



**T.C.
YALOVA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**POLİMER MALZEME MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
POLİMER MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI**

**DÜŞÜK VE ORTA MOLEKÜL AĞIRLIKLİ KİTOSAN ESASLI
HİDROJELLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
BİYOBÖZÜNÜRLÜK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HANİFE SONGÜL KAÇOĞLU

**DANIŞMAN: DR. ÖĞR. ÜYESİ MİTHAT ÇELEBİ
ORTAK DANIŞMAN: ÖĞR. GÖR. DR. ÖZGÜR CEYLAN**

**YALOVA
AĞUSTOS 2022**



T.C.
YALOVA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

POLİMER MALZEME MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
POLİMER MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI

DÜŞÜK VE ORTA MOLEKÜL AĞIRLIKLI KİTOSAN ESASLI
HİDROJELLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOBOZUNURLUK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HANİFE SONGÜL KAÇOĞLU
195101021

DANIŞMAN: DR. ÖĞR. ÜYESİ MİTHAT ÇELEBİ
ORTAK DANIŞMAN: ÖĞR. GÖR. DR. ÖZGÜR CEYLAN

YALOVA
AĞUSTOS 2022

ETİK BEYAN

Yalova Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım “DÜŞÜK VE ORTA MOLEKÜL AĞIRLIKLİ KİTOSAN ESASLI HİDROJELLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOBOZUNURLUK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ” başlıklı bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksinin tespiti halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Hanife Songül KAÇOĞLU

Babam'a,

*Bizleri yetiştirirken döktüğün terin her damlası
cennette sana ırmak olsun..*



ÖNSÖZ

Yalova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğüne (Proje No: 2020/YL/0025), bu çalışmaya sundukları finansal destek için teşekkürü bir borç bilirim.

Bu yüksek lisans çalışmasının fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar geçen tüm sürecinde gerek bilgi ve tecrübesi gerek sunduğu bütün laboratuvar imkanlarıyla yardımlarını esirgemeyen, anlayışı ve sabrıyla bana rehberlik eden kıymetli hocam Sn. Mithat ÇELEBİ'ye en samimi duygularıyla hürmet ve teşekkürü bir borç bilirim.

Karşılaştığım tüm zorluklarda sunduğu fikirler ve yaptığı değerlendirmelerle yönümü aydınlatan, aynı ıstıyakla yola devam edebilmemi sağlayan kıymetli hocam Sn. Özgür CEYLAN'a en samimi duygularıyla hürmet ve teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm laboratuvar ekipmanlarını çalışmalarım için seferber eden, sundukları kıymetli fikirlerin yanı sıra tanımaktan büyük onur ve manevî destekleri için şükran duyduğum çok değerli hocalarım Sn. Alper & Emine KAŞGÖZ'e en samimi duygularıyla hürmet ve teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarına sunduğu katkıların yanı sıra varlığı ile vaktimi güzelleştiren, aynı çalışma ortamını paylaşmaktan mutluluk duyduğum kıymetli dostum ve meslektaşım Gökçe KURT YILMAZ'a ve aynı yolun yolcusu olup birbirimize motivasyon kaynağı olduğumuz kıymetli dostlarım Yağmur ALTUN CAN'a ve Eda SELAM ERTÜRK'e en samimi duygularıyla teşekkür ediyorum.

Mesafelerin engel koyamadığı gönüllerimizin bir olduğu değerli dostlarım Sıdıka Eylül GÖREN'e, Hande AKGEYİK'e ve Tuba FIRAT'a bu zorlu süreçte yaşantıma sundukları manevî katkılardan dolayı en samimi duygularıyla teşekkür ediyorum.

Ve hakları teşekkür ederek ödenmeyecek, bu çalışmada ve hayatımın her aşamasında sabır ve fedakarlıklarıyla benden daha fazla emek sarf eden, yükümü hafifleten, destekleri ve dualarıyla yoluma ışık tutan sevgili aileme saygı ve minnetle...

Ağustos - 2022

Hanife Songül KAÇOĞLU



İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	i
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
TABLolar LİSTESİ	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvii
ÖZET.....	xxi
ABSTRACT.....	xxiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tez Çalışmasının Amacı	1
2. KİTOSAN	3
2.1. Kitosanın Karakteristik Özelliklerine Etki Eden Parametreler	4
2.1.1. Deasetilasyon derecesi (DD) etkisi.....	5
2.1.2. N-asetilasyon derecesi (DA) etkisi	6
2.1.3. Molekül ağırlığının etkisi	7
2.1.4. Çözünürlük etkisi.....	8
2.1.5. Viskozitenin etkisi	9
2.1.6. Kullanılan kitin ve kitosan kaynağının etkisi	10
2.1.7. pH etkisi.....	10
2.1.8. Renk etkisi	11
2.2. Kitosanın Üretiminde Kullanılan Yöntemler ve Üretim Süreci	11
2.3. Kitosanın Uygulama Alanları.....	14
2.4. Pazar Payı ve Sektörel Durumu.....	15
3. HİDROJELLER	19
3.1. Hidrojellere Genel Bakış	19
3.2. Hidrojellerin Sınıflandırılması	21
3.2.1. Hazırlanma yöntemine göre.....	22
3.2.2. İçerdikleri yan gruplara göre	23
3.2.3. Fiziksel yapılarına göre	23
3.2.4. Çapraz bağlanma durumlarına göre.....	24
3.2.5. Kaynaklarına göre.....	25
3.2.6. Su içeriklerine göre.....	27
3.2.7. Kimyasal kararlılıklarına göre	27



3.3. Hidrojellerin Sentezi.....	28
3.4. Hidrojellerin Şişme Davranışları.....	29
3.4.1. Hidrojellerin şişmesini etkileyen faktörler	30
3.4.2. Hidrojellerin şişme kinetiği ve difüzyon mekanizması	33
3.5. Hidrojellerin Kullanım Yerleri.....	35
4. KİTOSAN HİDROJELLER	39
4.1. Kitosan Esaslı Hidrojellerin Hazırlanması	39
4.1.1. Kimyasal çapraz bağlı kitosan hidrojeller	40
4.1.2. Fiziksel çapraz bağlı kitosan hidrojeller	43
4.1.3. Çift çapraz bağlı hidrojeller (hem iyonik hem kovalent).....	46
4.2. Çapraz Bağlayıcılar	48
4.3. Çapraz Bağlayıcı Seçimi	49
4.4. Gluteraldehit.....	50
4.5. Kitosanın Gluteraldehit ile Çapraz Bağlanma Mekanizması	51
5. MATERYAL VE METOD	53
5.1. Deneysel Çalışmada Yararlanılan Kimyasal Maddeler ve Kullanım Amaçları	53
5.2. Deneysel Kısım	57
5.2.1. Viskozite tayini.....	57
5.2.2. Çözünürlük	57
5.2.3. Kitosan esaslı hidrojellerin sentezi	58
5.2.4. Sol miktarının belirlenmesi.....	59
5.2.5. FTIR.....	59
5.2.6. Optik mikroskop	60
5.2.7. SEM	60
5.2.8. Kitosan hidrojellerin şişme değerlerinin belirlenmesi.....	60
5.2.9. Hidrojellerin tekrar kullanım sayısının şişme performansına etkisi	61
5.2.10. DSC	62
5.2.11. TGA	62
5.2.12. Mekanik dayanım testi.....	62
5.2.13. <i>In vitro</i> bozunma.....	63
6. BULGULAR VE TARTIŞMA	65
6.1. Viskozite Tayini	65
6.2. Çözünürlük	66
6.3. Gluteraldehit ile Çapraz Bağlanan Kitosan Hidrojeller	67

6.4. Sol Miktarının Belirlenmesi	69
6.5. Kitosan Hidrojellerin FTIR Analizi	70
6.6. Optik Mikroskop	72
6.7. Kitosan Hidrojellerin SEM Analizi	75
6.8. Kitosan Hidrojellerin Şişme Değerlerinin Belirlenmesi	78
6.9. Hidrojellerin Şişme Kinetik Mekanizmalarının Belirlenmesi.....	90
6.10. Hidrojellerin Tekrar Kullanım Sayısının Şişme Performansına Etkisi	93
6.11. Kitosan Hidrojellerin DSC Analizi	95
6.12. Kitosan Hidrojellerin TGA Analizi	97
6.13. Mekanik Dayanım Testleri	99
6.14. <i>In Vitro</i> Bozunma	101
7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	105
KAYNAKLAR	107
ÖZGEÇMİŞ	129



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

SİMGELER

G	: Elastik Modül (Pa)
q_v	: Hacimce Şişme Oranı
q_w	: Ağırlıkça Şişme Oranı
μm	: Mikrometre
η	: Viskozite
λ	: Hidrojinin Deformasyon Oranı
π	: Deforme Olmamış Hidrojinin Birim Alanına Uygulanan Kuvvet
ΔL	: Sıkıştırma Miktarı
V	: Çözelti hacmi (mL)
Q	: Şişme Oranı

KISALTMALAR

AAc	: Asetik Asit
CS	: Kitosan
DA	: N-Asetilasyon Derecesi
DD	: Deasetilasyon Derecesi
DM	: Deminerilizasyon
DM_w	: Düşük Moleküler Ağırlık
DP	: Deproteinizasyon
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
DSİ	: Denge Anındaki Su İçeriği
DTG	: Diferansiyel Termogravimetrik Analiz
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
GA	: Gluteraldehit
GPC	: Jel Geçirgenlik Kromatografisi
HCl	: Hidroklorik Asit
IPN	: İç İç Geçmiş Ağ Yapı
LS	: Işık Saçılma Spektroskopisi
M_v	: Viskozite Ortalama Molekül Ağırlığı
M_w	: Molekül Ağırlığı
NaOH	: Sodyum Hidroksit
OM_w	: Orta Moleküler Ağırlık
PDI	: Polidispersite İndeksi
SEC	: Büyüklükçe Ayırma Kromatografisi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	: Termogravimetrik Analiz



TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1. Deasetilasyon / N-asetilasyon derecesi ve molekül ağırlığının kitosanın özellikleri üzerindeki etkisi	8
Tablo 2.2. Kitosanın uygulama alanları ve kullanımları.....	14
Tablo 2.2. (Devam) Kitosanın uygulama alanları ve kullanımları.....	15
Tablo 3.1. Polimerik hidrojellerin sınıflandırılması.....	21
Tablo 3.2. Hidrojel sentezinde yaygın kullanılan doğal polimerler.....	26
Tablo 3.3. Hidrojel sentezinde yaygın kullanılan sentetik polimerler	26
Tablo 3.4. Hidrojel sentezinde yaygın kullanılan doğal ve sentetik polimerlerin kombinasyonu	26
Tablo 3.5. Su içeriklerine göre hidrojeller	27
Tablo 3.6. Difüzyon üsteli (n) ile difüzyon mekanizmasının ilişkisi	34
Tablo 4.1. Kimyasal çapraz bağlı kitosan hidrojel uygulamalarına örnekler	41
Tablo 4.1. (Devam) Kimyasal çapraz bağlı kitosan hidrojel uygulamalarına örnekler.....	42
Tablo 4.2. Fiziksel çapraz bağlı kitosan hidrojel uygulamalarına örnekler	45
Tablo 4.2. (Devam) Fiziksel çapraz bağlı kitosan hidrojel uygulamalarına örnekler.....	46
Tablo 5.1. Deneysel çalışmada yararlanılan kimyasallar ve kullanım amaçları	53
Tablo 5.1. (Devam) Deneysel çalışmada yararlanılan kimyasallar ve kullanım amaçları	54
Tablo 5.1. (Devam) Deneysel çalışmada yararlanılan kimyasallar ve kullanım amaçları	55
Tablo 5.1. (Devam) Deneysel çalışmada yararlanılan kimyasallar ve kullanım amaçları	56
Tablo 5.2. Tampon çözeltileri hazırlamada kullanılan kimyasallar ve oranları.....	61
Tablo 6.1. Viskozite değerleri	65
Tablo 6.2. Çözünürlük değerleri	66
Tablo 6.3. GA ile çapraz bağlanan kitosan hidrojellerin (destile su, pH 2,0 ve pH 7,4) şişme değerlerinin karşılaştırılması.....	89
Tablo 6.4. GA ile çapraz bağlanan kitosan hidrojellerin (destile su, pH 2,0 ve pH 7,4) difüzyon parametreleri	92
Tablo 6.5. GA ile çapraz bağlanan kitosan hidrojellere ait TGA analiz sonuçları	99
Tablo 6.6. DM _w ve OM _w hidrojellerin basma modülü değerleri	101



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Kitinin deasetilasyonu sonucu kitosanın eldesi	3
Şekil 2.2. pH değerlerinin kitosan çözünürlüğüne etkisi	8
Şekil 2.3. Kimyasal yöntemle kitosan polimerinin eldesinde kullanılan optimum işlem koşulları.....	13
Şekil 2.4. Kitosan kaynaklarına ait (2017-2027) pazar payı	16
Şekil 2.5. Kitosan bazlı ürünlerin sektörel dağılımı (2017-2027)	16
Şekil 2.6. 2011-2021 yılları arası yayınlanan kitosan konulu çalışma alanları ve yayın sayıları	17
Şekil 3.1. Polimer ağ yapıda faz geçişinin şematik diyagramı	19
Şekil 3.2. İç içe geçmiş ağ yapıdaki (IPN) hidrojeller	22
Şekil 3.3. Kimyasal çapraz bağlı hidrojellerin şematik gösterimi	24
Şekil 3.4. Fiziksel çapraz bağlı hidrojellerin şematik gösterimi	25
Şekil 3.5. Çözücü ortamındaki hidrojellerde suyun konumu	29
Şekil 3.6. Çeşitli uyaranlara karşı şişme / büzülme davranışı sergileyen hidrojel örneği	31
Şekil 3.7. Bir hidrojelin çapraz bağ yapısının şematik gösterimi	31
Şekil 3.8. İyonik hidrojellerin iyonik konsantrasyon ve pH değişimine bağlı sergilediği şişme davranışları.....	32
Şekil 4.1. Kimyasal, fiziksel ve çift çapraz bağlı hidrojellerin şematik gösterimi.....	40
Şekil 4.2. Gluteraldehitin kimyasal yapısı	51
Şekil 4.3. Gluteraldehit ve kitosanın kimyasal çapraz bağlanma mekanizması	52
Şekil 5.1. Kitosan hidrojellerin hazırlanma prosedürü.....	58
Şekil 5.2. Gluteraldehit ilavesi sonrası çapraz bağlanma reaksiyonu gösteren kitosan hidrojel örneği.....	59
Şekil 6.1. Gluteraldehit ile hazırlanan kitosan hidrojellere ait şematik gösterim	67
Şekil 6.2. Artan gluteraldehit konsantrasyonun çapraz bağlanma ve renk değişimine etkisi (DM_w).....	68
Şekil 6.3. Artan gluteraldehit konsantrasyonun çapraz bağlanma ve renk değişimine etkisi (OM_w).....	68
Şekil 6.4. DM_w ticari kitosan ve çapraz bağlı kitosan jellere ait FTIR spektrumları.....	70
Şekil 6.5. OM_w ticari kitosan ve çapraz bağlı kitosan jellere ait FTIR spektrumları.....	71
Şekil 6.6. Farklı oranlarda GA ile çapraz bağlı kitosan hidrojellere ait optik mikroskop görüntüleri	74
Şekil 6.7. Kitosan hidrojellere ait SEM görüntüleri.....	77



Şekil 6.8. DM _w kitosan hidrojenlerin (kuru) destile su ve farklı pH'lardaki şişme değerleri.....	79
Şekil 6.9. OM _w kitosan hidrojenlerin (kuru) destile su ve farklı pH'lardaki şişme değerleri.....	79
Şekil 6.10. DM _w kitosan jellerin pH 2,0'deki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği	82
Şekil 6.11. OM _w kitosan jellerin pH 2,0'deki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği	82
Şekil 6.12. DM _w kitosan jellerin destile su içindeki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği	84
Şekil 6.13. OM _w kitosan jellerin destile su içindeki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği	85
Şekil 6.14. DM _w kitosan jellerin pH 7,4'deki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği	86
Şekil 6.15. OM _w kitosan jellerin pH 7,4'deki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği	86
Şekil 6.16. DM _w kitosan hidrojenlerin (ıslak) destile su ve farklı pH'lardaki şişme değerleri.....	87
Şekil 6.17. OM _w kitosan hidrojenlerin (ıslak) destile su ve farklı pH'lardaki şişme değerleri.....	88
Şekil 6.18. Kitosan hidrojenlerin şişme öncesi ve sonrası görüntüleri	88
Şekil 6.19. GA ile çapraz bağlanan kitosan hidrojenlerin Fick Yasasına göre (A) Destile su (B) pH 2,0 ve (C) pH 7,4 ortamındaki şişme davranışları	91
Şekil 6.20. Farklı GA oranında hazırlanan DM _w kitosan hidrojenlerin şişme performanslarının 5 kullanım sonucundaki zamanla değişimi.....	94
Şekil 6.21. Farklı GA oranında hazırlanan OM _w kitosan hidrojenlerin şişme performanslarının 5 kullanım sonucundaki zamanla değişimi.....	94
Şekil 6.22. Farklı oranlarda GA içeren DM _w ve OM _w kitosan hidrojenlere ait DSC eğrileri.....	95
Şekil 6.23. Farklı oranlarda GA içeren DM _w ve OM _w kitosan hidrojenlere ait TGA eğrileri	97
Şekil 6.24. Farklı oranlarda GA içeren DM _w ve OM _w kitosan hidrojenlere ait DTG eğrileri	97
Şekil 6.25. DM _w kitosan hidrojenlere ait gerilim-gerinim eğrileri	100
Şekil 6.26. OM _w kitosan hidrojenlere ait gerilim-gerinim eğrileri	100
Şekil 6.27. Kitosan hidrojenlerin enzimatik / enzimatik olmayan bozunması	102



DÜŞÜK VE ORTA MOLEKÜL AĞIRLIKLİ KİTOSAN ESASLI HİDROJELLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOBOZUNURLUK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

En büyük avantajı, yenilenebilir bir kaynak ve çevre dostu doğal bir biyopolimer olan kitosan; biyouyumlu, biyobozunur, antimikrobiyal, antitümör etkisi, iyi absorpsiyon kapasitesi ve toksik olmaması gibi sayısız eşsiz özelliğiyle son yıllarda oldukça ilgi gören ve gıdadan kozmetiğe, tarımdan birçok medikal uygulamaya kadar güvenle tercih edilen bir biyomalzeme olmuştur. Çevresel kaygıların ve çevre dostu yenilenebilir kaynaklara ihtiyacın arttığı bugünlerde, ülkemizde çok büyük pazar payına sahip olan deniz ürünleri endüstrisinin neden olduğu bu atıkların geri kazanımıyla yüksek katma değerli ürünlerin üretilmesi ciddi önem arz etmektedir.

