilebilir [14].

2.3.5.3 Farmasötik ve medikal uygulamalar

Aljinat jelleri, yara sargısı, diş kalıbı çıkarma malzemesi ve reflüyü önlemeye yönelik ilaç formülasyonlarında mide gazını adsorplama ajanı olarak kullanılmaktadır [5].

Hücre kapsülleme tekniği, canlı organizma içerisindeki hücrelere üç boyutlu doku benzeri bir ortam sağlayarak; canlı, uyumlu ve işlevsel hücrelerin biyouyumlu bir yapı içerisine yerleştirilmesini amaçlar. Hücre kapsüllemesi için tasarlanan yapı, ortamdaki oksijenin, besin maddelerinin ve metabolitlerin hücre içine taşınmasını sağlayan ve aynı zamanda bu hücreleri antikorlardan ya da bağışıklık sisteminden koruyan yarı geçirgenliğe sahip olmalıdır. Bu teknik, in vivo olarak spesifik hücrelerin korunarak hedef bölgeye taşınmasını amaçlar [15].

Kalsiyum aljinat vücuda ilacın kontrollü olarak salım uygulamalarında günümüzde sıklıkla kullanılmakta ve araştırmalara konu olmaktadır. Diyabet hastalarının insülin ihtiyaçlarının oral yoldan karşılamasında karegan ile birlikte kompozit madde olarak kullanılması araştırılmıştır [16]. Aljinatın düşük pH değerlerinde büzülmesi, yüksek pH değerlerinde ise şişmesi özelliği nedeniyle, aljinat jelleri içlerine hapsedilen ilaçların asidik mide ortamında salınmadan bazik bağırsak bölgesine taşınmasında kullanılırlar [17]. Bu özellik, asidik mide ortamında bozulan protein yapılı ilaçların aljinat içinde uygun bazik (bağırsak) ortama taşınmasında ve burada salınmasında önem kazanır [18]. Aljinat jelleri kontrollü ilaç salımında tek başına kullanıldıkları gibi, diğer bazı polisakaritler veya biyopolimerlerle kompozit malzeme oluşturularak da kullanılabilir.

2.3.5.4 Çevre kirliliği uygulamaları

Doğal maddelerden elde edilen hidrojeller, sularda bulunan kirlenici toksik maddelerin adsorpsiyon yoluyla giderilmesinde adsorban olarak kullanılırlar. Aljinat jellerinin bu alanda kullanımına ait çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Örnek olarak sulardan toksik krom (VI) iyonunun [19], florür iyonunun giderilmesinde [20] ve boyar maddelerin giderilmesinde [21,22] aljinat jellerinin adsorban olarak kullanılması verilebilir.

Gerek ilaçların içlerine hapsedilerek bir ortama kontrollü olarak salınmasında, gerekse sulardan zararlı iyonların kendilerine çekilerek uzaklaştırma işlemlerinde, jellerin şişme kinetiği önemli rol oynar. Aljinat ortamın pH'ına duyarlı bir hidrojel olduğundan, farklı pH'a sahip ortamlarda şişme yüzdesi (içindeki su miktarı) değişeceğinden, aljinat içinden farklı pH'lardaki ortamlara ilacın salınma kinetiği veya dışardaki iyonların aljinata adsorpsiyon kinetiği doğrudan aljinatın şişme kinetiğine bağlı olacaktır. Bu nedenle hidrojellerin ve hidrojellerden oluşan çeşitli kompozit malzemenin şişme kinetiklerinin incelenmesi önemli bir araştırma konusudur.



3. KONTROLLÜ İLAÇ SALIM MEKANİZMALARI

Kontrollü ilaç salım olayında hidrojeller yaygın olarak kullanıldığından ve salım davranışları jelin şişme davranışı ile yakından ilgili olduğundan bu bölümde kısaca ilaç alım mekanizmalarından söz edilecektir.

Klasik ilaç şekillerinde ilacın etkinliği uzun süre sabit oranda tutulamayacağı için sık sık, örneğin 3 saat ara ile tablet alınması gerekir. Ne kadar sürede ne kadar ilaç etken maddesinin metabolize olacağı klasik ilaç şekillerinde ayarlanacak parametrelerden değildir [23].

Hastaların yaşam kalitesini arttıran bir ilaç şekli olan kontrollü salım sistemlerinde ilaç uygun taşıyıcı bir sisteme yerleştirilir ve bu taşıyıcı ile ilacın salım hızı ve süresi ayarlanabilir. Sonuç olarak ilacın etkinlik düzeyi önceden belirlenmiş süre boyunca sabit kalır ve belirlemeler temel olarak taşıyıcı sistemin yapısal özelliklerine bağlıdır [23].

Aljinat bazlı kontrollü ilaç salım sistemleri günümüzde araştırma ve geliştirme konusudur. Kontrollü salım sistemlerinden bazılarının vücutta istenilen bölgeye yönlendirebilme gibi avantajları da vardır. Yani vücudun istenilen bölgesine, organına veya hücrelerine kısacası tedavisi gerekli yere, ilacı göndermek mümkün olmaktadır [23].

Kontrollü ilaç salımlarında ilaç bir jel içine hapsedilir. İlaç etken maddeleri sistemdeki yarı geçirgen membrandan Şekil 3.1’de görüldüğü gibi difüze olarak dışarı çıkar. Membran yüzeyinin özellikleri (gözenek miktarı, genişliği) maddenin difüzyona uğrama hızını değiştirmektedir.



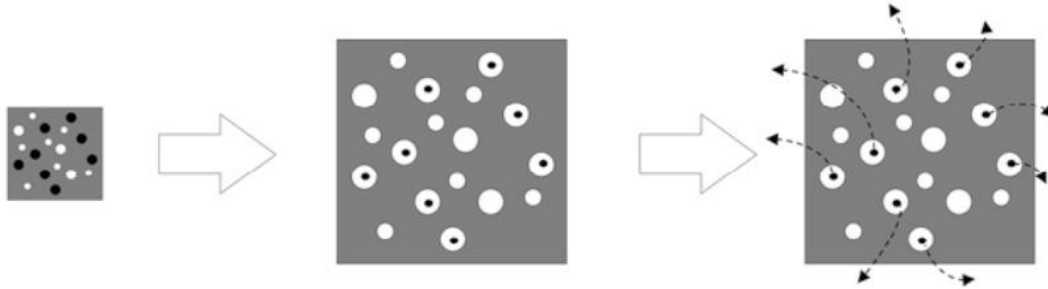
Şekil 3.1: Difüzyon kontrollü sistemlerde ilacın salınması [24].

Bazı sistemlerde jel salım ortamının varlığında Şekil 3.2’de gösterildiği şekilde bozunmaya uğrayarak parçalanır. Bozunma, salım ortamı ile salım sisteminin arasında gerçekleşen çözünme ya da reaksiyonlar neticesinde gerçekleşir [9].



Şekil 3.2: Jelin bozunarak ilacın ortama çıkması [9].

İlaç jele hapsedildikten sonra kuru jel salım ortamına verildiğinde önce Şekil 3.3’de görüldüğü gibi şişer daha sonra ilacın difüzyonu gerçekleşir.



Şekil 3.3: İlacın matris maddesinin şişmesi ve ilacın difüzyonu [24].

4. DENEYSEL ÇALIŞMA

4.1 Kullanılan Kimyasallar

Aljinik asidin sodyum tuzu ve kalsiyum klorür Sigma Aldrich'den, sodyum klorür, hidroklorik asit ve potasyum dihidrojen fosfat Merck'den satın alınmıştır.

4.2 Kullanılan Cihazlar

Deney esnasında Ohaus MB45 nem tayin cihazı, Vacucell kurutma etüvü, Sartorius saf su cihazı ve manyetik karıştırıcı kullanılmıştır.

4.2.1 Nem tayin cihazı

Ohaus MB45 halojen ısıtıcılı nem tayin cihazı, pratik olarak herhangi bir maddenin nem içeriğini belirlemek için kullanılabilir.

Cihaz termogravimetrik prensipte çalışmaktadır. Ölçümün başlangıcında nem cihazı numunenin kütlesini içerisinde bulunan hassas terazide belirler. Numune daha sonra entegre halojen kurutma ünitesi ile hızlı bir şekilde ısıtılır ve nem buharlaşır. Cihazın okunabilirlik sınırı 0.001 g, tekrarlanırlığı 0.05% olarak bildirilmiştir. Cihaz kurutma esnasında sürekli kütle kaybını tekrar eder ve sabit değere ulaştınca % nem miktarını verir. Bir ölçümün tüm parametrelerini (kurutma sıcaklığı, kuruma süresi, vb.) önceden seçmek mümkündür. Cihazın görünümü Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1: Nem tayin cihazının görüntüsü.

4.3 Kalsiyum Aljinat Küreleri İçin Yapılan İşlemler

Kalsiyum aljinat kürelerinin oluşturulup; deney için hazır hale getirmek için bir dizi işlem gereklidir. Hazır hale getirilen küreler ise istenen özellikteki çözetilerde şişirilmişlerdir.

4.3.1 Kalsiyum aljinat kürelerinin hazırlanması

Aljinik asidin sodyum tuzu deiyonize suda %1 (w/v) oranında olmak üzere manyetik karıştırıcıda yaklaşık 1 saat karıştırılarak çözüldü. Hazırlanan %1 aljinat çözeltisi enjektör yardımıyla %3 (w/v) oranında CaCl_2 çözeltisine damlatılarak eklendi ve küreler oluşturuldu.

Küreler kalsiyum klorür çözeltisinde 5 dakika bekletildikten sonra süzgeç kâğıdıyla süzüldü. Küreler süzildükten sonra deiyonize su ile iyice yıkandı. Ardından küreler 50°C 'deki kurutma etüvüne aralıklı ve birbiri üstüne gelmeyecek biçimde yerleştirilerek, kurumaları sağlandı.

Deney esnasında süzildükten hemen sonra saf suyla yıkanıp temizlenmediği takdirde şekil bozukluklarına maruz kalabilecek olan kürelerin, deneyin daha sonraki aşaması olan şişme oranlarındaki ölçümlerinde dengesizlikler gözlemlendi.

Oluşturulan küreler süzgeç kâğıdından süzüldü ve deiyonize su ile iyice yıkandı. Ardından küreler 50°C 'deki kurutma etüvüne aralıklı ve birbiri üstüne gelmeyecek biçimde yerleştirilerek, kurumaları sağlandı.