Bu tez çalışmasında, tüm bu avantaj ve karakteristik özelliklerinden yararlanarak, gluteraldehit ile çapraz bağlı kitosan hidrojellerin hazırlanması amaçlanmıştır. Kitosanı karakterize eden en temel parametrelerden biri olan molekül ağırlığının ve farklı çapraz bağ konsantrasyonunun, sentezlenen hidrojellerin mekanik, morfolojik ve termal özelliklerine etkisi yapılan deneysel çalışmalarla detaylıca incelenmiştir.

Başarıyla sentezlenen ve çözünürlükten su absorplama kapasitesine, mekanik dayanımdan *in vitro* bozunma profiline kadar hem yapısal hem termal özellikleri incelenen kitosan hidrojellerin yara örtüleri, doku mühendisliği ve ilaç salım uygulamaları, tarımsal sulama vb. alanlarda kullanımına olanak sağlayacak birkaç uygun özelliği sunulmuştur.

Kitosana göre ağırlıkça %1, %3, %5, %7 ve %10 oranında gluteraldehit (GA) ile çapraz bağlanarak hazırlanan jellerin analizleri, düşük ve orta molekül ağırlık için karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Tüm hidrojellerin FTIR spektrumları incelenmiş, kitosan ve GA'nın Schiff reaksiyonunu doğrulayan imin bağlarının (C=N) oluştuğu görülmüştür. Absorpsiyon çalışmalarında, kitosandaki amino gruplarının protonasyonu nedeniyle en yüksek şişme değerlerine pH 2,0 ortamında ve %1 GA içeren jellerde ulaşıldığı görülmüştür. Bu sonuçlar SEM ve optik mikroskop görüntüleri ile desteklenmiştir. DSC-TGA analizleri; kitosanın termal bozunmasının üç aşamada gerçekleştiğini ve jel matrisi içerisindeki GA oranının artmasıyla bozunma sıcaklıklarının bir miktar düştüğünü göstermiştir. Artan molekül ağırlığı ve çapraz bağ oranıyla hidrojellerin basma modül değerlerinde artış olduğu, yanı sıra bu durumun daha kararlı hale gelerek yapısal bütünlüğünü koruyan kitosan hidrojellerin bozunma hızını azalttığı görülmüştür. Bu durumun; yavaş ve kontrollü bozunmanın arzu edildiği salım çalışmalarında avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.

Mevcut sonuçlar; sentezlenen kitosan hidrojellerin özellikleri, işlevi ve kullanım alanlarının belirlenmesinin tek bir değişkene bağlı olmayıp molekül ağırlığı ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonu yanı sıra ortam pH'ı, sol içeriği, kitosan molekülündeki (CH₃CONH₂) asetamit gruplarının dağılımı, hazırlanma formu vb. parametrelerin de doğrudan etkili olduğunu ortaya koymuştur. Dolayısıyla, arzu edilen özelliklere uygun kitosan hidrojelini geliştirilmesinde optimum değerlerin sağlanması oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Kitosan, Hidrojel sentezi, Gluteraldehit, Molekül ağırlığı



SYNTHESIS OF LOW AND MEDIUM MOLECULAR WEIGHT CHITOSAN BASED HYDROGELS, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF BIODEGRADABILITY PROPERTIES

ABSTRACT

Chitosan which has the biggest advantage of being a renewable resource and an environmentally friendly natural biopolymer has attracted a lot of attention with its numerous unique properties such as biocompatible, biodegradable, antimicrobial, antitumor effect, good absorption capacity and nontoxicity in recent years. And it has become a preferred biomaterial from food to cosmetics, from agriculture to many medical applications. Nowadays, environmental concerns and the need for environmentally friendly renewable resources have increased. For this reason, it is of great importance to produce high value-added products by recycling these wastes caused by the seafood industry, which has a large market share in our country.

In this thesis, it is aimed to prepare chitosan hydrogels cross-linked with glutaraldehyde by taking of all these advantages and characteristics. The effects of the molecular weight and the different cross-link concentration of chitosan which are the most basic parameters characterizing chitosan, on the mechanical and physical properties of the synthesized gels were investigated in detail by experimental studies.

Several suitable properties of successfully synthesized chitosan hydrogels are presented that will allow them to be used in wound dressings, drug release applications, agricultural and tissue engineering applications, etc.

The analyzes of chitosan hydrogels cross-linked with %1, %3, %5, %7 ve %10 glutaraldehyde (GA) were evaluated comparatively for low and medium molecular weight. FTIR spectra of all hydrogels was examined, it was observed that imine bonds (C=N) were formed confirming the Schiff reaction of chitosan and GA. In absorption studies, the highest swelling values were observed in the pH 2.0 medium and gels containing 1% GA due to the protonation of amino groups of chitosan. These results were supported by SEM and optical microscope images. As a result of the DSC-TGA analysis, it was found that the thermal degradation of chitosan took place in three stages and the decomposition temperatures decreased slightly with increasing amount of the GA in the gel matrix. It was observed that the compressive modulus values of hydrogels increased with increasing molecular weight and cross-linking ratio, besides the this situation decreased the degradation rate of chitosan hydrogels which became more stable and preserved their structural integrity. This situation is considered to be advantageous in the release studies where slow and controlled degradation is desired.

The present results showed that the determination of the properties, function and areas of use of the synthesized chitosan hydrogens did not depend on a single variable, but it was revealed that besides the molecular weight and crosslinker concentration, the parameters such as ambient pH, sol content, distribution of acetamide groups in the chitosan molecule, preparation form, etc. were also directly effective. Therefore, it is very important to provide optimum values for the development of a chitosan hydrogel with desired properties.

Keywords: Chitosan, Hydrogel synthesis, Glutaraldehyde, Molecular weight



1. GİRİŞ

Deniz ürünleri endüstrisi, birçok dünya ülkeleri arasında kabul gören büyük bir pazardır. Çevresel kaygıların ve çevre dostu yenilenebilir kaynaklara ihtiyacın arttığı bu günlerde, bu pazarın neden olduğu atıkları geri kazanarak katma değeri yüksek ürünlerin üretilmesi hayati önem taşımaktadır.

1850’li yıllardan günümüze kadar uzanan, sahip olduğu emsalsiz özellikleriyle birçok araştırmacının odak noktasından ayrılmayan kitosan biyopolimeri; kozmetikten gıdaya, tarımsal uygulamalardan birçok medikal uygulamaya kadar geniş bir yelpazede kullanım olanağı sunmaktadır.

Kitosan hidrojeller; doğal, biyobozunur, antimikrobiyal, iyi absorpsiyon kapasitesi ve non-toksik olması yanı sıra canlı vücuduyla biyouyumlu olmaları avantajlarından dolayı son yıllarda farmakolojik ve biyomedikal alanlarda oldukça ilgi görmektedir. Ancak diğer doğal hidrojellerde olduğu gibi zayıf mekanik dayanımları sebebiyle mekanik dayanımın önem kazandığı çalışmalarda tek başına kullanımı yeterli değildir.

Gluteraldehit; yüksek çapraz bağlama gücü, hızlı reaksiyona girme ve jel matrisine mekanik dayanım sağlama avantajlarıyla kitosan hidrojellerin hazırlamasında en yaygın kullanılan kimyasal çapraz bağlayıcı ajanların başında gelir. Diğer yandan, nispeten toksik etkiye sahip olan bu kimyasal ajanın, düşük konsantrasyonlarda toksik etkisinin yok denecek kadar az olduğu bilinmektedir.

Tüm bu veriler ışığında; farklı konsantrasyonlarda gluteraldehit ile çapraz bağlanan kitosan hidrojeller hazırlanmıştır. Hazırlama aşamasında birçok farklı jel formülasyonları denenmiş ve en uygun formülasyonun; %2 (w/w)’lik asetik asit içerisinde çözünmüş ve kitosana göre ağırlıkça %1, %3, %5, %7 ve %10 oranında gluteraldehit ile çapraz bağlanmış %2’lik kitosan formülasyonu olduğu belirlenmiştir.

Hazırlanan kitosan hidrojellerin mekanik, morfolojik ve termal özellikleri üzerinde çapraz bağlayıcı konsantrasyonu ve kitosan molekül ağırlığının etkisi araştırılmıştır.

1.1. Tez Çalışmasının Amacı

Doğal kaynaklardan elde edilen bir biyopolimer olan kitosandan, sağlık hizmetlerini kolaylaştıracak, katma değeri yüksek ürünlerin üretilebilirlik potansiyelinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda kimyasal yöntemle çapraz

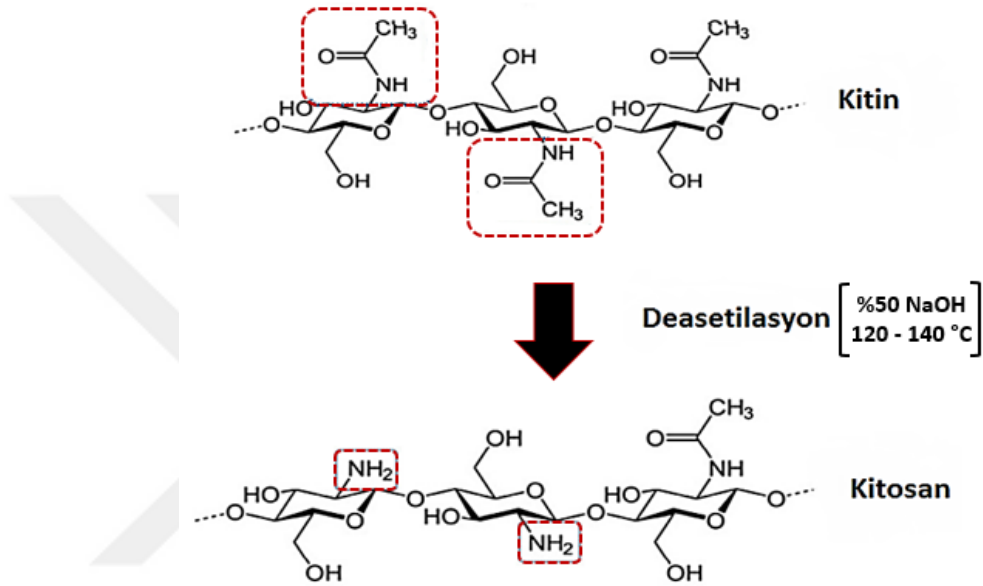
bağlanan kitosan esaslı hidrojenlerin sentezi ve karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Son yıllarda birçok araştırmacı tarafından yakın takibe alınan bu eşsiz biyopolimer üzerinde çok sayıda çalışma yürütülmüş, karakteristik özellikleri ilgiyle araştırılmıştır. Literatürde, kitosan hidrojenlerin tek tip özellikleri üzerinde durulan çalışmalar mevcut iken farklı molekül ağırlıklarının ve farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonlarının elde edilen kitosan hidrojenlerin özelliklerine etkisi ayrıntılı bir biçimde yer almamaktadır.

Bu çalışmada, hidrojel sentezinde kullanılacak kitosanın hem molekül ağırlığının hem de çapraz bağlayıcı ajan olan glüteraldehit konsantrasyonunun; elde edilecek jellerin gözenek boyutlarına, su absorplama kapasitesine, bozunma özelliklerine, termal, mekanik ve morfolojik özelliklerine etkisinin detaylıca incelenmesi amaçlanmıştır.

2. KİTOSAN

Kitosan, kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilen doğal, pozitif yüklü bir polisakkarittir. Doğada bulunan kaynaklardan bol miktarda elde edilebilen kitosanın, kitine kıyasla ticari olarak elde edilebilirliği ve birçok formda kullanılabilirliği onu ilgi çekici bir materyal olarak karşımıza çıkarmaktadır [1, 2].



Şekil 2.1. Kitinin deasetilasyonu sonucu kitosanın eldesi [3]

Genellikle %50'nin üzerinde deasetilasyon derecesine sahip kitin, kitosan olarak adlandırılır. Kullanılan kitin kaynağı kitosanın fizikokimyasal özelliklerini değiştirmesi yanı sıra, kitosanın özelliklerini belirleyen parametreler arasında deasetilasyon derecesi, deasetilasyon işlem koşulları, molekül ağırlığı, viskozite, renk, çözünürlük gibi faktörler yer almaktadır [4, 5].

Kitin ve kitosan arasındaki en belirleyici farklardan biri çözünürlüktür. Yapısında çok sayıdaki molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları bulunduran kitinin çözünürlüğü kitosana kıyasla oldukça düşüktür. Kitin; lityum klorür / N, N-dimetil asetamit (LiCl/DMAc), hekzafloroaseton gibi toksik özelliği yüksek özel çözücülerde çözünebilmektir. Bir kitin türevi olan kitosan ise amino grupları sayesinde $\text{pH} < 6$ olan ortamlarda protonasyona uğrayarak katyonik alanlar oluşturmakta ve bunun sonucunda hem polarizasyonu hem de elektrostatik itmeyi artırarak kolayca çözünebilmektedir [6].

Kitosanın kitine kıyasla bir diğer avantajı ise sahip olduğu serbest amin grupları sayesinde birçok kimyasal reaksiyona katılabilmesidir. Kitinde bulunan asetamit gruplarının kitosanın amin gruplarından daha az reaktif olması kitinin kullanımını sınırlandırmaktadır.

En büyük avantajı, yenilenebilir bir kaynak ve çevre dostu doğal bir biyopolimer olması olan kitosan; biyouyumlu, biyobozunur, antimikrobiyal, antifungal, antitümör etkisi, iyi absorpsiyon kapasitesi ve toksik olmaması nedeniyle son yıllarda oldukça ilgi gören ve medikal alanlarda güvenle tercih edilen bir materyal olmuştur. Eşsiz biyolojik aktiviteleri yanı sıra kanın pıhtılaşmasını hızlandırarak kan kaybını en aza indirecek hemostatik etkisi, hipoalerjenik ve muko yapışkan özelliğe sahip olması onu hemostatik yara örtülerinin vazgeçilmez bir bileşeni yapmaktadır [1, 4].

Asidik koşullar altında pozitif yüke sahip olan kitosanın bu özelliği, ilaç salım uygulamalarında ilacın doğrudan hedeflenen bölgeye iletimini kolaylaştırmaktadır. İnsülin iletimi buna örnek verilebilir. Yüksek antibakteriyel aktivite, minimum yabancı cisim reddi ve uygun geçirgenlik özellikleriyle yapay böbrek zarlarında, doku mühendisliği ve plastik cilt cerrahisi uygulamalarında yaygın kullanıma sahiptir [1, 2].

Kitosanın kullanım alanını kısıtlayan başlıca dezavantajı ise asetik asit, formik asit ve laktik asit gibi pH'ı 6'dan düşük asidik çözeltilerde iyi çözünürlük gösterirken su ve yaygın inorganik çözücülerde çözünmemesidir. Yanı sıra düşük mekanik mukavemeti sebebiyle kırılgan bir malzeme yapısına sahip olması kitosanın kullanım alanını sınırlandırmaktadır [7].

Kitosanın sahip olduğu bu dezavantajları iyileştirmek için diğer doğal ve sentetik polimerlerle karıştırılması, hazırlama işlemi sırasında stabilize edici ajanların kullanılması, iyonik veya kimyasal çapraz bağlayıcıların kullanımı gibi stratejiler literatürde bildirilmiştir [8].

2.1. Kitosanın Karakteristik Özelliklerine Etki Eden Parametreler

Kitosan, birçok üstün fizikokimyasal ve biyolojik özelliklere sahip eşsiz bir biyopolimerdir. Kitosanı bu denli eşsiz bir doğal polimer kılan karakteristik özellikleri üzerinde birçok faktör etki etmekte, dolayısıyla bu özelliklerinin doğru bir şekilde incelenip etki eden parametrelerin doğru karakterize edilmesi, yüksek kaliteli ürünlerin elde edilebilmesi açısından oldukça önemlidir.

2.1.1. Deasetilasyon derecesi (DD) etkisi

Deasetilasyon prosesi; belirli bir sıcaklık ve alkalın ortamının etkisiyle, kitinin yapısında bulunan amino asetil gruplarının ($\text{CH}_3\text{-CO}$) yapıdan uzaklaştırılması ve amin gruplu (NH_2) kitosan biyopolimerinin elde edilmesi işlemidir. Deasetilasyon değeri ise D-glukozamin (DGlcN) birimlerinin toplam D-glukozamin (DGlcN) ve N-asetil D-glukozamin (D-GlcNAc) monomerik birimlerine oranını ifade eder (Eşitlik 2.1). Bu değer, kitin kaynağının türüne ve üretim prosesine bağlı olarak değişmekle birlikte genellikle %60 ve üzeri deasetilasyon derecesine sahip kitin, kitosan olarak adlandırılır [9].

$$DD = \frac{nD \text{ GlcN}}{nD \text{ GlcN} + nD \text{ GlcNAc}} \cdot 100 \quad (2.1)$$

$nD \text{ GlcN}$: D GlcN monomerik ünitelerin ortalama sayısı

$nD \text{ GlcNAc}$: D GlcNAc monomerik ünitelerin ortalama sayısı

Deasetilasyon değeri, kitosanın karakterize edilmesinde kullanılan en önemli parametrelerden biridir. Kitosanın fizikokimyasal davranışını ve biyolojik işlevselliğini doğrudan etkilediğinden kullanım alanının da belirlenmesinde büyük rol oynamaktadır. DD; kullanılan kitin kaynağı, deproteinizasyon ve deminerilizasyon işlem koşulları, deasetilasyon süresi, sıcaklığı, alkali konsantrasyonu ve tüm bu üretim aşamalarının sırası gibi birçok faktörden etkilenmekte, bu parametrelerde yapılacak değişiklikler ile DD kontrol edilebilmektedir. Örneğin düşük deasetilasyon derecesine sahip kitosan üretmek için daha düşük sıcaklık, konsantrasyon ve reaksiyon süresi yeterli olurken daha yüksek deasetilasyon derecesi için daha yüksek reaksiyon şartları gerekmektedir [10, 11].

Deasetilasyonun amacı, seyreltik asetik asit içerisinde en kısa sürede çözünebilen kitosan elde etmektir. Dolayısıyla DD'nin yükselmesi kitosan polimerik zinciri üzerindeki serbest amino gruplarını artırarak kitosanın çözünürlüğünü de yükseltmektedir. Yüksek sıcaklıklar deasetilasyon derecesini artırma eğilimi gösterirken, bu durum molekül zincirlerinin parçalanmasına yol açacağından molekül ağırlığı düşürür. Ayrıca yapılan çalışmalar sıcaklık ile deasetilasyon hızı arasında da lineer bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur [10, 12].

Kitinin deasetilasyonu yüksek konsantrasyon (%40-50 NaOH) ve yüksek sıcaklıklarda (100-150°C) gerçekleştirilir. Deasetilasyon süresi ve baz konsantrasyonu üzerine yapılan bir çalışmada; 100 °C ve %50 NaOH ile işlem gören kitinin, ilk 1 saatte deasetilasyon değerinin hızla %70'e ulaştığı ancak reaksiyonun devam eden sonraki 5 saatinde bu ilerlemenin yavaşlayarak %78'lere geldiği belirtilmiştir. Sonuç olarak, 2 saatin üzerindeki baz muamelesinin, deasetilasyon derecesini önemli derecede etkilemediği ancak molekül ağırlığının düşmesine neden olduğu görülmüştür. Farklı NaOH konsantrasyonlarıyla (%35-40-50) yapılan işlemlerde ise baz konsantrasyonundaki azalmanın hem molekül ağırlığındaki hem de viskozitedeki azalma hızını yavaşlattığı görülmüştür [13].

Yüksek DD, yüksek pozitif yük yoğunluğuna neden olduğundan yüksek DD'ye sahip kitosanın antimikrobiyal aktivitesi düşük DD'ye sahip kitosana göre daha fazladır. Kitosanın bozunma durumu ve hızı üzerinde DD'nin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; DD'nin hem termal hem de hidrolitik davranışı etkileyerek düşük DD'ye sahip kitosan polimerin yüksek degradasyon hızının sonucu olarak akut bir inflamatuvar yanıtı indüklediği, yüksek DD'ye sahip kitosan polimerin ise minimal inflamasyona neden olduğu görülmüştür. Yanı sıra DD'nin yüksek olduğu kitosan gruplarında depolama sırasında gözlenen asidik hidroliz oranının oldukça yavaş olduğu, bu durumun daha az gözenekli bir yapıya ve daha düşük su alma oranına sebep olarak kitosanın asidik ortamda bozunma sürecini sınırlandırdığı görülmüştür [14, 15].

Kitosanın DD'nin tayininde elementel (C, H, N) analiz, asit-baz titrasyonu, potansiyometrik titrasyon, FT-IR spektroskopisi, HPLC, ¹³C NMR, ¹H NMR, X-Ray Difraksiyon analizi yanı sıra ninhidrin testi ve hidrojen bromür titrimetri analizi gibi çok çeşitli yöntemler kullanılabilir [11, 14, 16].

2.1.2. N-asetilasyon derecesi (DA) etkisi

Bir kitin molekülünde tekrar eden temel birim N-asetil-D-glukozamindir. N-asetilasyon derecesi (DA), yüzde olarak ifade edilen 100 monomer başına ortalama GlcNAc birim (2-acetamido-2-deoxy-β-Dglucopyranose) sayısı olarak tanımlanır. Kristal yapısı gereği pH 7'nin üzerindeki sulu çözeltilerde çözünmeyen kitosanın pKa'sı DA'ya bağlıdır, bu nedenle kitosanın çözünürlüğü de DA'ya bağlıdır [17].

2.1.3. Molekül ağırlığının etkisi

Moleküler ağırlık; kitosanın başta çözünürlük, viskozite, hidrofiliklik, su absorplama yeteneği, biyobozunurluk, antimikrobiyalik, çapraz bağlanma yoğunluğu gibi bir dizi kimyasal ve biyolojik özelliğini belirleyen en temel parametrelerden biridir. Kitosan numunelerinin molekül ağırlığı hammadde kaynağına, üretim tekniğine, deasetilasyon koşullarına bağlı olarak değişir ve bu durum nihai ürünün kullanım alanını doğrudan etkiler. Bu nedenle kitosanın homojenliğini ve nihai ürünün işlevselliğini sağlamak için molekül ağırlık dağılımı (polidisperseite indeksi, PDI) mutlaka belirlenmelidir.

Ticari olarak kullanılan kitosanların molekül ağırlığı 50 kDa ile 2000 kDa arasında değişen geniş bir dağılıma sahiptir. M_w dağılımındaki bu farklılık özellikle deasetilasyon koşullarından kaynaklanmaktadır. Yüksek sıcaklık, yüksek alkali konsantrasyonu ve uzun işlem süreleri kitosan polimer zincirini parçalamakta ve molekül ağırlığını düşürmektedir. Bu parametreler ayarlanarak M_w kontrol edilebilmektedir.

Molekül ağırlığı ile viskozite arasında da yakın bir ilişki bulunmakta, yüksek molekül ağırlığa sahip kitosan viskozitesinin düşük olana kıyasla daha yüksek olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda genel olarak yüksek molekül ağırlıklı kitosanın düşük olana kıyasla daha kararlı olduğu ve *E. coli*'ye karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği ortaya konulmuştur [14-20].

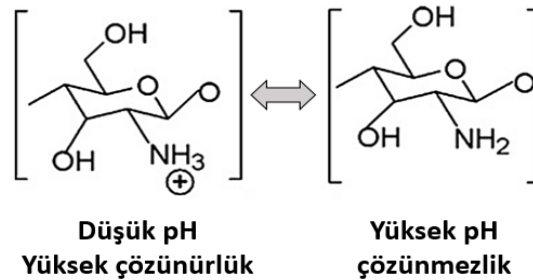
Kitosanın M_w tayininde yaygın olarak jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) ve viskozimetrik yöntemler yanında ışık saçılma spektroskopisi (LS) ve büyüklükçe ayırma kromatografisi (SEC) gibi çeşitli yöntemler kullanılabilmektedir [19, 20].

Tablo 2.1. Deasetilasyon / N-asetilasyon derecesi ve molekül ağırlığının kitosanın özellikleri üzerindeki etkisi [10, 17]

Özellik	DD'deki Artışın Etkisi	M _w 'deki Artışın Etkisi	DA Etkisi
Çözünürlük	Artar	Azalı	Azalı
Kristalin yapı	Azalı	Artar	Artar
Biyolojik parçalanma	Azalı	Azalı	Artar
Viskozite	Artar	Artar	Azalı
Biyolojik uyum	Artar	-	Azalı
Antimikrobiyalite	Artar	Azalı	Azalı
Antioksidan özellik	Artar	Azalı	Azalı
Hemostatik etki	Artar	-	Azalı
Şişme	Azalı	Azalı	-
Çapraz bağlanma	Artar	Artar	-
Muko yapışkanlık	Artar	Artar	Azalı

2.1.4. Çözünürlük etkisi

Kitin ve kitosan arasındaki en belirleyici farklardan biri çözünürlükleridir. Yapısında çok sayıdaki molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları bulunduran kitinin çözünürlüğü kitosana kıyasla oldukça düşüktür ve toksik özelliği yüksek özel çözücülerde çözünebilmektir. Bir kitin türevi olan kitosan ise amino grupları sayesinde $\text{pH} < 6$ olan ortamlarda protonasyona uğrayarak katyonik alanlar oluşturmakta ve bunun sonucunda hem polarizasyonu hem de elektrostatik itmeyi artırarak kolayca çözünebilmektedir [6]. Şekil 2.2'de düşük ve yüksek pH ortamlarında $-\text{NH}_2$ gruplarının durumuna ait şematik gösterim yer almaktadır.



Şekil 2.2. pH değerlerinin kitosan çözünürlüğüne etkisi

Kitosanın çözünürlüğü deasetilasyon derecesine, deasetilasyon koşullarına (sıcaklık, alkali konsantrasyonu, işlem süresi), kitin eldesinde uygulanan ön işlemlere, asetil gruplarının dağılımına, moleküler ağırlığına, iyonik güç ve pH gibi birçok faktöre bağlıdır.

Etkin bir çözünürlük için kitosanın %75-80 deasetilasyon derecesine sahip olması istenir. %1 konsantrasyona sahip asetik asit, kitosanı çözmek için en yaygın kullanılan çözücülerin başında gelir. Yanı sıra formik asit, laktik asit gibi pH'ı 6'dan düşük seyreltik asitlerde de iyi çözünürlük gösterir. pH'ın 6'nın üzerinde olduğu ortamlarda kitosanın çözünürlük stabilitesi zayıftır. Çok yüksek pH'larda (pH >9) ise çökme ve jel oluşumu gözlemlenir [6, 21].

2.1.5. Viskozitenin etkisi

Viskozite değeri, kitosanın molekül ağırlığının belirlenmesi yanı sıra ticari ürünün uygulanabilirliğini doğrudan etkileyen önemli bir karakteristik özelliktir. Molekül ağırlığıyla doğrudan ilişkili olan viskozite; deasetilasyon derecesi, çözelti konsantrasyonu, çözelti pH'ı, hammaddenin partikül büyüklüğü, sıcaklık gibi faktörlerin etkisiyle değişmektedir.

Yüksek molekül ağırlığa ve yüksek konsantrasyona sahip kitosan çözeltilerin viskozitesi düşük olanlara kıyasla daha yüksektir. Ancak yüksek molekül ağırlık ve kitosan konsantrasyonu sonucunda oluşan yüksek viskoz çözeltiler işleme zorluğunu da beraberinde getireceğinden endüstriyel uygulamalarda tercih edilmezler [22, 23].

Viskoziteyi artıran diğer bir parametre deasetilasyon derecesidir. Farklı deasetilasyon derecesine sahip kitosanların sulu çözeltideki konformasyonları da birbirinden farklıdır. DD'si yüksek olan kitosanlar moleküldeki yük itmesinden dolayı daha esnek ve genişletilmiş bir konformasyona sahip iken düşük DD'li kitosanlar polimer zincirindeki düşük yük yoğunluğundan dolayı daha düz veya sarmal bir konformasyona sahiptir [24]. Deproteinizasyon ve deminerilizasyon sürelerinin uzatılması ise viskoziteyi azaltmaktadır. Yayınlanan bir çalışmada DP süresinin 30 dakika uzatılması, viskozite değerini 248 cPa dan 32 cPa'a düşürdüğü belirtilmiştir [25].

%1 asetik asit çözeltisindeki %1 konsantrasyona sahip kitosanın viskozitesi genellikle 20-2000 cPa arasında değişmektedir [26]. Hesaplanan viskozite değeri, iyonizasyon

derecesinin bir fonksiyonu olan intrinsik viskoziteye dönüştürülerek kitosan molekül ağırlığının hesaplanmasında kullanılır. Bunun için intrinsik viskozite ve viskozite ortalama molekül ağırlığı arasındaki ilişkiyi gösteren Mark-Houwink denkleminde yararlanılır [27, 28].

$$[\eta] = K * Mv^a \quad (2.2)$$

Burada, K ve a değerleri çözünen / çözücü maddelere ve sıcaklığa bağlı sabitler olup kitosan çözeltisi için K : $1.81 \times 10^{-3} \text{ mL/g}$ ve a : 0.93'dir. Mv , viskozite ortalama molekül ağırlığıdır.

2.1.6. Kullanılan kitin ve kitosan kaynağının etkisi

Kabukluların dış iskeletlerinden izole edilen kitosanın sahip olduğu tüm karakteristik özellikler kullanılan kitinin kaynağına ve depolama koşullarına bağlıdır. Örneğin kitosanın stabilitesi depolama koşullarından olumsuz etkilenmekte, pH 7 ve üzerinde oda sıcaklığında uzun süre bekletildiğinde stabilitesi ve antimikrobiyal aktivitesinde azalma görülmektedir [29-31].

2.1.7. pH etkisi

pH, başta çözünürlük olmak üzere kitosanın fizikokimyasal ve biyomedikal aktivitelerini doğrudan etkileyen bir parametredir. Kitosan, pH < 6'da iyi çözünürlük gösterirken pH > 6,5'da çökme ve faz ayrımı gösterir. Bu durum, yapıdaki amino gruplarının düşük pH değerlerinde protonlanarak zincir boyunca hidrofilikliği artırmasına ve malzemenin çözülmesine neden olur. Yüksek pH değerlerinde ise serbest amino grupları daha az protonlandığından kitosan zinciri boyunca hidrofobiklik artacaktır [10, 32].

Kitosan üzerindeki bu pH etkisi, biyomedikal aktivitesini ve potansiyel uygulamalarını da etkilemektedir. Örneğin Helander vd. (2001), düşük pH değerlerinde kitosanın daha yüksek antibakteriyel aktivite ve daha güçlü inhibitör etki gösterdiğini, kitosanın asidik gıdalara eklenmesinin doğal bir koruyucu olarak kullanım bulabileceğini rapor etmişlerdir [33].

2.1.8. Renk etkisi

Deniz canlılarının kabuğunda astaksantin, zeaksantin, kantaksantin gibi renk pigmentleri bulunmaktadır. Kabuğun yapısında bulunan ve miktarları elde edildikleri canlıların yaşam koşullarına, büyüklüğüne, yaşına göre değişiklik gösteren bu pigmentler arasından kitosana sahip olduğu beyazımsı soluk sarı rengi veren temel pigment astaksantinidir. Bu pigment kitin ile güçlü bir kompleks oluşturmakta, kitosan eldesi sırasında sodyum hipoklorür ile yapılan dekolorizasyon işleminin sonucunda renk giderimi sağlanabilmektedir [34, 35].

2.2. Kitosanın Üretiminde Kullanılan Yöntemler ve Üretim Süreci

Bir deniz canlısının kabuk muhtevasında ortalama %30-40 protein, %30-50 kalsiyum karbonat ve kalsiyum fosfat ile %20-40 oranında kitin bulunmaktadır. Bu bileşenler arasında asit ve alkaliye en dayanıklı olan madde kitindir. Kitinden kitosan eldesi için kabuk muhtevasında bulunan bu protein ve mineraller çeşitli asit/alkali ayırıştırma yöntemleri kullanılarak uzaklaştırılır ve kitin izole edilir [36].

Bu işlemler kimyasal reaksiyonlarla gerçekleştirilebileceği gibi yeşil prosesler olarak günümüzde oldukça ilgi gören biyolojik ve enzimatik yöntemlerle de gerçekleştirilmektedir.

1. Kimyasal Yöntem: Günümüzde yeşil proseslere kıyasla endüstriyel üretime uygunluğu, ucuz, hızlı ve kolay olması sebebiyle en çok tercih edilen yöntem olup başlıca 5 aşamada gerçekleştirilmektedir:

1. Kabukların hazırlanması

2. Demineralizasyon (Uygun bir asit ortamında minerallerin uzaklaştırılması)

3. Deproteinizasyon (Uygun bir alkali ortamda proteinlerin uzaklaştırılması)

4. Dekolorizasyon (Sodyum hipoklorit ile renk pigmentlerin uzaklaştırılması)

5. Deasetilasyon (Asetil gruplarının uzaklaştırılması, DA)

Temizleme, kurutma ve öğütme aşamalarından geçen kabuklar HCl gibi kuvvetli bir asit varlığında ardından NaOH gibi alkalın varlığında mineral ve protein giderimi gerçekleştirilir. Canlı vücudunda alerjik reaksiyonlara sebep olmaması için proteinlerin uzaklaştırılması özellikle biyomedikal uygulamalar için oldukça önemli bir aşamadır. Uygulama yöntemine göre DM ve DP işlem sıraları yer değiştirilebilir. Gerekli görüldüğü taktirde hidrojen peroksit veya sodyum hipoklorit yardımıyla renk

giderimi sağlanır. Son adım olan deasetilasyon aşaması, kitin yapısında bulunan aminoasetil gruplarından asetil gruplarının uzaklaştırılması işlemidir. Bunun için DM ve DP işlemi gören kabuklar genellikle %50 konsantrasyona sahip NaOH çözeltisinde 120-150 °C sıcaklıklarda 1-4 saat süreyle DA işlemine tabi tutulur. Bu işlem sonunda kitinin yaklaşık %50 ve üzeri deasetillenmesi sonucu kitosan polimeri elde edilmektedir [37-40].

Deasetilasyon işlem sıcaklığı, süresi, ortam pH'ı ve kullanılan NaOH konsantrasyonu gibi birçok etken, üretilen kitosanın deasetilasyon derecesi ve molekül ağırlığını doğrudan etkilemektedir [15].