Deney esnasında süzildükten hemen sonra saf suyla yıkanıp temizlenmediği takdirde şekil bozukluklarına maruz kalabilecek olan kürelerin, deneyin daha sonraki aşaması olan şişme oranlarındaki ölçümlerinde dengesizlikler gözlemlendi.

4.3.2 Kürelerin şişirilmesinde kullanılan çözeltiler

Kurutulmuş olan kürelerin şişirilmesinde dört farklı çözelti kullanılmıştır. Bunlar deiyonizesu, izotonik NaCl, SGF ve SIF çözeltileridir.

4.3.2.1 İzotonik NaCl çözeltisinin hazırlanması

9 g NaCl tartıldı, çözüldü ve 1000 mL balon jodede deiyonize su ile tamamlanarak hazırlandı.

4.3.2.2 SGF (yapay mide sıvısı) çözeltisinin hazırlanması

2 g NaCl tartıldı. Bir miktar deiyonize su ile çözüldükten sonra 7 mL %37 HCl çözeltisi eklendi. Ardından hacmi 1000 mL'ye deiyonize su ile tamamlanarak karıştırıldı. pH değerinin 1,2 olup olmadığına dikkat edildi.

4.3.2.3. SIF (yapay bağırsak sıvısı) çözeltisinin hazırlanması

6,8 g potasyum dihidrojen fosfat tartıldı. 250 mL deiyonize su ile çözüldükten sonra çözeltiye 77 mL 0,2 mol/L NaOH çözeltisi ve ardından 300 mL deiyonize su eklenip karıştırıldı. pH değeri 6,8'e 0,2 mol/L NaOH ya da 0,2 mol/L HCl ile ayarlandı. Hacim 1000 ml'ye deiyonize su ile tamamlanarak karıştırıldı.

4.3.3 Kurutulmuş kalsiyum aljinat kürelerinin şişirilmesi

Kurutulmuş olan küreler belirli zaman dilimlerinde deiyonize su, %0,9 (w/v) NaCl, SGF ve SIF ortamlarında olmak üzere 200 rpm'de çalkalayıcıda karıştırıldı.

4.3.4 Şişirilen kürelerin şişme oranlarının ölçülmesi

Çalkalayıcıdan alınan küreler hızlı şekilde süzgeç kâğıdından süzüldü. Kürelerin yüzeyinde kalan çözelti peçeteye hafifçe temas ettirilerek alındı. Ardından şişirilmiş olan küreler nem ölçüm cihazının numune haznesine yerleştirildikten sonra kurutma işlemi başlatıldı. Şişirilmiş olan taneleri numune haznesine konulup; analiz başlatıldığında cihaz ilk tartımı ve kayıt sabit kütleye ulaştığında son tartımı kayıt eder. Deney sonunda ise şişme yüzesi cihazda belirlenmiş olur.

Kürelerin zamana göre dinamik kütle değişimi aşağıdaki formüle dayanmaktadır.

$$\text{Şişme yüzdesi (\%)} = \frac{W_i - W_s}{W_s} \times 100 \quad (4.1)$$

Burada W_i tanelerin şişirilmiş tanelerin olan ilk ağırlığıdır. W_s ise şişirilen tanelerin kurutulması sonucunda elde edilen tanelerin ağırlığıdır.

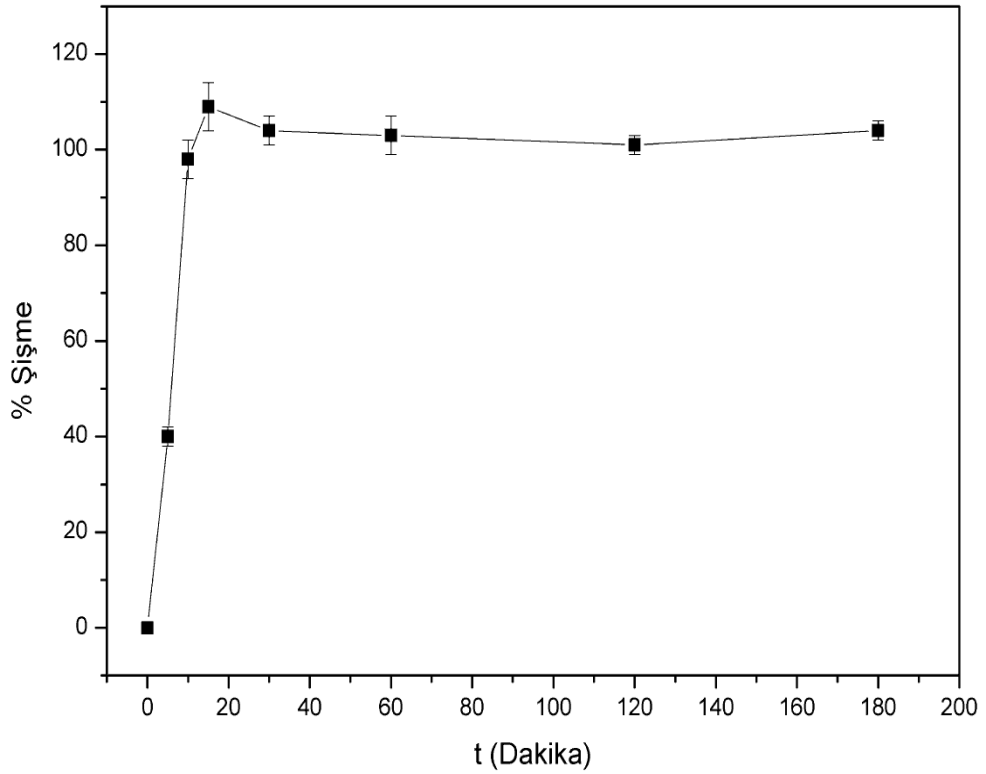


5. SONUÇLAR

Deiyonize su içerisinde meydana gelen şişmeye ait sonuçlar Çizelge 5.1 ve Şekil 5.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.1: Deiyonize su ile yüzde şişme verileri.