Milosavljevic vd. (2010) yaptığı çalışmada deasetilasyon işlem süresi ve sıcaklığındaki artışın yanı sıra NaOH konsantrasyonundaki artışın da kitosan DD'sini artırdığı diğer yandan molekül ağırlığını düşürdüğü rapor edilmiştir. Wang vd. (2006) incelediği çalışmalarda da proses şartlarının molekül ağırlığı ve DD'ni dolayısıyla da kitosanın fizikokimyasal özelliklerini doğrudan etkilediği bildirilmiştir [16].

Şekil 2.3'te literatürde yer alan kimyasal yöntemle kitosan polimerinin eldesinde kullanılan optimum işlem koşulları detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 2.3. Kimyasal yöntemle kitosan polimerinin eldesinde kullanılan optimum işlem koşulları

2. Biyolojik Yöntem: Yeşil proses olarak da bilinen bu yöntem *Mucorrouxii* ve *Phycomyces blakesleeanus* gibi organizmaların yardımıyla kitosanın mikrobiyal sentezine dayanmaktadır (Kuzgun ve İnanlı, 2013). Kimyasal maddeler yerine çeşitli organizmaların kullanıldığı bu yöntem, kimyasal kullanımının minimize edildiği ve enerji sarfiyatının düşüklüğü sebebiyle tercih edilmektedir. Diğer yandan da düşük enzim etkinliği ve endüstriyel üretime uygun olmayışı bu yöntemin dezavantajı olarak görülmektedir [13, 38, 41].

3. Enzimatik Yöntem: Özellikle gıda sanayisinde meyve suları ve biralardan oksidasyonunda, tekstilde ve kimya gibi çeşitli endüstriyel alanlarda kullanım potansiyeli olan bu yöntem, mantarlardan elde edilen kitin deasetilaz enzimi ile

gerçekleştirilmektedir. Yeşil proses olarak adlandırılan ve çevre açısından güvenli kabul edilen bu yöntemin diğer yöntemlere kıyasla daha kontrol edilebilir ve homojen ürün eldesine olanak sağlıyor olma avantajlarına sahiptir. Diğer yandan çözünürlüğü çok zor olan kitin deasetilaz enziminin, deasetilasyon işlemi için ısıtma, sonikasyon, öğütme gibi ön işlemleri gerektirmesi ve kitlesel üretime uygun olmaması bu yöntemin dezavantajları olarak sıralanabilir [41-43].

2.3. Kitosanın Uygulama Alanları

Doğal kaynaklardan elde edilen ve sayısız eşsiz özelliklere sahip olan kitosan biyopolimeri, çevresel kaygıların ve çevre dostu yenilenebilir kaynaklara ihtiyacın arttığı bugünlerde gıdadan kozmetiğe, tarımdan birçok medikal uygulamaya kadar geniş kullanım alanına sahiptir.

Tablo 2.2. Kitosanın uygulama alanları ve kullanımları [44, 45]

GIDA	* Doğal kıvamlaştırıcı
	* Gıda kaplama malzemesi
	* Gıda ve çevre arasındaki nem transferinin kontrolü
	* Hayvan yemlerini de içeren yiyecek katkı maddesi
	* Meyvelerde enzimatik kararmayı kontrol etme
	* Besleyici maddeler, tatlandırıcılar ve ilaçların ortaya çıkışının kontrolü
	* Hipokolestrolemik madde (zayıflama maddesi)
	* Koku ve tat, besin, renk dengesi
	* Atık yiyeceklerin geri kazanılması
MEDİKAL	* Yara örtüleri ve sargı bezi yapımında
	* Yanık tedavisinde acıyı dindirme ve iyileştirme etkisi
	* Yapay deri ve kan damarları
	* Cerrahi dikiş iplikleri
	* Hidrojel yapımı
	* Hemostatik madde (Kanı pıhtılaştırıcı madde)
	* Kontakt lens yapımı
	* Kontrollü ilaç salımı
	* Tümör inhibitörü
	* Antikoagülant ve antitrombojenik materyaller
KOZMETİK	* Cilt, saç ve ağız bakımı
	* Nemlendirici
	* Antikolestrol maddeleri
	* Kilo kontrolüne yardımcı ilaçlar
	* Aftershave, deodorantlarda koku giderici madde
BİYO TEKNOLOJİ	* Kromatografi
	* Enzim immobilizasyonu
	* Hücre immobilizasyonu
	* Protein ayrılması

Tablo 2.2. (Devam) Kitosanın uygulama alanları ve kullanımları

TARIM	* Kontrollü toprak kimyasalı salınımı
	* Donmaya karşı koruma
	* Bitki katkı maddesi ve tohum kaplanması
	* Gübre yapımı
	* Antimikrobiyal ve antifungal madde
	* Böcek ve parazit öldürücüler
SU ARITIMI	* Kirlenmiş atık sular için koagülasyon ve flokülasyon
	* Atık sudaki metal iyonlarının uzaklaştırılması ve geri kazanımı (pestisitlerin ve fenollerin tutulmasında)
	* Renklendiricilerin uzaklaştırılması
	* Koku giderilmesi
DİĞER UYGULAMALAR	* Radyoaktif atıkların uzaklaştırılması
	* Fotoğrafik kâğıt
	* Membran uygulamalarında geçirgenlik kontrolü
	* Kapsülleme adsorbentleri
	* Tekstil uygulamalarında antimikrobiyal madde ve boyanabilirlik kazandırma
	* Yünlü kumaşlarda çekmezlik ve yumuşaklık kazandırma

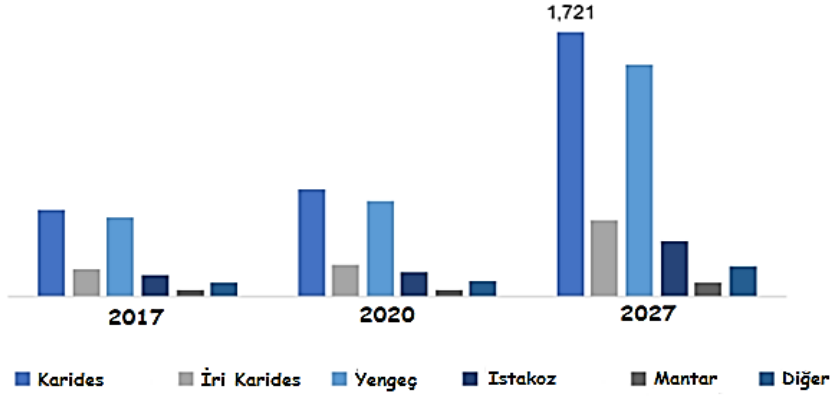
2.4. Pazar Payı ve Sektörel Durumu

Ülkemizde oldukça büyük bir pazar payına sahip olan deniz ürünleri endüstrisinin neden olduğu atıkları geri kazanmak, özellikle artan endüstrileşmenin ve nüfus yoğunluğunun bir sonucu olarak çevre kirliliğinin ve iklim değişikliklerinin büyük tehdit oluşturduğu bu günlerde üzerinde hassasiyetle durulması gereken bir konu olarak gündeme gelmektedir.

Birçok dünya ülkeleri arasında kabul görmüş olan bu büyük pazarın neden olduğu atıkları geri kazanarak yüksek katma değerli ürünlerin üretilmesi hem ekonomik açıdan hem de çevre kirliliği ve doğal döngü açısından oldukça büyük yarar sağlayacağı öngörülmektedir.

Bu amaçla kullanılan kitosan; karides, yengeç, kerevit, deniz yosunları ve birçok eklem bacaklıların ana maddesini oluşturan kitinden deasetilasyon yoluyla elde edilmektedir.

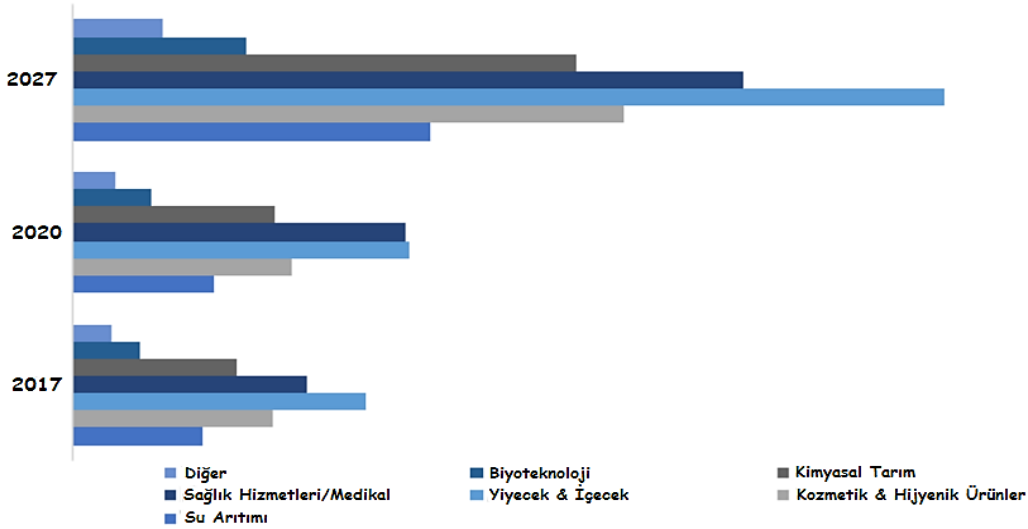
Global Kitosan Market, Kaynak (USD Milyon)



Şekil 2.4. Kitosan kaynaklarına ait (2017-2027) pazar payı [46]

Karides bazlı kitosan pazarı 2020’de 700 milyon ABD Dolarına ulaşmıştır. Gelişmekte olan ekonomilerde artan tüketici harcamaları ve endüstriyel çeşitlilik ile sağlık, biyoteknoloji, kimyasal tarım, kozmetik ve temizlik ürünleri, su arıtımı yanı sıra çevre dostu ambalaj malzemelerine olan ihtiyaç sebebiyle ambalaj sektöründe de kitosan bazlı ürünlerin kullanımında %15,5’in üzerinde bir büyüme öngörülerek bu değerin 2027 yılında 1,7 milyar ABD Dolarına ulaşması bekleniyor.

Global Kitosan Market, Son Kullanıcı (USD Milyon)

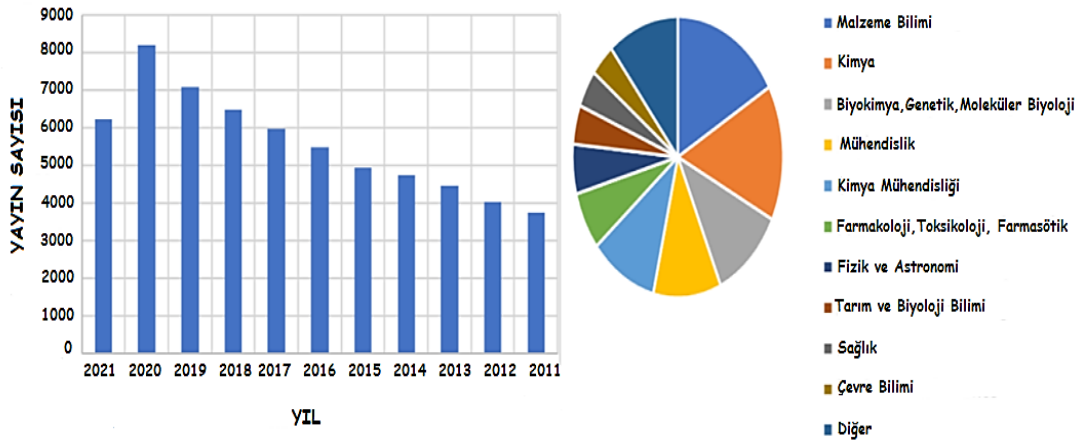


Şekil 2.5. Kitosan bazlı ürünlerin sektörel dağılımı (2017-2027) [46]

Artan dünya nüfusuyla önemli bir büyüme sergileyecek olan yiyecek/içecek sektöründe kitosan bazlı ürünlerin kullanımında 2021’den 2027’ye kadar %15’in üzerinde bir artış beklenmektedir. Kitosanın antimikrobiyal aktiviteleri ve film oluşturma yeteneğinden yararlanılarak gıda koruyucu / raf ömrünü arttırıcı

biyobozunur film ve kaplamaların kullanımı yanı sıra hipokolesterolemik özelliklerinden yararlanılarak diyet ürünlerinde ve gıda takviyelerinde kullanımı gittikçe yaygınlaşmaktadır. Özellikle ABD ve Avrupa gibi obezite ile mücadele eden ülkelerde kitosan bazlı ürünlere olan talebin yüksek artış göstereceği, bu artışın kitosan pazarının büyümesine katkı sağlayacağı beklenmektedir.

Doğal, yenilenebilir ve sıfır maliyete sahip bu eşsiz özellikli biyopolimer, son yıllarda birçok araştırmacı tarafından yakın takibe alınmış, 2011 - 2021 yılları arasında konuyla ilgili yayınlanan çalışma sayısı istikrarlı bir büyüme göstererek 60.000'i aşkın sayıya ulaşmıştır.



Şekil 2.6. 2011-2021 yılları arası yayınlanan kitosan konulu çalışma alanları ve yayın sayıları [47]

Her yıl yayınlanan makale ve patent sayısı, kitosanın büyüyen potansiyel ilgisini gözler önüne sermektedir. 2021 yılındaki yayın sayılarının, 2020 yılına kadar istikrarlı bir artış sergileyen yayın sayılarına kıyasla kısmen düştüğü gözlenirse de bu durumun, tüm dünyada baş gösteren ve laboratuvar çalışmalarının seyrini etkileyen COVID-19 salgınından kaynaklandığı bilinmektedir. Diğer yandan, kitosanın sahip olduğu potansiyelin ve nihai mekanizmasının hâlâ tam anlamıyla aydınlatılamaması, biyoteknolojik süreçlerin laboratuvar ölçeğiyle sınırlı olması gibi etkenler çalışma olanağını kısıtlamaktadır [47, 48].

Her şeye rağmen, bu eşsiz biyopolimer üzerinde yürütülen sistematik çalışma ve Ar-Ge yatırımlarıyla kitosan pazarındaki büyümenin önümüzdeki yıllarda da devam edeceği görülmektedir.



3. HİDROJELLER

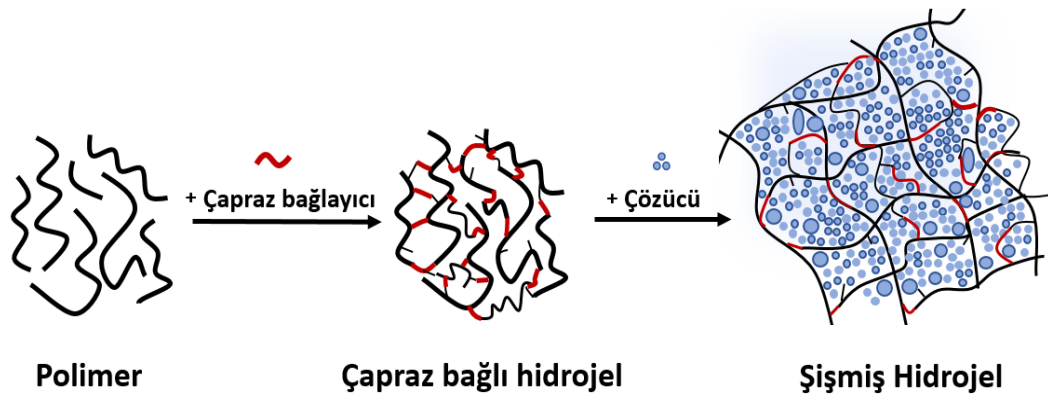
3.1. Hidrojellere Genel Bakış

Hidrojeller, yüksek oranda suyu bünyesine alarak “şişme” özelliği gösterebilen çapraz bağlı yapıdaki polimerlerdir. Sahip oldukları çapraz bağlar nedeniyle suda çözünmeyip şişebilen yani suyun büyük kısmını yapıları içerisine alabilen ve mevcut şekillerini muhafaza etme yeteneğine sahip sıvı-katı arasında bir faz gösteren üç boyutlu polimerik yapılardır [49-51].

Biyolojiden kimyaya, fizikten birçok biyomedikal alana kadar uygulama potansiyeli bulunan jeller, yapısında hem katı hem de sıvı bileşenler içerdiğinden maddenin 4. hali olarak tabir edilebilecek bir katı-sıvı arası özellik gösterebilen maddelerdir. Yapıdaki sıvı kısımlar jelin esneklik ve yumuşaklığını sağlarken, katı kısımlar sıvının akmasını engelleyerek jelin şekil ve mekanik dayanım kazanmasını sağlar [52-54].

Yapılarında -OH, -COOH, -NH₂, -CONHR, -SO₃H gibi su molekülleri ile hidrojen bağı yapabilen gruplar içerdiğinden, su içine konulduklarında çözünmeden kuru hacimlerinin birkaç bin katına kadar şişme özelliği sergilerler. Su ve su gibi polar çözücülerde şişme özelliği göstermeleri, esnek ve yumuşak yapıda olmaları nedeniyle de canlı dokularla oldukça uyumludurlar [49, 50].

Tipik bir polimerik hidrojin ağ yapısı Şekil 3.1’de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Polimer ağ yapıda faz geçişinin şematik diyagramı [55]

Hidrojeller, kimyasal yapılarına bağlı olarak ışık, sıcaklık, pH, elektrik ve manyetik alan, çözücü türü gibi dış uyarılara karşı faz geçişi şeklinde cevap verebilmekte ve bu özellikleri nedeniyle “smart jeller” olarak da bilinmektedir. Şişme derecelerinin bu

şekilde ayarlanabilir olması ve farklı ortam koşullarına uygun olarak farklı değerler alabiliyor olması, başta biyoteknoloji, ilaç salınımı, eczacılık, kimya, tarım ve uzay teknolojisi olmak üzere pek çok endüstriyel uygulamalarda kullanımlarına olanak sağlamış ve özellikle son yıllarda yoğun araştırma konusu olmalarına neden olmuştur.