Zaman (dakika)	% Şişme	% RSD
5	40	2
10	98	4
15	109	5
30	104	3
60	103	4
120	101	2
180	104	2

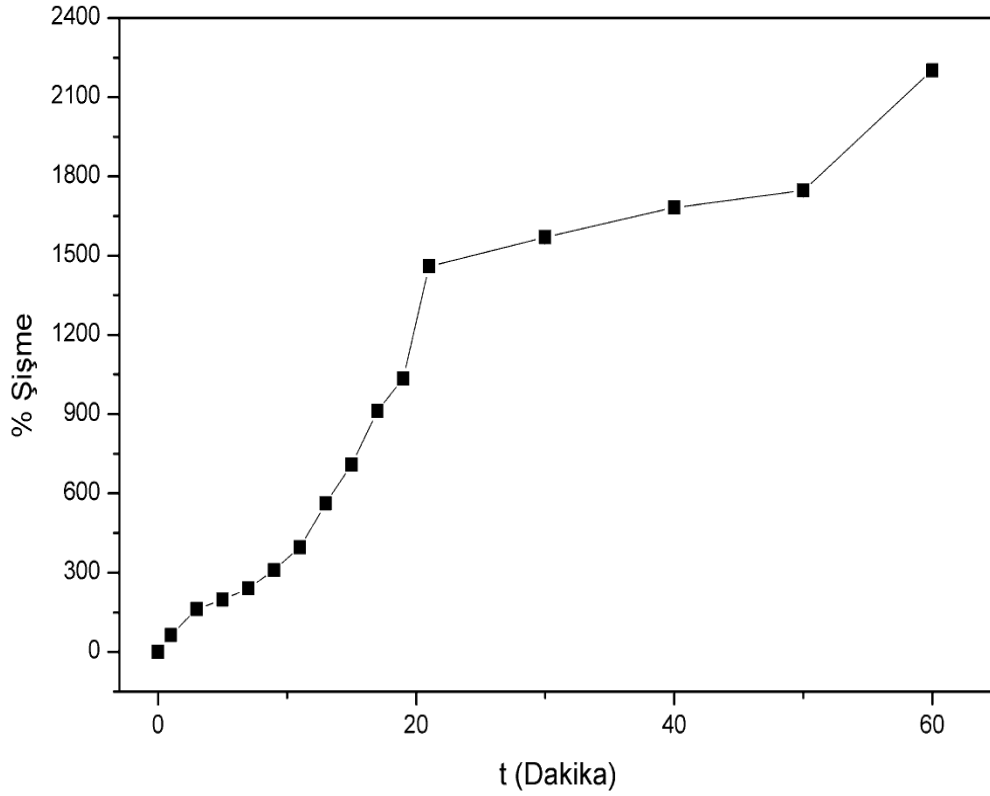


Şekil 5.1: Deiyonize su ile yüzde şişme.

İzotonik NaCl çözeltisindeki içindeki şişmeye ait sonuçlar Çizelge 5.2 ve Şekil 5.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.2: İzotonik NaCl ile yüzde şişme verileri.

Zaman (dakika)	% Şişme	%RSD
1	64	1
3	163	0
5	191	3
7	241	2
9	312	3
11	396	3
13	541	3
15	710	2
17	898	4
19	1035	0
21	1460	1
30	1570	6
40	1682	0
50	1747	1
60	2201	4

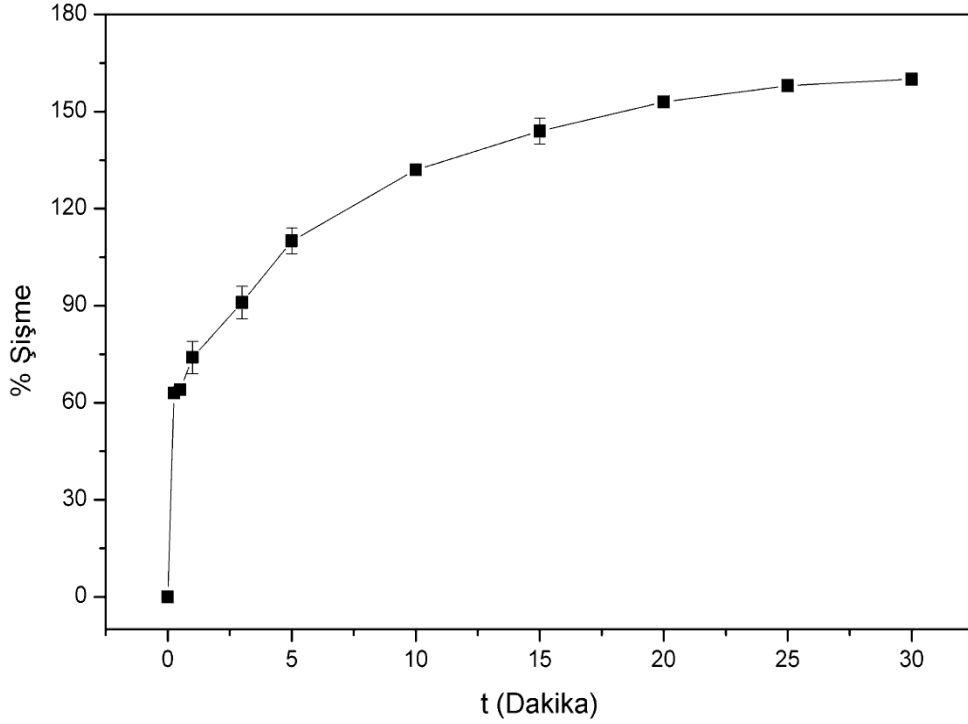


Şekil 5.2: İzotonik NaCl ile yüzde şişme.

SGF çözeltisindeki içindeki şişmeye ait sonuçlar Çizelge 5.3 ve Şekil 5.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.3: SGF çözeltisi ile yüzde şişme verileri.

Zaman (dakika)	% Şişme	%RSD
1/4	63	0
½	64	0
1	74	5
3	91	5
5	110	4
10	132	0
15	144	3
20	153	0
25	158	1
30	160	1

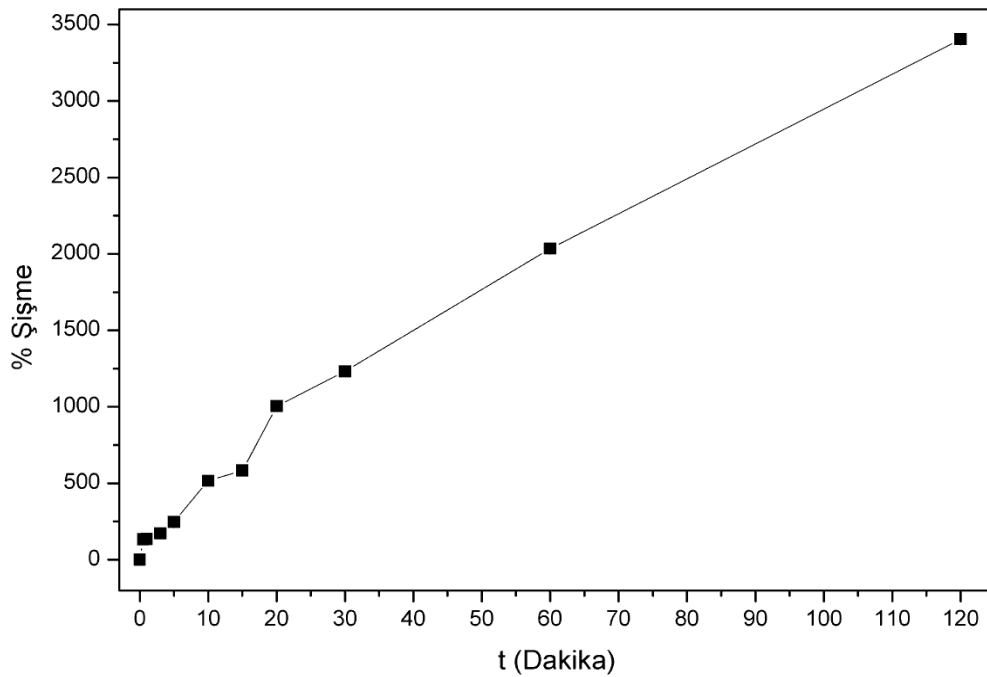


Şekil 5.3: SGF çözeltisi ile yüzde şişme.

SIF çözeltisindeki içindeki şişmeye ait sonuçlar Çizelge 5.4 ve Şekil 5.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.4: SIF çözeltisi ile yüzde şişme verileri.

Zaman (dakika)	% Şişme	%RSD
½	134	0
1	135	0
3	172	0
5	247	1
10	517	2
15	583	3
20	1004	0
30	1232	5
60	2035	1
120	3404	1

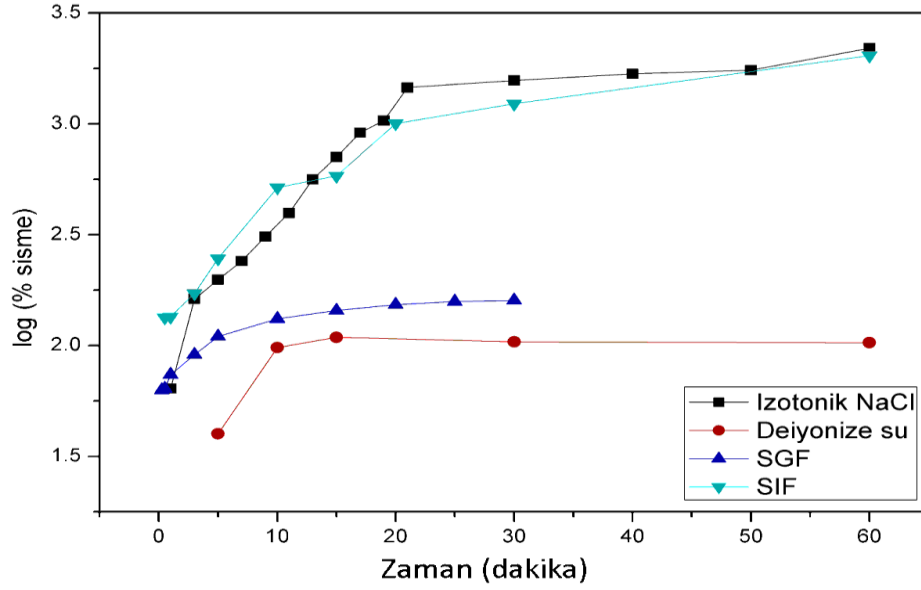


Şekil 5.4: SIF çözeltisi ile yüzde şişme.