Bu tür uygulamalara örnek olarak; istenmeyen ya da toksik metallerin, tekstil boyalarının, fenol gibi kanserojen türlerin içme ve kullanım sularından uzaklaştırılması (atık su arıtımı), yumuşak-sert kontakt lensler, yara-yanık örtüleri, yapay damarlar, yapay organlar, enzim destek materyalleri, ilaç etken maddelerinin denetimli salımı, bebek bezleri, sensörler, valfler, tarım ilaçlarının denetimli salımı sayılabilir [50, 52, 56].

Hidrojellerin sunduğu avantajlar şu şekilde sıralanabilir [57, 58]:

- Yüksek miktarda suyu bünyelerinde tutma, esnek ve yumuşak yapıda olma gibi canlı dokularla olan benzerlikleri onları biyouyumlu bir malzeme kılar.
- Biyolojik olarak parçalanabilme ve enjekte edilme özelliğine sahiptirler.
- Sıcaklık, pH, ışık, iyonik kuvvet, manyetik ve elektriksel alan vb. dış uyaranlara hızlı yanıt verme yeteneğine sahiptirler.
- Kontrollü salım sistemlerinde hedeflenen dokuya/bölgeye belirlenen miktarda ve sürede ilaç veya besinlerin salınımını gerçekleştirebilirler.
- Besin, oksijen gibi yararlı bileşiklerin geçişine imkân veren geçirgenliğe sahiptirler.
- Yumuşak ve şeffaftırlar.
- Toksisite değerleri düşüktür.

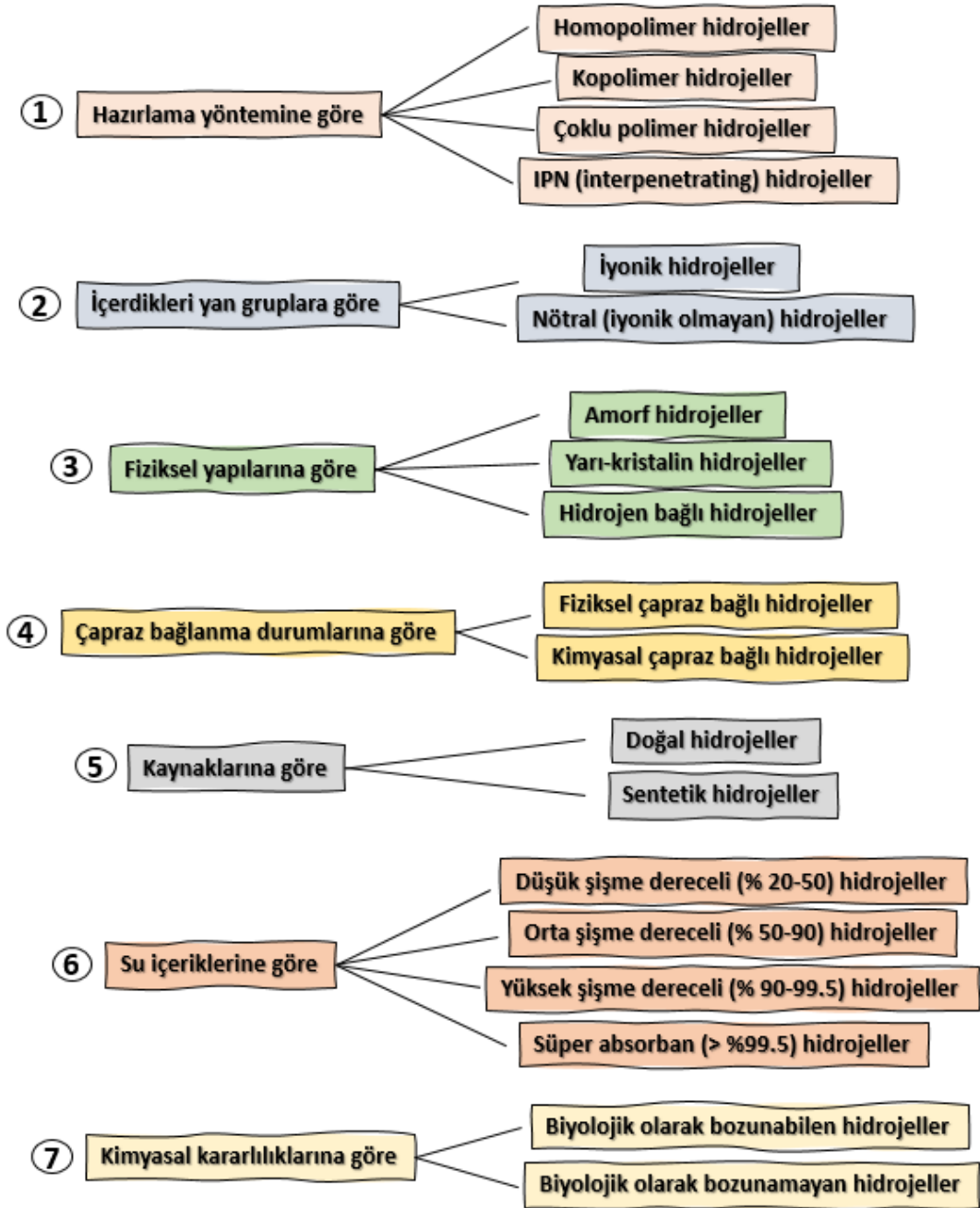
Sahip oldukları dezavantajlar ise;

- Yüksek maliyet,
- Sterilize etmedeki zorluk,
- İşlenmesi ve ilaç yüklenmesinde yaşanan zorluk ve
- Fiziksel dayanımlarının zayıf oluşu şeklinde sıralanabilir.

3.2. Hidrojellerin Sınıflandırılması

Hidrojelleri en genel şekliyle yapısal özelliklerine göre fiziksel ve kimyasal olarak sınıflandırmak mümkün olmakla beraber bu bölümde; hazırlanma yöntemine, içerdikleri yan gruplara, fiziksel yapılarına, çapraz bağlanma durumlarına, kaynaklarına, su içeriklerine ve kimyasal kararlılıklarına göre 7 başlık altında sınıflandırılarak incelenmiştir.

Tablo 3.1. Polimerik hidrojellerin sınıflandırılması

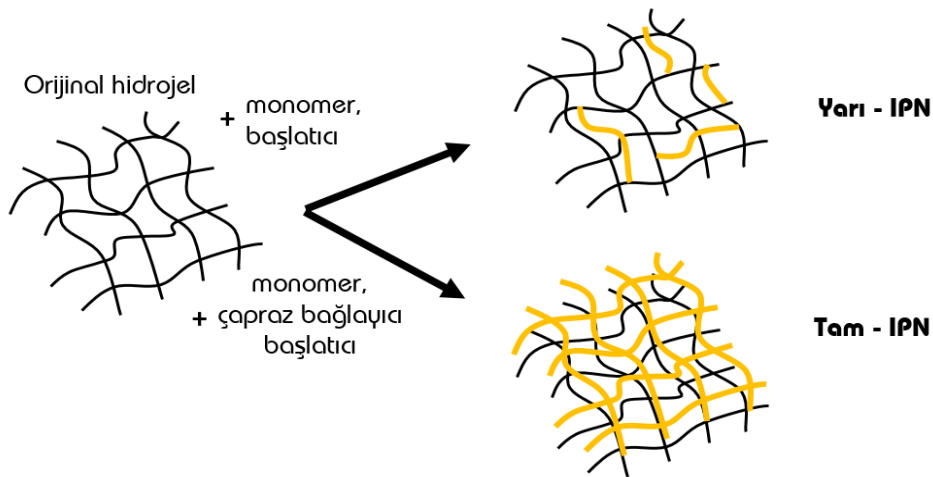


3.2.1. Hazırlanma yöntemine göre

Bu hidrojel sınıflandırması hazırlanma tekniğine bağlı olarak hidrojelleri oluşturan polimerlerin bileşimine göre yapılır.

Yapılarında tek bir monomer türü bulunduran polimerik yapılar homopolimerik jeller olarak adlandırılırken biri hidrofilik bileşene sahip olmak kaydıyla en az iki tür monomerin farklı konfigürasyonlarıyla (random, blok, alternatif) hazırlanan polimerik yapılar ise kopolimerik jeller olarak adlandırılır. Poli(2-hidroksietil metakrilat) (PHEMA) ve poli(3-hidroksi propil metakrilat) homopolimerik; poli(HEMA-ko-akrilik asit (AA)) ve poli(2-hidroksi etil metakrilat-ko-metilmetakrilat) kopolimerik jellere örnek verilebilir [59-62].

Yaygın uygulamaları bulunan ve hidrojellerin önemli bir grubunu oluşturan IPN (Interpenetrating networks - iç içe geçmiş polimerik ağlar) jeller, en az iki polimerik ağ yapının kombinasyonu ile oluşturulan yapılardır. Polimerik bileşenlerin birbiriyle uyumunu arttırarak jellerin mekanik dayanımını iyileştirmek için geliştirilen IPN'ler, monomerlerinden en az birinin çapraz bağlı olduğu ve en az bir bileşenin diğerinin varlığında sentezlendiği çoklu polimerik jellerdir. Poli(N-izopropil akrilamit-ko-akrilik asit-ko-2-hidroksi etil metakrilat) ve poli(sodyum akrilat-ko-NIPAAm) bu yapıya örnek verilebilir. Yarı-IPN olarak tabir edilen hidrojeller ise polimerlerden birinin çapraz bağ içerirken diğerinin çapraz bağlanmamış formda olduğu yapılardır [63-66].



Şekil 3.2. İç içe geçmiş ağ yapıdaki (IPN) hidrojeller [67]

3.2.2. İçerdikleri yan gruplara göre

Polimer zincirleri üzerinde, elektriksel yüklerinin bulunup bulunmama durumuna göre 4 kategoride sınıflandırılır [68]:

İyonik (anyonik veya katyonik) hidrojeller: Polimer zinciri üzerinde anyonik (negatif yüklü) veya katyonik (pozitif yüklü) grup bulunduran hidrojellerdir. Elektriksel yüklerin varlığından dolayı uygun pH ortamına bırakıldıklarında iyonize olan gruplar, polimer zincirleri arasında itme meydana getirerek çözücü moleküllerinin bu zincir aralarına girmesini kolaylaştırır ve jelin şişmesini sağlar. Zayıf asidik grupların varlığı yüksek pH’larda elektrostatik itme meydana getirerek jelin şişmesini sağlarken düşük pH’larda iyonize olmayan anyonik gruplar jelde bzlmeye neden olur. Katyonik jellerde ise düşük pH ortamında iyonlaşma ve elektrostatik itme artacağından, bu durum jellerin su absorplayabileceği gözenek alanını genişleterek şişme değerlerinde artışı sağlayacaktır [58, 67, 68].

İyonik olmayan (nötral) hidrojeller: İyonik hidrojellerin aksine zincir üzerinde veya yan gruplarında yüklü grup bulundurmeyen yüksüz haldeki hidrojellerdir. Elektrolit varlığından etkilenmediği için kararlı, fonksiyonel grup bulundurmadıkları için şişmeleri ortamın pH’ına duyarlı değildir. Dolayısıyla şişmeleri sınırlıdır. Poli(2–hidroksietil metakrilat), poli(akrilamid), poli(etilen glikol) nötral hidrojel hazırlamada kullanılan polimer örnekleridir [68-70].

Amfoterik hidrojeller: Polimer zinciri üzerinde hem anyonik hem de katyonik grupları aynı anda bulunduran hidrojellerdir. İçerdikleri bu grupların oranlarına göre farklı pH ortamlarında şişme veya büzülme davranışı sergilerler [58, 70].

Çift kutuplu (Zwitter) hidrojeller: Polimer zincirinin tekrarlanan her ünitesinde anyonik ve katyonik grupları bir arada bulunduran hidrojellerdir [67, 70].

3.2.3. Fiziksel yapılarına göre

Fiziksel yapıları ve kimyasal konfigürasyonlarına göre jel yapıları üç gruba ayrılabilir [71];

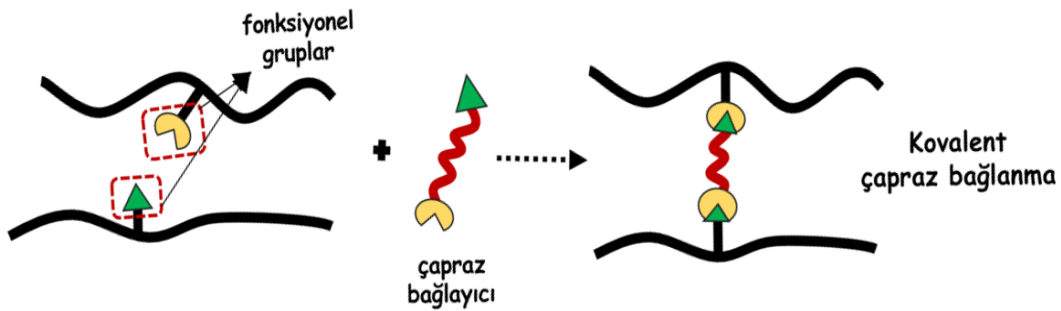
Amorf hidrojeller: Hidrojeli oluşturan moleküllerin rastgele sıralandığı, dışarıdan herhangi bir kuvvet uygulandığında şekillerini muhafaza edemeyip değişen bu kuvvet kaldırıldığında ise eski hallerine geri dönebilen yapılardır.

Yarı-kristalin hidrojjeller: Hidrojeli oluşturan moleküllerin büyük bir kısmının düzenli bir paterne sahip olduğu ve hem amorf hem kristalin fazları aynı anda içeren yapılardır.

Hidrojen bağı hidrojjeller: Yapılarında -OH, -COOH, -NH₂ gibi su molekülleri ile hidrojen bağı yapabilen gruplar içeren bu tür jeller, hidrokolloidal kümelenmelere ve süpermoleküler ağ yapılara sahiptir [49].

3.2.4. Çapraz bağlanma durumlarına göre

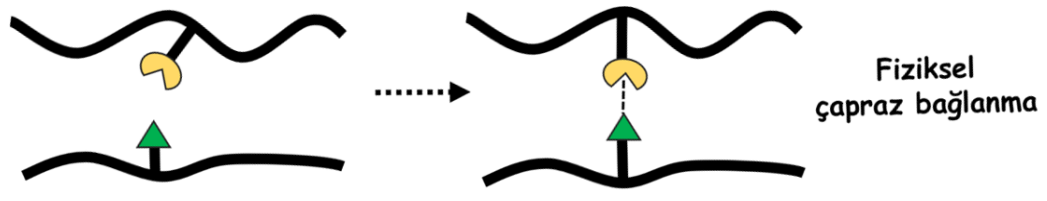
Hidrojjeller, çapraz bağlanma durumlarına göre fiziksel ve kimyasal jeller olarak iki grupta incelenir. Kimyasal hidrojjeller, monomer üniteleri ile bir çapraz bağlayıcının kovalent çapraz bağlarla çapraz bağlanma polimerizasyonu sonucu elde edilen jellerdir. Güçlü ve kararlı kovalent bağların olduğu bu tür jelleşmede molekül konfigürasyonunu değiştiren kimyasal işlemler meydana geldiğinden, oluşan jeller kalıcı ve geri dönüşümsüzdür. Genellikle aşırı koşullara veya bu bağların kırılmasını kolaylaştıracak katalizörlere maruz bırakılmadıkça, polimerik ağların herhangi bir çözücü ortamında çözünmesi mümkün değildir. Fiziksel jellere nazaran mekanik dayanımı daha iyi olan kimyasal jellerin içerdiği ve sitotoksositeye sebep olacak çapraz bağ kalıntıları bu sistemin dezavantajıdır. Gluteraldehit ve amin arasındaki Schiff bazı reaksiyonu ile elde edilen polimerik jeller, vinil monomerlerinin radikal polimerizasyonu ile elde edilen polimerik jeller, metilen bis akrilamit ile çapraz bağli poli(akrilamit) jelleri bu gruba örnek verilebilir [71-77].



Şekil 3.3. Kimyasal çapraz bağli hidrojjellerin şematik gösterimi [71]

Fiziksel hidrojjeller ise bir ‘sol-jel’ süreci olup iyonik etkileşimler, hidrojen bağları, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler, zincir agregasyonları gibi kararlı ancak kalıcı olmayan etkileşimler sonucu oluşan jellerdir. Bu tür bağlanmalar büyük ölçüde ortam sıcaklığına, pH’ına, ışık ve elektriksel alan gibi termodinamik parametrelere bağlıdır. Oluşan çapraz bağlantılar, kimyasal çapraz bağlantılar kadar

kuvvetli olmadığından bu termodinamik parametrelerdeki değişiklikler fiziksel bağların kırılmasına ve çözünmesine neden olabilmektedir. Mekanik dayanım olarak kimyasal jellere nazaran zayıf kalsalar da sentez sırasında çapraz bağlayıcıya olan ihtiyacı ortadan kaldırarak toksik olmayan jellerin elde edilmesi avantajına sahiptirler [72, 78-80]. Kitosan, alginat gibi doğal jeller bu gruba örnek gösterilebilir. Yanı sıra yüksek sıcaklığa maruz bırakıldığında termo-tersinir davranış sergileyerek bulutlu jellere dönüşen hidrokisipropil metilselülozun (HPMC) ortam sıcaklığı düşürüldüğünde şeffaf ve berrak bir çözeltiye geri dönmesi bu tür jellere örnek verilebilir [81]. Yapılan bir diğer çalışmada Sionkowska ve ark. (2015), tannik asitin UV ışına yoluyla kitosanın fotokimyasal stabilitesi üzerindeki etkisini araştırmış, tannik asit tarafından absorplanan UV ışığın polimer makromoleküllerini etkileyerek çapraz bağlanmaya olanak sağladığını bildirmiştir [82].