Şişme yüzdeleri karşılaştırıldığında SIF, izotonik NaCl, SGF ve saf su sıralamasını izlediği görülmektedir.

Çapraz bağlı aljinat matrisinin hidrojel karakteri, çapraz bağlayıcıya, aljinat türüne, derişimine ve şişme ortamının özelliklerine bağlıdır [25, 26]. Bu özelliklerden farklı ve daha önemli olan şişme ortamının (çözeltinin) özellikleri daha belirleyici olmaktadır [26]. Aljinat jellerinin şişme karakteri ortamın pH ve iyonik şiddetinden önemli ölçüde etkilenir [27].

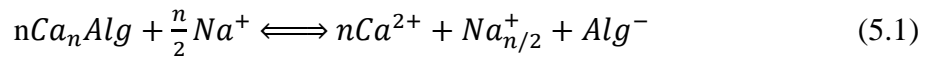
Şekil 5.5’de ise kürelerin dört farklı ortamdaki şişme davranışı birlikte gösterilmektedir.



Şekil 5.5: Şişme davranışlarının toplu gösterimi.

Şekil 5.1 (saf su için olan) incelendiğinde ilk 20 dakika içinde şişmenin %110 oranına çıktığı ve 20 dakika sonunda dengeye ulaşılarak daha fazla şişme olmadığı gözlenmektedir. Küreler ölçüm sonuna kadar yapısal bütünlüğünü korumuştur.

Şekil 5.2 (izotonik NaCl için olan) incelendiğinde üç farklı davranış göze çarpmaktadır. 0-9. dakikalar arası şişme oranında artıştan sonra bir kıvrılma noktası, daha sonra 20. dakikaya kadar artış, 20. dakikada ikinci bir kıvrılma noktası ve yavaşlayan doğrusal bir artış görülmektedir. Burada şişmeye üç farklı etki söz konusu olabilir. İlk aşamada su molekülleri aljinat zincirinin hidrofilik grupları ile etkileşmekte; ikinci aşamada ise kalsiyum iyonlarının sodyum iyonları ile yer değiştirerek aşağıdaki denklemden görüleceği üzere göre serbest hale geçmesi söz konusu olmaktadır.



Çapraz bağlanmayı sağlayan kalsiyum iyonlarının bir kısmı ağ yapısından ayrılırken ağdaki iyonik yapı artacak bu durum da su moleküllerinin hidrofilik gruplara bağlanmasını ve şişme oranının artmasını sağlayacaktır. Ayrıca ayrılan $2+$ yüklü kalsiyum iyonları aljinat kürelerinin içindeki iyonik kuvveti arttıracığından, ozmotik basıncın etkisiyle dışarıdan daha çok su molekülü içeri girmekte ve şişme artmaktadır. Bölüm 2.2.1'de açıklandığı gibi ozmotik basınçla kürelerin içine giren serbest su, sonunda kürelerin dağılmasına neden olmaktadır. Deney süresinin

sonlarında jel yapısının bütünlüğünü yitirdiği gözlenmiştir.

Şekil 5.3'deki SGF ortamında, saf suya benzer şekilde kısa sürede, yarım saatte %160 maksimum şişme oranına ulaşmıştır.

Şekil 5.4'deki yapay bağırsak sıvısında, izotonik NaCl çözeltisine benzer davranış gözlenmektedir. İzotonik çözeltideki klorür iyonlarına karşılık, SIF çözeltisindeki fosfat iyonlarının da kalsiyuma ilgisinin olması bu ortamda çapraz bağlanmanın daha etkin bozulması ve şişmenin ilk 10 dakikasında izotonik sıvıda olduğundan daha fazla şişme olmasının nedeni olabilmektedir. Bu ortamda da aljinat küreleri, serbest suyun artması nedeniyle deney sonunda bozulmuştur. Ancak bozulmanın NaCl ortamında, SIF e göre daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Şekil 5.5'de yer alan grafikte kürelerin dört farklı ortamdaki şişme davranışı birlikte gösterilmektedir. Şişme oranları birbirinden çok farklı olduğu için, grafik logaritmik skalada çizilmiştir. İzotonik NaCl ve SIF içerisinde meydana gelen şişme oranlarının, saf suda ve asidik SGF çözeltisinde gerçekleşenden yüksek olduğu açıkça görülmektedir.