Şekil 3.4. Fiziksel çapraz bağlı hidrojenlerin şematik gösterimi [71]

3.2.5. Kaynaklarına göre

Hidrojel sentezinde kullanılacak polimerin kaynağına göre jeller, doğal ve sentetik olarak gruplandırılır. Kitosan, hyaluronik asit, alginat, jelatin, agar, dekstran gibi doğal hidrojenler biyobozunur ve non-toksik olması yanı sıra canlı vücuduyla biyoyumlu olmaları avantajlarından dolayı son yıllarda farmakolojik ve biyomedikal alanlarda oldukça ilgi görmektedir [83, 84].

Poli(vinil alkol) PVA, polietilen glikol (PEG), Akrilik asit (AAc), akrilamid (AAM), N-isopropilakrilamid (NIPA), 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) gibi yaygın kullanılan sentetik hidrojenlerin doğada bozunma süreleri oldukça uzun olduğundan ekolojik olarak çevreye ciddi zararlar vermektedir [85]. Diğer yandan doğal hidrojenlere nazaran termal ve mekanik özelliklerinin iyi olması, yüksek su tutma kapasiteleri ve uzun ömürlü olmaları gibi avantajları sebebiyle tercih edilmektedir [86, 87].

Hidrojel sentezinde yaygın kullanılan doğal ve sentetik kaynaklı polimerler [58, 84, 88-90] ve bu polimerlerin kombinasyonuyla hazırlanan yapılar [54, 83, 91, 92] Tablo 3.2-3.4’de yer almaktadır.

Tablo 3.2. Hidrojel sentezinde yaygın kullanılan doğal polimerler

Anyonik polimerler	Hyaluronik asit, Pektin, Alginik asit, Karragenan, Dekstran sülfat
Katyonik polimerler	Kitosan, Polilisin
Amfipatik polimerler	Kollajen, Jelatin, Fibrin, Karboksimetil kitin
Nötr polimerler	Dekstran, Agaroza

Tablo 3.3. Hidrojel sentezinde yaygın kullanılan sentetik polimerler

Poliesterler	PEG-PLA-PEG, PLA-PEG-PLA, PLGA-PEG-PLGA, PHB, P(PF-ko-EG), P(PEG/PBOterefitaley)
Diğer polimerler	P(MMA-ko-HEMA),PEG bis-(PLA-akrilat), PEG-g-P(AAm-ko-Vamin), PEG+/-CDs PAAm, P(NIPAAm-ko-AAc), P(NIPAAm-ko-EMA), PVAc/PVA, PNVP, P(biskarboksi, fenoksi, fosfazen) P(AN-ko-alil sülfonat), P(GEMA-sülfat)
Sentetik monomerler	Akrilik asit (AAc), Metakrilik asit (MAAc), Vinilasetat (VAc), Hidroksietil metakrilat (HEMA), N-izopropil akrilamid (NIPAAm)

Tablo 3.4. Hidrojel sentezinde yaygın kullanılan doğal ve sentetik polimerlerin kombinasyonu

P(PEG-ko-peptitler), alginat-g-(PEO-PPO-PEO), kitosan-g-(PEO-PPO-PEO), P(PLGA-ko-serin), P(HPMA-g-peptit), kollajen-akrilat, alginat-akrilat

3.2.6. Su içeriklerine göre

Polimerik hidrojellerin en önemli özelliği şişme kapasiteleri ve elastisite özellikleridir. Bu özellikler, jellerin çapraz bağ yoğunluğuna, çapraz bağlayıcının ve polimerin kimyasal yapısına, bulundukları ortama doğrudan bağlıdır.

Su içine konulduklarında çözünmeden kuru hacimlerinin birkaç bin katına kadar şişme özelliği sergileyen hidrojeller, şişme kapasitesine göre düşük, orta, yüksek ve süper-absorban hidrojeller olarak sınıflandırılabilir [93, 94].

Tablo 3.5. Su içeriklerine göre hidrojeller

Şişme Derecesi	Şişme Kapasitesi (%)
Düşük	20-50
Orta	50-90
Yüksek	90-99,5
Süper-Absorban	> 99,5

Jellerin şişme oranları hesaplanırken, hacimce (qv) ve ağırlıkça (qw) olmak üzere iki tip şişme oranı kullanılır [49, 93]:

Hacimce şişme oranı (qv), maksimum şişme derecesine ulaşan jel hacminin kuru jelin hacmine oranıdır.

$$qv = \frac{\text{Şişmiş jelin hacmi}}{\text{Kuru jelin hacmi}} = \frac{V}{V_{kuru}} \quad (3.1)$$

Ağırlıkça şişme oranı (qw), maksimum şişme derecesine ulaşan jel ağırlığının kuru jelin ağırlığına oranıdır.

$$qw = \frac{\text{Şişmiş jelin ağırlığı}}{\text{Kuru jelin ağırlığı}} = \frac{m}{m_{kuru}} \quad (3.2)$$

3.2.7. Kimyasal kararlılıklarına göre

Bir hidrojinin sergilediği bozunma davranışı; ortam koşulları, enzim türü ve konsantrasyonu gibi birçok etkene bağlı olarak yüzey üzerinde veya çapraz bağlı ağlar arasında zamana bağlı olarak gerçekleşen evrimi ile ilişkilidir. Çeşitli test yöntemleri ile bozunma davranışları karakterize edilen hidrojellerin bozunma hızları, ilaç salımı,

medikal ve doku mühendisliği başta olmak üzere birçok uygulamada çok önemli bir veridir [95].

Bakteri, mantar ve yosun gibi yaşayan mikroorganizmaların etkisi ile kimyasal olarak bozunabilen/parçalanabilen hidrojel­ler ‘biyobozunur hidrojel­ler’ olarak adlandırılırken, mikroorganizmalara karşı kararlılık göstererek bozunmayan/parçalanmayan hidrojel­ler ‘biyobozunmaz hidrojel­ler’ olarak adlandırılır. Kitosan, fibrin ve agar gibi doğal kaynaklı polimerler yanı sıra poli(aldehit guluronat), polianhidritler ve poli(N-izopropil akrilamid) gibi sentetik polimerler biyolojik olarak parçalanabilen hidrojel­lerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. 2-hidroksil etil metakrilat, 2-hidroksil propil metakrilat, metoksil poli(etilen glikol), ve akril amid gibi çeşitli vinilleştirilmiş monomerler biyolojik olarak parçalanamayan hidrojel­lerin hazırlanmasında kullanılmaktadır [96, 97].

3.3. Hidrojel­lerin Sentezi

En basit haliyle hidrojel sentezi, monomerlerin bir reaksiyon başlatıcı ve çapraz bağlayıcı varlığında uygun koşullar altında karıştırılarak çapraz bağlı polimerik zincirlerin oluşturulması esasına dayanır.

Hidrojel­ler, hidrofilik karaktere sahip polimerik ağlardır. Bu hidrofilik karakterleri yapılarında bulunan –OH, –COOH, –CONHR, –SO₃H, –NH₂ gibi su molekülleri ile hidrojen bağı yapabilen grupların varlığından kaynaklanmaktadır. Jelin sahip olduğu şekil kararlılığı ve çözücü içerisinde çözünmeden şişebilme özelliği ise çapraz bağlı polimer zincirlerinin oluşturduğu üç boyutlu ağ yapının varlığından kaynaklanmaktadır. Hidrojel zincirleri arasındaki bu çapraz bağlanma; kimyasal (kovalent) ve fiziksel bağlarla oluşturulabildiği gibi her iki yöntemin bir arada kullanılmasıyla (çift çapraz bağlı yapılar) oluşturulabilir.

Fiziksel metotta; hiçbir reaktif grup, çapraz bağlama maddesi veya bir fotobaşlatıcının gerekmediği çeşitli iyonik etkileşimler, ısıtma-soğutma işlemleri veya agregasyonlarla çapraz bağlı yapıların olduğu sistemdir. Dolayısıyla dış ortamdaki değişiklikler ve fiziksel etkileşimler ile jeller tersine çevrilebilir, hidrojel ağlarının bozulmasına neden olabilir [49].

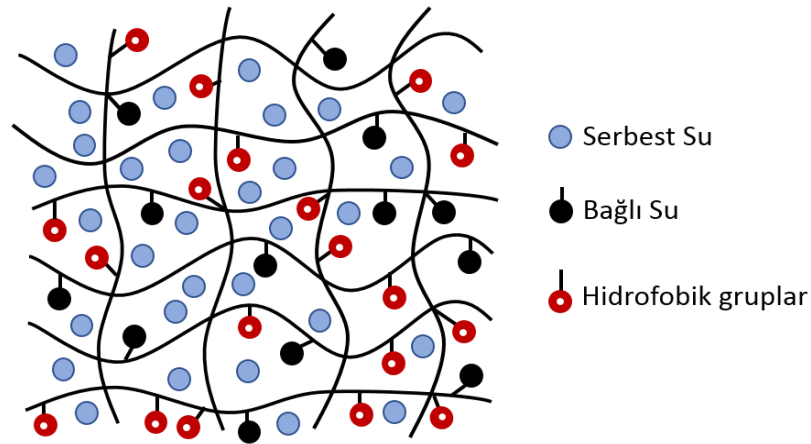
Kimyasal metotta, polimer zincirlerinin arasındaki bağların çapraz bağlayıcı bir ajan veya bir fotobaşlatıcının varlığında kurulduğu sistemlerdir. Çapraz bağlanma için

gerekli olan yardımcı bileşenler toksisiteye neden olabileceğinden ilave saflaştırma adımları gerektirebilmektedir [71].

Hidrojel hazırlanmada doğal, sentetik ve her ikisinin kombinasyonu olan çok çeşitli polimer türleri kullanılmaktadır. Hidrojel hazırlamada en yaygın kullanılan polimer ve monomerler Tablo 3.2-3.4’de verilmiştir. Sentezlenecek hidrojel yapıların; şişme, mekanik ve yüzey özellikleri yanı sıra biyobozunurluk, biyouyumluluk ve duyarlılık gibi birçok özgün özelliği tercih edilen polimerin türü ve bağlı olan fonksiyonel grupların, çapraz bağlayıcı türü ve konsantrasyonun, işlem parametrelerinin vs. değiştirilmesiyle arzu edilen uygulamalara göre düzenlenebilmektedir [58, 67, 98].

3.4. Hidrojellerin Şişme Davranışları

Polimerik hidrojellerin en belirleyici karakteristik özelliği kuşkusuz şişme/büzülme yetenekleridir. Yapılarında bulunan $-OH$, $-COOH$, $-CONHR$, $-SO_3H$, $-NH_2$ gibi su molekülleri ile hidrojen bağı yapabilen hidrofilik gruplar sayesinde kendi ağırlıklarının binlerce katı kadar şişebilme özelliği sergilerler. Çözücü ortamına bırakılan jellerin çözünmeden şişebilmesi, çapraz bağlı polimer zincirlerinin oluşturduğu üç boyutlu ağ yapının varlığından kaynaklanmaktadır. Çözücü, bu ağ yapıya girerek polar gruplar tarafından tutulur ve polimer zincirlerinin yavaş yavaş birbirinden uzaklaşmasını sağlar. Polar gruplarca tutulan bu suya “primer bağlı su” denir. Polar grupların su ile etkileşimi devam ettikçe hidrojel yapı şişmeye devam eder ve git gide hidrofobik grupların çevresi su molekülleri ile çevrilmeye başlar. Bu suya da “hidrofobik olarak bağlı su” veya “sekonder bağlı su” denir. Primer ve sekonder bağlı suyun tamamı ise “toplam bağlı su” olarak tanımlanır [49, 93, 99].



Şekil 3.5. Çözücü ortamındaki hidrojellerde suyun konumu [93]

Jelin içine nüfuz eden su molekülleri, belli bir noktadan sonra elastik direnç denilen ağ yapıdaki çapraz bağlayıcıların direnciyle karşılaşır. Şişmeyi ters yönde etkileyen bu elastik direnç ile şişme lehine hareket eden ozmotik basınç kuvvetinin eşitlendiği an şişmenin maksimum değerine ulaştığı andır. Herhangi bir t anında hidrojellerin absorpladığı su miktarı aşağıdaki eşitlikle ifade edilir [100]:

$$Q = \frac{W_s - W_0}{W_0} \quad (3.3)$$

Q : Belirli bir zaman aralığında 1 gram kuru jel başına emilen su miktarı

W_s : Şişmiş jel numunesinin t anındaki ağırlığı

W_0 : Kuru jel numunesinin ağırlığı (başlangıç)

Maksimum şişme değerine ulaşan hidrojellerin denge anındaki su içeriği (DSİ) aşağıdaki eşitlikle ifade edilir [101]. m_d ; hidrojin denge anındaki ağırlığı, m_0 ; başlangıç anındaki kuru ağırlığıdır.

$$DSİ = \frac{m_d - m_0}{m_0} \times 100 \quad (3.4)$$

Polimerik jellerin şişme özelliklerinin ve şişme oranlarının değerlendirilmesi; çapraz bağlanma dereceleri, mekanik özellikleri, bozunma özellikleri, uygulama alanının belirlenebilmesi vb. hakkında tahmin yürütme imkanı sağlar [49, 63, 102].

3.4.1. Hidrojellerin şişmesini etkileyen faktörler

Polimerik hidrojellerin su absorplama kapasitelerini etkileyen en önemli unsur, yapıdaki fonksiyonel grupların birbiri ve çözücü molekülleri ile olan etkileşimidir. Hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri, zincirler arası itme ve çekme kuvvetleri, iyonik ve hidrofobik etkileşimler vb. yanı sıra sentez sırasında kullanılan başlangıç monomer konsantrasyonu, çapraz bağ oranı, iyonik komonomer konsantrasyonu, dış çevre koşulları (sıcaklık, pH, ışık, vb.) gibi parametreler jellerin şişme veya büzülme davranışını doğrudan etkilemektedir. Bu parametreler ayarlanarak arzu edilen özelliklerde hidrojeller tasarlanabilir [49].



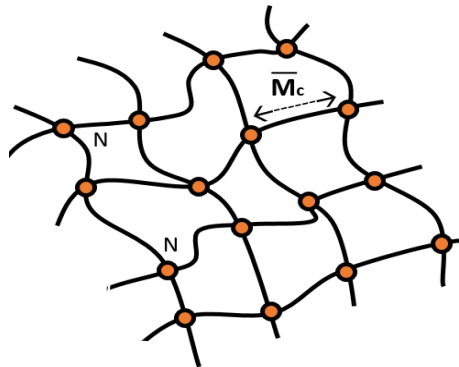
Şekil 3.6. Çeşitli uyarılara karşı şişme / büzülme davranışı sergileyen hidrojel örneği [103]

Hidrojellerin şişmesini etkileyen başlıca faktörler ;

Polimerin kimyasal yapısı: Polimer yapı içerisinde bulunan hidrofilik ve hidrofobik gruplar hidrojellerin şişme oranını etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Yapıdaki hidrofilik gruplar ne kadar fazlaysa jelin şişme oranı o kadar fazla olacaktır.

Başlangıç monomer konsantrasyonu: Monomer konsantrasyonundaki artış, yapı içerisinde çözücüye absorplayacak gözenek boyutlarının azalmasına sebep olacağından şişme oranını azaltacaktır.

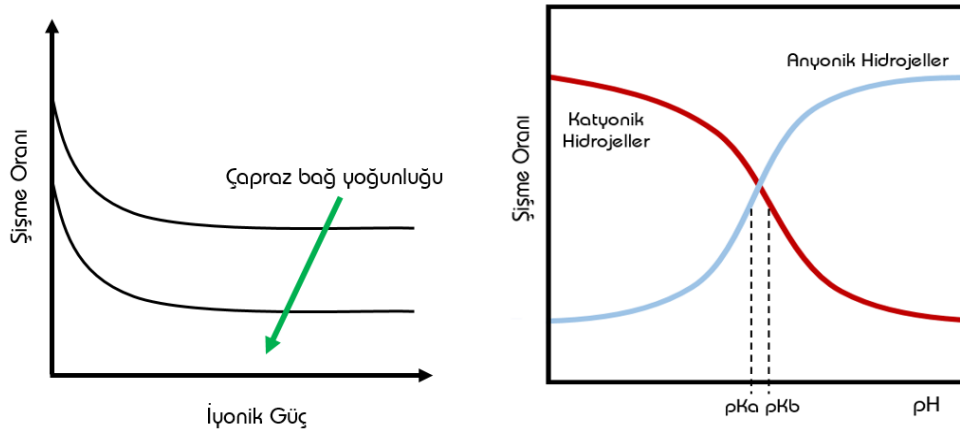
Çapraz bağ konsantrasyonu: Bir hidrojel yapı içerisinde bulunan çapraz bağlayıcı konsantrasyonunun, tekrarlanan monomer biriminin konsantrasyonuna oranı çapraz bağlanma oranı olarak tanımlanır.



Şekil 3.7. Bir hidrojinin çapraz bağ yapısının şematik gösterimi

M_c , fiziksel veya kimyasal birleşme sonucu oluşan iki çapraz bağlanma noktası (•) arasında bulunan polimer zincirinin ortalama molekül ağırlığını, N ise çapraz bağ noktaları arasındaki polimer zincirinde tekrar eden birim sayısını ifade etmektedir. Çapraz bağ yoğunluğu arttıkça (yani M_c ve N azaldıkça) zincir hareketliliği kısıtlanır ve yapı daha sıkı bir hal alır. Polimer zincirlerinin birbirlerinden uzaklaşabilecekleri mesafenin git gide azalması gözenek boyutlarının da azalmasına dolayısıyla şişme oranının düşmesine neden olur. Çapraz bağlanma oranını optimum seviyelere ayarlayarak hem mekanik dayanımı güçlü hem de elastik özelliğe sahip yumuşak jeller elde etmek mümkündür [104, 105].

İyonik komonomer konsantrasyonu ve pH: Uygun pH ortamına bırakılan hidrojellerin ağ yapılarında bulunan iyonik gruplar ve bu grupların konsantrasyonundaki artış aralarında itmenin oluşmasına, ağ yapının genişlemesine ve çözücü moleküllerinin genişleyen bu yapıya daha rahat nüfuz etmesine yol açar. Bu sayede daha fazla çözücüyü absorplayan hidrojeller daha yüksek şişme değerine ulaşırlar.



Şekil 3.8. İyonik hidrojellerin iyonik konsantrasyon ve pH değişimine bağlı sergilediği şişme davranışları

pH'a duyarlı jellerde iyonik grupların iyonlaştığı kritik bir pK_a ve pK_b değeri vardır. Zayıf asidik gruplar içeren hidrojeller, bazik ortamlarda yani asidik grupların iyonlaştığı pK_a değerlerinin üzerindeki pH'larda yüksek oranda şişerler. pK_a değerlerinin altındaki pH'larda ise iyonize olmayan anyonik gruplardan dolayı çok az şişerler veya büzülme davranışı sergilerler.

Benzer şekilde bazik gruplar içeren hidrojel, asidik ortamlarda yani bazik grupların iyonlaştığı pKb değerlerinin altındaki pH'larda daha çok şişerler, pKb değerinin üstündeki pH'larda ise daha az şişme veya büzülme davranışı sergilerler [104-107].

3.4.2. Hidrojellerin şişme kinetiği ve difüzyon mekanizması

Çözücü ortamına bırakıldığı andan denge şişme değerine ulaşıldığı ana kadar geçen süre, hidrojellerin birim zamandaki şişme hızını gösterir. Şişme davranışı sergileyen çapraz bağlı polimerlerin zamana bağlı şişme eğrilerinin oluşturulması, şişme kinetiğinin ve difüzyon mekanizmasının açıklanmasında son derece önemlidir. Hidrojellerin absorpsiyon davranışlarının modellenmesinde yaygın olarak kullanılan Fickian difüzyon modeli, aşağıda verilen ikinci mertebeden kinetik eşitlik ile açıklanır [108-110].

$$\frac{dS}{dT} = k_s (S_{eq} - S)^2 \quad (3.5)$$

dS/dT : şişme hızı

k_s : şişme hız sabiti

S_{eq} : denge anındaki şişme değeri

S : t anındaki şişme değerini ifade etmektedir.

Eşitliğin integrali alındığında $t = 0$ için $S = 0$, $t = t_{eq}$ için $S = S_{eq}$ matematiksel düzenlemelerin ardından aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$\frac{t}{S} = \alpha + \beta t \quad (3.6)$$

S : t anındaki ağırlıkça yüzde şişme oranı

α : başlangıç şişme hızının ve şişme hız sabitinin (k_s) tersini veren sabit

$$(\alpha = 1 / (S_{eq}^2 \cdot k_s))$$

β : denge şişme derecesinin tersini veren sabit ($1 / S_{eq}$)

Eşitlikler düzenlendiğinde;

$$t/S = 1 / (S_{eq}^2 \cdot k_s) + (1 / S_{eq})t \quad (3.7)$$

ifadesi elde edilir. t anındaki % şişme değerlerinden yararlanılarak hesaplanan t/S değerlerinin t'ye karşı grafiği çizildiğinde doğrusal bir eğrinin oluştuğu görülür. Bu doğrunun eğiminden yararlanılarak şişme hız sabiti, k_s hesaplanır. Ancak bu şişme başlangıç fazının açıklanmasında yeterli değildir. Şişme mekanizması sıfırıncı mertebeden ilerler ve aşağıda verilen Fick yasası eşitliği ile ifade edilir.

$$F = \frac{M_t}{M_d} = k \cdot t^n \quad (3.8)$$

Eşitlikte yer alan F; hidrojin t anında absorpladığı çözücü miktarının denge anında absorpladığı çözücü miktarının oranı, M_t ; t anındaki absorplanan çözücü miktarı, M_d ; denge anındaki absorplanan çözücü miktarı, t; difüzyon süresi, n; difüzyon üsteli ve k; polimerin yapısına göre değişen karakteristik bir sabiti ifade etmektedir. Bu eşitliğin logaritması alınarak difüzyon üsteli, n hesaplanır.

$$\log F = \log k + n \cdot \log t \quad (3.9)$$

'n' değeri, çözücünün %60'lık kısmının ağ yapıya girdiği ($F < 0,60$) ve henüz şişmenin dengeye ulaşmadığı zaman aralığında $\log (F)$ değerine karşılık çizilen $\log (t)$ grafiğinin eğimi ile hesaplanır ve difüzyon mekanizması belirlenir [111-113].

Tablo 3.6. Difüzyon üsteli (n) ile difüzyon mekanizmasının ilişkisi [114]

Difüzyon Üsteli, n	Difüzyon Mekanizması
$n \leq 0,5$	Fick Tipi Difüzyon
$0,5 < n < 1$	Fick Tipi Olmayan Difüzyon
$n \geq 1$	Süper Durum Difüzyonu

Bir hidrojel ağ yapının içerisine suyun girmesi ile polimer yapının gevşeme hızı Rgevşeme, suyun ağ yapıya girme hızı ise Rdifüzyon olarak ifade edilir. Bu iki parametrenin aldığı değere göre hidrojin şişme hızı belirlenir.

** Fick tipi difüzyon ($n \leq 0,5$)*

Bu difüzyon türünde hidrojelın şişme hızını difüzyon hızı belirler ve çözücünün hidrojele olan difüzyon hızı (Rdifüzyon), polimer zincirlerin gevşeme hızından (Rgevşeme) daha yavaştır.

** Fick tipi olmayan difüzyon ($0,5 < n < 1$)*

Fick tipi difüzyonun aksine bu difüzyon türünde, çözücünün difüzyon hızı (Rdifüzyon) polimer zincirlerin gevşeme hızından (Rgevşeme) daha hızlıdır. Burada şişme hızını Rgevşeme yani relaksasyon hızı belirler.

** Süper durum difüzyonu ($n \geq 1$)*

Difüzyon üstelinin 1 ve 1'den daha büyük olduğu bu difüzyon türünde çözücünün difüzyon hızı ve polimer zincirlerin gevşeme hızı, şişme hızı üzerinde aynı etkiye sahiptir.

Şişme davranışı sergileyen bir polimerik yapının, şişme kinetiğinin ve difüzyon mekanizmasının matematiksel modellemeler yardımıyla açıklanması, sentezlenecek hidrojellerin farklı ortam koşullarında sergileyeceği davranışların ve uygulama alanlarının belirlenmesinde oldukça önemli bir husustur.

3.5. Hidrojellerin Kullanım Yerleri

1960'lı yıllarda kontakt lenslere uyum sağlayacak malzeme arayışına giren Witcherle ve Lim, ilk sentezlenen hidrojel olan poli(2-hidroksietil metakrilat) (pHEMA)'ı sentezleyerek bu alanda öncü bir çalışma ortaya koymuşlardır [115]. O tarihlerden bu yana sahip oldukları birçok eşsiz özellik ve avantajlarıyla hidrojeller; kimyadan tarıma, eczacılıktan gıdaya, kozmetikten teknolojik sistemlere kadar uzun yıllardır çeşitli uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır.

Yüksek miktarda suyu bünyelerinde tutma, esnek ve yumuşak yapıda olma gibi canlı dokularla oldukça uyumlu özellikler sergilediklerinden son yıllarda yara ve yanık örtülerinde, doku onarımlarında, kontakt lenslerde vb. uygulamalarda kullanımı önem kazanmaktadır.

Yara ve Yanık Tedavisi: Hidrojeller, 1980'li yıllarda Yannas ve arkadaşlarının doğal polimerleri kullanarak hidrojel yara örtüsü üzerine ilk başarılı denemelerini gerçekleştirmesinden günümüze kadar yara ve yanık tedavilerinde yaygın olarak

kullanılmaktadır. Yüksek su içeriği, su buharı ve oksijen geçirgenliği sayesinde sorunlu bölgenin nemli kalmasını sağlarken yüksek absorpsiyon özellikleri sayesinde de eksudayı ilgili bölgeden uzaklaştırmayı kolaylaştırır. Ağrı kesici ve serinletici etkinin yanı sıra yara bölgesinden kolaylıkla temizlenebilme ve ölü dokunun hızla onarılmasını sağlama avantajlarına sahiptir. Kitosan ve alginat hidrojeller, poliüretan hidrojeller yara ve yanık tedavilerinde en yaygın kullanılan hidrojel örtülerdir [116-119].

Kontrollü İlaç Salım Sistemleri: Son yıllarda uyarıcıya duyarlı hidrojeller; ilaçların veya tedavi edici ajanların istenilen etkiyi, etkinin görülmesi istenilen bölgede sunabilen mükemmel bir dağıtım sistemleri olarak ilgi görmektedir. Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan hidrojeller; sıcaklık, pH, elektriksel alan, UV ışığı gibi faktörlerin etkisiyle önceden belirlenen dozlarda ve belirli zaman aralıklarında ilacın vücuda salınarak hedef dokuya ulaşmasını sağlarlar. Bu sayede yeterli oranda ilaç dozunun ayarlanabilmesi ve sürekliliğinin korunabilmesi, hedeflenen bölgeye ilacın doğrudan iletimi ile zararlı etkilerin azaltılması, kısa yarılanma ömrüne sahip ilaçların etkinliğinin artırılması sağlanabilmektedir [120, 121].

Kontakt Lensler ve Gözyaşı Damlaları: Hidrojeller, sahip olduğu iyi mekanik dayanım, yüksek su buharı ve oksijen geçirgenliği, esneklik, nemli ve yumuşak yüzey, uygun kırılma indisi gibi emsalsiz özellikleriyle uzun yıllardır kontakt lens uygulamalarında tercih edilen malzemelerdir. Poli(metil metakrilat) (pMMA), gliseril metakrilat (GMA), N-vinilpirolidon (NVP) ve poli(2-hidroksietil metakrilat) (pHEMA) kontakt lenslerde yaygın kullanılan polimerik malzemelerdir. Hidrojellerin bir diğer kullanım alanı da tedavi maksatlı kullanılan göz damlalarıdır. Hidrojel gözyaşı damlaları, göze uygulandığında gözdeki sıcaklığın etkisiyle seyreltilerek akışkan bir hale gelir. Göz ortamının nemli ve yumuşak kalmasını sağlayarak göz kuruluşunun tedavisini sağlar [122-125].

Doku Mühendisliği: Son yıllarda çeşitli hastalık veya bir kaza sonucu doku veya organ kaybı yaşayan hasta sayıları hızla artmakta, tedavi amaçlı yapılan uygulama ve ameliyatların ülke ekonomisine olan maliyeti 400 milyar doları aşmaktadır. Yanı sıra uygun donör bulamama sıkıntısıyla yaşanan hasta kayıpları bu alanda alternatif çözümler getirmeyi gerekli kılmaktadır.

Hidrojellerin doku mühendisliği uygulamalarında kullanımı rejeneratif tıpta önemli bir gelişmedir. Hidrojeller, biyouyumlulukları sayesinde canlı vücudundaki organ ve çevre dokulara zarar vermeden veya istenmeyen etkileri tetiklemeden doku ve organ fonksiyonlarının yenilenmesini, biyolojik ikamelerle iyileştirilmesini, hücreleri organize ederek gerekli dokulara biyoaktif madde dağıtımının gerçekleşmesini sağlarlar. Doku mühendisliğinde yaygın kullanılan sentetik malzemelere poli(vinil alkol), poli(etilen oksit), poli(akrilik asit) ve polipeptitler örnek olarak verilirken, doğal malzemelere ise kitosan, alginat, kollajen, fibrin ve hyaluronik asit örnek gösterilebilir [122, 126-128].

Kumar [129] çalışmasında, doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere biyolojik olarak parçalanabilen, hücre ve doku büyümesini destekleyebilen fenilboronat içerikli polivinil alkol (PVA) hidrojel iskelelerin üretilmesine dair bir yöntem açıklamaktadır.

Blanchard ve ark. [130], insan saç ve tırnaklarından kolaylıkla ekstrakte edilebilen bir biyopolimer olan keratinin, hücre ve doku büyümesini uyararak hasarlı dokunun onarımında görevli keratin esaslı hidrojel iskelelerin geliştirilmesine dair bir yöntem bildirmişlerdir. Bir sistein dimeri olan ve immünojenik olmayan keratinlerin, hücre bağlanması için hücre dışı bir substrat işlevi görerek hücre büyümesini ve gelişimini destekleyebileceği düşünülmektedir .

Temizlik ve Kişisel Bakım Ürünleri: Son yıllarda, kendi kuru ağırlığının 20 katından fazla suyu veya biyolojik sıvıyı absorplama ve bünyesinde tutma yeteneğine sahip olan süper absorban hidrojellere olan ilgi kayda değer oranda artmıştır. Bu hidrojeller bebek ve hasta bezleri, kişisel bakım ürünleri, peçete ve temizlik ürünleri gibi birçok alanda yaygın kullanıma sahiptir [131].

Süper absorban hidrojeller; cildi nemden uzak tutarak mikropların kolonizasyonunu önleme, cilt sağlığını koruma, pişik oluşumunu önleme ve kullanıcıya rahat bir uygulama sağlama gibi mükemmel özellikleri sayesinde özellikle biyomedikal alanlarda tercih edilirler. Bu hidrojeller ile su tutma performanslarının iyileştiği, sızıntı değerinin %2'nin altında olduğu bebek/hasta bezlerini geliştirmek mümkün hale gelmiştir. Yanı sıra tek kullanımlık kadın hijyen ürünleri, hastane temizlik ekipmanları, kozmetik süngerler, toz bezleri, peçeteler ve benzeri ürünlerin yapımında da hidrojeller sıklıkla tercih edilmektedir [122, 132, 133].

Diğer Uygulamalar: Hidrojeller tüm bu uygulamaların yanı sıra kemik hastalıkları tedavisinde, yapay organ [134, 135], yapay safra ve yemek borusu [136], yapay deri, yapay kıkırdak [137] yapımı, yapay ses teli eldesi [138] gibi biyotıp uygulamalarında, kornea cerrahisinde [128, 139], kateterler, yaygın biyomedikal ve farmasötik uygulamalarda [92], enzim ve hücre immobilizasyonunda [136], kıvam arttırıcı olarak gıda endüstrisinde [140] kullanım olanağı sunmaktadır.

Bünyelerinde yüksek biyolojik sıvı tutma kapasiteleri ve ışık, sıcaklık, pH, manyetik ve elektriksel alan gibi uyaranlara hızlı cevap verebilme yetilerinden dolayı antitümör ve antibiyotik türü ilaçların kontrollü salımında, gübre ve tarım ilaçlarının kontrollü salımında, susuz tarım uygulamalarında, biyosensör teknolojilerinde kullanım alanına sahiptirler [141-143]. Yanı sıra cilt testlerinde test alerjeninin salımında kullanılarak tahriş riskini azaltırlar. Metil selüloz hidrojelleri buna örnek verilebilir [24].

Temiz su kaynaklarına olan ihtiyacın elzem bir hal aldığı bu günlerde evsel ve endüstriyel atıksuların geri kazanılmak üzere arıtılması önemli bir araştırma konusu olmuştur. Bu alanda akrilamid/maleik asit veya akrilamid/itakonik asit gibi hidrojellerden faydalanılarak atık suların boyarmadde ve ağır metallerden uzaklaştırılması, yağ ve petrol içerikli atıkların saflaştırılması sağlanmaktadır [144, 145].

Son yıllarda araştırmacıların üzerinde durduğu ve giderek önem kazandığı bir diğer hidrojel uygulama, kimyasal enerjinin mekanik işe dönüştürüldüğü ‘kemo mekanik sistemler’ dir. Bu sistemlerde hidrojellerin dış uyaranlara cevap vererek genleşme/büzülme davranışı sergileme yetilerinden faydalanılarak, konvansiyonel cihazların yetersiz kaldığı denizaltı ve uzay gibi alanlarda güç üretilmesini sağlamada kullanılmaktadır [24].

Görülüyor ki bu ve benzeri sayısız uygulamalarda hidrojellerin kullanım alanları her geçen gün genişlemekte, günlük yaşantımızda hidrojellerle karşılaşma olasılığımız giderek artmaktadır.

4. KİTOSAN HİDROJELLER

4.1. Kitosan Esaslı Hidrojellerin Hazırlanması

Hidrojel hazırlamada; düşük yoğunluk, biyouyumluluk, antibakteriyel özellik, toksisite içermeme gibi üstün avantajları nedeniyle kitosan, en çok tercih edilen doğal polimerdir. Yapılan birçok bilimsel çalışmada kitosan bazlı hidrojellerin, insülin, büyüme faktörleri gibi biyolojik olarak aktif moleküllerin verilmesinde ve çok katmanlı sistem yaratma olasılığından dolayı hücre ve dokuların organizasyonunun sağlanmasında çok etkili olduğu kanıtlanmıştır. Ancak diğer doğal hidrojellerde olduğu gibi kitosan hidrojellerinin de mekanik dayanımları oldukça zayıftır ve mekanik dayanımın önem kazandığı çalışmalarda tek başına kullanımı yeterli değildir [56, 146].

Çapraz bağlayıcının türü yanı sıra çapraz bağlanma yoğunluğu, hidrojellerin mekanik mukavemet, şişme ve ilaç salımı gibi önemli özelliklerini etkileyen ana parametredir. Bu nedenle ağ oluşumu sırasında reaksiyon koşullarını takip edebilmek önemlidir. Ayrıca çapraz bağlayıcının moleküler boyutu ne kadar küçükse, difüzyonu daha kolay olacağından çapraz bağlama reaksiyonu o kadar hızlı gerçekleşir [146, 147].