Aljinat kürelerinin şişme oranını, şişme ortamının iyonik kuvvetinin ve pH değerinin etkilediği bu çalışmada görülmektedir. Saf su ve izotonik NaCl çözeltilerinin pH'ları aynıdır. Saf suda su molekülleri hidrofilik yapıya bağlanana kadar şişme devam etmiş ve 20 dakika kadar kısa sürede dengeye ulaşılmıştır. Buna karşılık iyonik kuvveti yaklaşık 0.15 olan izotonik NaCl çözeltisinde Na^+ iyonlarının varlığı şişmeyi yukarıda açıklanan nedenlerle önemli ölçüde arttırmış su ile şişmede %109 oranında ve 15 dakikada dengeye ulaşılırken; izotonik çözeltide 15 dakikada %710 şişme gözlenmiş ve 50 dakika sonunda ise bu oran %1747'ye ulaştığında küreler parçalanmaya başlamıştır. Yapay bağırsak sıvısında da izotonik çözücü ile benzer davranış gözlenmiştir. Bu ortamın da pH'ı saf su ve izotonik çözeltiliye yakın, iyonik kuvveti de izotonik sıvıya yakındır.

Yapay mide sıvısının, izotonik NaCl çözeltisinin ve yapay bağırsak sıvısının iyonik kuvvetleri birbirine çok yakındır. Aljinat kürelerinin yapay bağırsak sıvısı ile izotonik NaCl çözeltisindeki birbirine benzer şişme davranışlarını, su içindeki şişme davranışından ayıran temel etken çözeltilerin iyonik kuvvetleri olduğu görülmüştür. Yapay mide sıvısının iyonik kuvveti, izotonik NaCl ve yapay bağırsak sıvısı ile benzer olmasına rağmen, mide sıvısındaki kürelerin şişmesi saf su içindeki şişmeye

yakın olduğu gözlenir. Burada şişmeyi etkileyen faktör pH değeri olmaktadır. Hem su hem SGF içinde çok kısa sürede dengeye ulaşmakta ve şişme oranında SGF ortamında suya göre sadece hafif bir artış görülmektedir. 30 dakika içinde sudaki şişme oranı %104'e ulaşırken, SGF' de ise %160 olmaktadır. Her iki ortamdaki şişme oranı SIF ve izotonik NaCl'deki 30 dakikadaki şişme oranına göre (%1200-1500) son derece küçük olduğu görülmektedir. SGF'de de önce su molekülleri hidrofilik gruplara bağlanmakta daha sonra sodyum iyonları kalsiyum ile yer değiştirmekte ancak burada ortamın pH'ı (1.2), aljinatın pKa (4.5) değerinin çok altında olduğundan ayrılan kalsiyumların yerine hidrojen iyonları bağlanmakta ve karboksil gruplarının negatif yüklenmesi engellenmektedir. Polar grupların azalması su ile şişmeyi yavaşlatmaktadır.





6. GENEL DEĞERLENDİRME

Çalışmada dört farklı ortamda kalsiyum aljinat hidrojel kürelerinin şişme oranları incelenmiştir. Deney tekniği olarak şişirilmiş kürelerin içindeki suyu uzaklaştırırken aynı anda tartım alan nem tayin cihazı ile çalışılarak yeni bir deneysel yöntem denenmiştir. Yöntemin tekrarlanırlığı yüksek ve çalışma süresi klasik gravimetrik yöntemle göre daha kısadır. Kürelerin şişirildiği dört ortam da ilaç salım çalışmalarında kullanılan ortamlar olduğundan, kürelerin bu ortamdaki davranışları ilaç salım kinetiği hakkında da ön bilgi verecek niteliktedir. Deney sonuçları hidrofilik hidrojinin şişme oranlarının, ortamın iyonik kuvveti ve pH değerinden etkilendiğini açık olarak göstermiştir.



KAYNAKLAR

- [1] **Tırnaksız F.**, 2009, “Difüzyon”, Modern Farmasötik Teknoloji, TEB Eczacılık Akademisi Yayını, s.114.
- [2] **Thomas S., Durand D., Chassenieux C., and Jyotishkumar P.**, 2013, “Handbook of Biopolymer-Based Materials”, Wiley-VCH, (Vol. 1, pp.1). Retrieved from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527652457>.
- [3] **Aydın S.**, 2008, “Biyopolimer/Kil Nanokompozitlerinin Üretimi ve Karakterizasyonu”, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Teknik Üniversitesi, 12.
- [4] **Hoffman A.S.**, 2012, “Hydrogels for biomedical applications”, Advanced Drug Delivery Reviews, **64**, pp. 18–23.
- [5] **Rehm B. H. A.**, 2009, “Alginates: Biology and Applications” (1st Ed., Vol.13, pp.2-3), Springer.
- [6] **Kodalak N.**, 2008, “Sinop Kıyılarındaki “*Cystoseira Barbata*” Deniz Yosunundan Alginat Üretimi Üzerine Bir Araştırma”, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2.
- [7] **Uyar G.**, 2012, “A Low-Cost Adsorbent For Dye Removal: Methylene Blue Removal By Alginate-Montmorillonite Hybride Beads”, MsC Thesis, Istanbul Technical University, Graduate School Of Science Engineering and Technology, Istanbul, 5-6.
- [8] **Mahmood J. S., Siddique A.**, 2010, “Ionic Studies Of Sodium Alginate Isolated From *Sargassum Terrarium* (Brown Algae) Karachi Coast With 2,1-Electrolyte”, Journal of Saudi Chemical Society, **14(1)**, 118., doi: 10.1016/j.jscs.2009.12.018.
- [9] **Kaygusuz H.**, 2011, “Biyopolimer– Kil Nanokompozitlerinden Kontrollü Protein Salımı”, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 11-13.
- [10] **Ciofani G., Raffa V., Menciassi A., Micera S., Dario P.**, 2007, “A Drug Delivery System Based On Alginate Microspheres: Mass-Transport Test And *In Vitro* Validation”, Biomed Microdevices, **9(3)**, 396., doi:10.1007/s10544-006-9044-0.
- [11] **Braccini I. and Perez S.**, 2001, “Molecular Basis of Ca²⁺ - Induced Gelation in Alginates and Pectins: The Egg-Box Model Revisited”, Biomacromolecules, American Chemical Society, **2(4)**, 1090., doi:10.1021/ bm010008g.
- [12] **Güvenç U. ve Göksungur Y.**, 2002, “Kalsiyum Aljinatta Hücre İmmobilizasyonu ve Biyoteknolojide Uygulamaları”, GIDA Dergisi, **27(6)**, 512. [13] **Lee Y. K. and Mooney D. J.**, 2012,

“Alginate: Properties and Biomedical Applications”, Progress in Polymer Science, Elsevier, **37(1)**, 110., doi:10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003.

- [14] **Mohd Azhar S.H., Abdulla R., Jambo S. A., Marbawi H., Gansau J. A., Faik Mohd A. A., Rodrigues K. F.**, 2017, “Yeasts in Sustainable Bioethanol Production: A Review”, Biochemistry and Biophysics Reports, Elsevier, **10**, 52-61., doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.03.003>.
- [15] **Sarker B., Boccaccini A.R.**, 2017, “Alginate Utilization in Tissue Engineering and Cell Therapy”, Alginates and Their Biomedical Applications, Springer, (Vol.11, pp.121-155). Retrieved from: https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-981-10-6910-9_5.
- [16] **Lim H.P., Ooi C.W., Tey B.T., Chan E.S.**, 2017, “Controlled Delivery Of Oral Insulin Aspart Using pH-Responsive Alginate/K-Carrageenan Composite Hydrogel Beads”, Reactive and Functional Polymers, Elsevier, **120**, 20-29., doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2017.08.015>.
- [17] **Aguero L., Zaldivar-Silva D., Pena L., M. L. Dias**, 2017, “Alginate Microparticles As Oral Colon Drug Delivery Device: A Review”, Carbohydrate Polymers, Elsevier, **168**, 32-43., doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.033>. [18] **Lee C. M., Jeong Jeong H.**, 2008, “Alginate/Carboxymethyl Scleroglucan Hydrogels for Controlled Release of Protein Drugs”, Macromolecular Research, The Polymer Society of Korea, **16**, 429-433., doi: <https://doi.org/10.1007/BF03218541>.
- [19] **Uzaşçı S., Tezcan F., Erim F. B.**, 2014, “Removal of hexavalent chromium from aqueous solution by barium ion cross-linked alginate beads”, International Journal Of Environmental Science And Technology, **11** (7), 1861-1868., doi: <https://doi.org/10.1007/s13762-013-0377-y>.
- [20] **Kaygusuz H., Uzaşçı S., Erim F. B.**, 2015, Removal of Fluoride from Aqueous Solution Using Aluminum Alginate Beads, Clean-Soil Air Water, **43**(5), 724-730., doi: <https://doi.org/10.1002/clen.201300632>.
- [21] **Uyar G., Kaygusuz H., Erim F. B.**, 2016, Methylene Blue Removal By Alginate-Clay Quasi-Cryogel Beads, Reactive & Functional Polymers, **106**, 1-7., doi: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2016.07.001>.
- [22] **Gizem B., Evridiki P., Kahya N., Kaygusuz H., Erim F. B.**, 2018, Graphene Oxide/Alginate Quasi-Cryogels for Removal of Methylene Blue, Water Air And Soil Pollution, 229 (4):131., doi: 10.1007/s11270-018-3790-5.
- [23] **Gürsoy A.**, 1999, **TEB Haberler**, İlaçta Yeni Arayışlar: Kontrollü Salım Sistemleri, TEB Yayınları, Ocak-Şubat, 22-23.
- [24] **E. Holowka, S. Bhatia**, 2014, **Drug Delivery (First Edition)**, Materials Design and Clinical Perspective, Springer, **1**, s.7-11.

- [25] **Evingür G.A., Kaygusuz H., Erim F.B., Pekcan Ö.**, 2014, “Effect of Calcium Ion Concentration on Small Molecule Desorption from Alginate Beads”, *Journal of Macromolecular Science, Part B*, 53(7), s.1157-1167., doi: 10.1080/00222348.2014.895625.
- [26] - **Kaygusuz H., Uysal M., Adımcılar V., Erim F.B.**, 2015, “Natural Alginate Biopolymer Montmorillonite Clay Composites for Vitamin B₂ Delivery”, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 30(1), s.48-56., doi: 10.1177/0883911514557014.
- [27] – **Kaygusuz H., Erim F.B.**, 2013, “Alginate/BSA/Montmorillonite Composites With Enhanced Protein Entrapment And Controlled Release Efficiency”, *Reactive and Functional Polymers*, 73(11), s.1420-1425., doi: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2013.07.014>.





ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad : Orhun CELEN
Doğum Yeri ve Tarihi : Kadıköy, 11.04.1992
E-posta : orhun.celen@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- Lisans: 2010, Sakarya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

MESLEKİ DENEYİM:

- 2014 yılından bu yana BERKO İlaç bünyesinde analist olarak görev yapmaktadır.