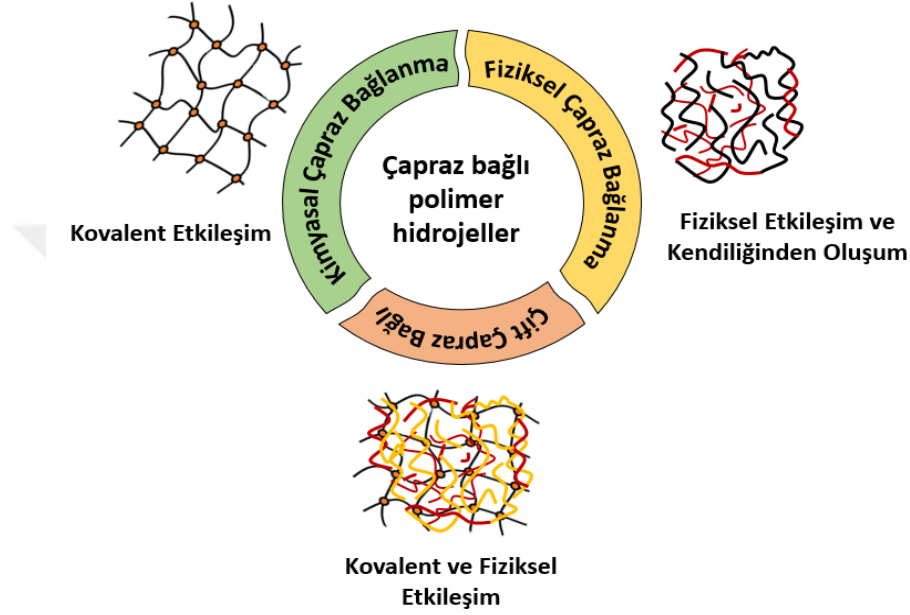
Çapraz bağlama maddeleri ve kitosan arasındaki etkileşim temelinde, kimyasal (kovalent) ve fiziksel (iyonik) çapraz bağlama ayırt edilebilir. Çapraz bağlanma türlerine göre hidrojel hazırlama metotları [148];

Kimyasal Çapraz Bağlanma

1. Monomerlerin multifonksiyonel komonomer ile kopolimerizasyonu
 - katılma & kondenzasyon polimerizasyonu
2. Polimer zincirleri arasında çapraz bağlar oluşturarak
 - kimyasal bir çapraz bağlayıcı ajan kullanılarak
 - yapısında doymamışlık bulunan polimer zincirlerinin yüksek enerjili ışına maruz bırakılması
 - yapısında doymamışlık bulunan polimer zincirlerinin çapraz bağlayıcılarla katılma reaksiyonu göstermesi

Fiziksel Çapraz Bağlanma

1. Bir polimer çözeltisinin ısıtılıp soğutulması yoluyla
2. İyonik etkileşimler ile çapraz bağlama yoluyla
3. H-bağları ile çapraz bağlama yoluyla
4. Kristalizasyon (freze thawing) ile çapraz bağlama yoluyla



Şekil 4.1. Kimyasal, fiziksel ve çift çapraz bağlı hidrojellerin şematik gösterimi [56]

4.1.1. Kimyasal çapraz bağlı kitosan hidrojeller

Kimyasal (kovalent) çapraz bağlanma ile hidrojel hazırlanması, bir veya daha fazla monomerin az miktarda çapraz bağlayıcı kullanılarak polimerik zincirlerin çapraz bağlanması ve 3 boyutlu ağların oluşması esasına dayanır [149]. Kimyasal çapraz bağlamada jelleşme, geri döndürülemez yani kalıcı olduğundan kovalent çapraz bağlar yarılmadığı sürece suda ya da diğer çözücülerde çözülemezler. Bu sayede kararlı, iyi mekanik özelliklere sahip ve aşırı pH koşullarında bile çözünmeye dayanıklı hidrojeller elde edilir. Bu özellikler kitosan uygulamalarının fizikokimyasal stabilitesini etkili bir şekilde koruyabilmesi ve tercih edilmesine olanak sağlar [150].

Bununla birlikte, çapraz bağlama işlemi için kullanılan çapraz bağlayıcıların çoğunun nispeten toksik olması ve biyouyumlulukları ile ilgili veri eksikliğinden dolayı canlı vücudundaki etkilerinin tam olarak bilinmemesi bu sistemin ana dezavantajıdır.

Günümüze kadar kitosan hidrojenleri ile yapılan çalışmalarda en yaygın kullanılan kimyasal çapraz bağlayıcılar, dialdehitler (gluteraldehit veya glioksal gibi) ve genipindir. Dialdehitler, sulu ortamda, hafif koşullar altında ve redüktörler gibi yardımcı moleküller eklenmeden doğrudan reaksiyona izin verirler, bu da biyoyumluluk açısından avantajlıdır. Ancak toksik özellik sergileyen bu çapraz bağlayıcıların kullanımı, uygulama öncesi ek bir saflaştırma ve doğrulama aşaması gerektirmektedir [148].

Genipinin, yapılan *in vitro* testlerde biyolojik olarak uyumlu olduğu bilinse de işlevselleştirilmiş türevlerinin biyoyumluluğu henüz kesin olarak değerlendirilmemiştir. Dolayısıyla, biyoyumlu polimer türevlerinin çapraz bağlayıcı olarak kullanılması olası bir çözümü temsil etse de bunların işlevselleştirilmesi genellikle çapraz bağlayıcılarla aynı dezavantajlara sahip yardımcı moleküllerin kullanımını gerektirir. Ayrıca saflaştırma sonrası tepkimeye girmemiş çapraz bağlayıcıların olma ihtimali bu yöntemin insanlarda tıbbi ve farmasötik uygulamalarda kullanımını sınırlı hale getirmektedir [151, 152].

Kitosan modifikasyonuna, kovalent çapraz bağlanmanın etkisi geniş çapta araştırılmıştır. Kullanılan çapraz bağlayıcının türü ve yoğunluğunun, hidrojenlerin mekanik mukavemet, muko yapışkanlık, gözeneklilik, şişme ve ilaç salımı gibi özelliklerini doğrudan etkilediği yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır [8].

Tablo 4.1. Kimyasal çapraz bağlı kitosan hidrojel uygulamalarına örnekler

Materyal	Çapraz Bağlayıcı	Uygulama Alanı	Ref.
Kitosan/Alginat/ Hesperidin	CaCl ₂ / gluteraldehit	Bagher vd. CaCl ₂ / gluteraldehit ile çapraz bağlanmış %10 hesperidin yüklü kitosan/alginat hidrojenlerinin, geleneksel gazlı bezlere kıyasla insanlarda cilt yaralanmalarını tedavi etmek için çok daha etkin bir örtü malzemesi olabileceğini rapor ettiler.	[153]
Kitosan	gluteraldehit	Ruiz ve ark. gluteraldehit ile çapraz bağlanmış kitosan hidrojenin, paladyum iyonlarını adsorbe etmek için kullanılabileceğini gösterdi. CS/G hidrojel sistemlerin özellikle atık su arıtımı için adsorban olarak kullanım için muazzam potansiyele sahip olduğu kaydedildi.	[154]
Kitosan	gluteraldehit	5-florourasil yüklü, gluteraldehit ile çapraz bağlanmış CS hidrojenlerin ilaç yüklü olmayan hidrojenlere kıyasla anti-tümör ve anti metabolit olarak etkili bir yara iyileşim aktivitesi gösterdiği kaydedilmiştir.	[98]

Tablo 4.1. (Devam) Kimyasal çapraz bağlı kitosan hidrojel uygulamalarına örnekler

Kollajen/kitosan/ poli(N-izopropil akrilamid)	gluteraldehit ve poli(etilenglikol)diakrilat	Şahiner ve ark. dexamethasone yükleyerek hazırladıkları kollajen/kitosan/poli(N-izopropil akrilamid) IPN hidrojel filmlerin, yara sıvısını ve eksudayı absorblayarak etkili bir şekilde uzaklaştırdığını ve yarayı nemli tutarak iyileşme sürecini hızlandığını rapor etmişlerdir.	[155]
Kitosan	glioksal / gluteraldehit	Gupta ve Jabrail, glioksal ve gluteraldehit ile çapraz bağlı kitosan mikroküreleri Schiff bazı reaksiyonu ile hazırlayarak adsorpsiyon yetenekleri ve centchroman salımını incelemişlerdir.	[156]
Kitosan	epiklorohidrin	Mayer vd. suda çözünmeyen ve biyolojik olarak parçalanabilen bir film üretmek için kitosanın ve epiklorohidrin çapraz bağlanmasını açıkladılar. Çapraz bağlanan jellerin paketlemede, ilaç uygulamasında vb. kullanım potansiyeline sahip olduğunu bildirilmiştir.	[157]
Kitosan	genipin	Gao ve ark. CS hidrojellerinin genipin ile çapraz bağlanmasının hücre adezyonu ve canlılığı üzerindeki etkilerini araştırarak elde ettikleri makro gözenekli yapının, çapraz bağlanma derecesini değiştirerek ayarlanabileceğini, hücre yapışmasını ve hücre proliferasyon özelliklerini iyileştirdiğini buldular.	[158]
Kitosan	diethyl squarate (DES)	Angelis ve ark. yaptıkları çalışmada kitosan ve diethyl squarate'nin 50 °C'de 20 saat kürlenerek çapraz bağlanabileceğini buldular.	[159]
Fenolik hidroksil grupları içeren kitosan (Chit-Ph)	Horseradish peroxidase (HRP)/ H ₂ O ₂	Sakai ve ark., kitosanın hidroksifenil propiyonik asit (HPP) ile reaksiyona sokulmasıyla enzimatik olarak çapraz bağlanabilir ve suda çözünür kitosan elde ettiler. Ardından HRP / H ₂ O ₂ ilavesiyle elde edilen jellerin, L929 fibroblast hücrelerine karşı çok düşük sitotoksikite gösterdiğini, doku mühendisliği ve ilaç salım uygulamalarında enjekte edilebilir jeller olarak kullanım potansiyeline sahip olabileceğini raporladı.	[160]

Kitosan hidrojeller için çok yaygın olmayan diğer çapraz bağlayıcı ajanlar arasında potasyum persülfat (KPS), bloke diizosiyanatlar ve dietil squarate bulunur. Prashanth vd. (2006) yaptıkları bir çalışmada potasyum persülfat eklenmiş bir kitosan solüsyonunun 60°C'ye ısıtılıp 4°C'ye soğutulduğunda, kitosanın jelleşme geçirdiğini bildirdi [161]. Kitosan, heksametilen-1,6-di- (aminokarboksisülfonat) gibi bloke diizosiyanatlar kullanılarak veya kitosan-katekol arasındaki elektrokimyasal reaksiyonlar sonucu çapraz bağlanabilir [162].

4.1.2. Fiziksel çapraz bağlı kitosan hidrojel

Fiziksel hidrojel, polimer segmentleri arasında bulunan iyonik bağ, hidrojen bağ, Van Der Waals kuvvetleri veya hidrofobik etkileşimlerden kaynaklanan ve kovalent olmayan çapraz bağlantılar sonucu oluşturulan hidrofilik yapılardır. Fiziksel hidrojel kovalent olarak çapraz bağlanmadığından, fiziksel çapraz bağların oluşumu büyük ölçüde ortamın sıcaklık, pH ve iyonik kuvvet gibi termodinamik parametrelerine bağlıdır. Bu durum aynı zamanda, bu parametrelerdeki herhangi bir değişiklikten sonra formasyonun tersine çevrilebileceği anlamına gelir [163].

Kitosan yapısının fiziksel modifikasyonu, katalizör varlığını ve nihai ürünün saflaştırılmasını gerektirmediğinden kimyasal çapraz bağlanmaya kıyasla avantaj sağlar. Bu durum özellikle ilaç salım sistemlerinde çözünme yoluyla hızlı salım için daha fazla olanak sağlar.

Fiziksel çapraz bağlı sistemlerin en büyük dezavantajları, olası mekanik stabilite eksikliği ve pH'a oldukça duyarlı bir şişmeden dolayı sistemin çözülme riskidir. Bu durum çapraz bağlanma yoğunluğunun artırılmasıyla kısmen giderilebileceği gibi mekanik stabiliteyi artırmaya yardımcı bileşenlerin ilavesi ile de giderilebilir [99, 147].

İyonik çapraz bağlama, hidrojel hazırlamak için yaygın olarak kullanılan oldukça basit bir yöntemdir. Bu yöntemde, negatif yüklü bileşenler ile pozitif yüklü kitosan zincirleri arasında bir iyonik köprüler ağı oluşur. İyonik çapraz bağlayıcılar arasında, Fe (III), Mo (VI) veya Pt (II) gibi metalik anyonlar, küçük boyutlu anyonlar (sitrik asit, süksinik asit, sülfat sodyum veya tripolifosfat, β -gliserofosfat gibi anyonik moleküller yaygın olarak kullanılmaktadır. Ek olarak, polielektrolit kompleksleri (PEC) ilave bir doğal veya sentetik karşıt yüklü polimerin kullanıldığı bir fiziksel çapraz bağlama türü olarak dahil edilir [99].

Mo (VI) veya Pt (II) gibi metalik anyonların oluşturduğu bağlar, kitosanın pozitif yüklü amonyum grupları arasında koordine kovalent bağların oluşumunu sağladığından anyonik moleküllerin oluşturduğu elektrostatik etkileşimlerden daha güçlü bir bağdır. Ayrıca çözeltinin pH değeri 6'dan yüksek olmamalıdır. Eğer pH çok yüksekse, kitosanın pozitif yükleri nötrale edilir, sistem iyonik olarak çapraz bağlanamaz ve çözülme meydana gelebilir. Kitosanın M_w daki azalma şişmeyi azaltır ve çözünmeyi kolaylaştırır [99, 164].

Bu sistemle hazırlanan kitosan hidrojelleri, kovalent yapıli hidrojellere kıyasla toksik ve alergen etki yaratmaması nedeniyle özellikle biyomedikal uygulamalarda geniş kullanım alanı bulmuş ve araştırma çalışmaları halen devam etmektedir.

Rojas-Lema ve ark. (2020), çevresel değışiklikleri algılayarak gıdaların (tazelik, olgunluk, çözölme, nem, sızıntı vb.) kalitesinin daha iyi değeriendirmesine yardımcı olacak gösterge görevi gören akıllı paketleme sensörlerini geliştirdi. Bu amaçla bakır (II) sülfat içeren sodyum tripolifosfat (STPP) çapraz bağıli kitosan mikro/nanopartiküller üretilti. Sonuçlar, bakır (II) sülfat içeren kitosan mikropartikülleri ile kaplanmış kağıtların, ortam nemini başarılı bir şekilde tespit ederek renk değışiminin gerçekleştiğini gösterdi. Ayrıca kitosan mikropartikülleri, hücre kültürü deneyinde hiçbir sitotoksosite vermedi [165].

Sedyakina vd. (2018), toksik olmayan bir çapraz bağlama maddesi olarak sitrik asit ile kitosanın iyonik çapraz bağlanma yoluyla mikroküreler ve mikropartiküller hazırladılar. Kitosan mikro küreleri, non-toksik bir stabilize edici ajan olarak poligliserol-6-polirisinoleat-15 (PG-6-PR) kullanılarak bir emülsifikasyon-çapraz bağlama tekniğı ile hazırlandı. Sonucunda, mikrokürelerin ortalama boyutu, yüzey morfolojisi, insülin emilimi ve ilaç salım profili değeriendirildi [166].

Xu vd. (2019), kıkırdak gibi yumuşak dokuların onarımı ve biyosensör uygulamaları için mekanik dayanımı yüksek, kendi kendini iyileştirme özelliklerine sahip iyonik çapraz bağıli hidrojelleri geliştirdi. Bunun için 2-hidroksipropiltrimetil amonyum klorür kitosan (HACC) ve Fe³⁺ metal iyonları, poli(akrilik asit) (PAAc) ile iyonik bağlar oluşturmak için çapraz bağlayıcı görevi gördü. Geliştirilen HACC / PAAc- Fe³⁺ hidrojeller; ultra yüksek mekanik mukavemet, mükemmel self-recoverability, iyi tokluk değeri gösterdiği rapor edildi [167].

Nasrabadi vd. (2018) yaptığı çalışmada, miselleşme ve kristal oluşumu kontrol edilerek homojen gözenek boyutlarına sahip gözenekli hidrojellerin üretimi gerçekleştirildi. Hidrojelleri iyonik olarak çapraz bağlamak ve mikro yapıyı döngüsel freze-thawing ile kontrol etmek amacıyla yeni bir yaklaşım geliştirildi. Çapraz bağlayıcı ajan olarak sodyum tripolifosfat (TPP) tercih edildi. Elde edilen hidrojeller incelendiğinde, mükemmel sıvı alım performansının yanı sıra mekanik mukavemetlerinde de büyük bir artış görüldüğü rapor edildi [168].

Diğer bir çalışmada ise Jóźwiak ve ark. (2019), çapraz bağlama ajanların türünün Reaktif Black 5 soğurma kinetiğine ve kitosan sorbentlerin soğurma kapasitesinin üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla kovalent yapılı gluteraldehit (GLA), epiklorohidrin (ECH), trimetilopropan triglisidil eter (TEE) ile iyonik yapılı sodyum sitrat (CIT), sodyum tripolifosfat (TPP), sülfosüksinik asit (SSA) ajanlarının özelliklerini karşılaştırdılar [169].

Tablo 4.2. Fiziksel çapraz bağlı kitosan hidrojel uygulamalarına örnekler

Materyal	Çapraz Bağlayıcı	Uygulama Alanı	Ref.
Tigecycline / Kitosan (tg-ChNPs)	Tripolyphosphate (TPP)/PEC	Mevcut çalışmada tigesiklin/kitosan nanopartikülleri, iyonik çapraz bağlayıcılar varlığında sentezlendi. Geliştirilen biyomalzemenin yara enfeksiyonu tedavisi için etkin antibakteriyel aktivite gösterdiği ve iyileşme hızını arttırdığı rapor edilmiştir.	[170]
Kitosan/PVP/TiO ₂	PEC	Archana vd. bir kitosan pektin polielektrolit kompleksine yüklenmiş titanyum dioksit (TiO ₂) nanopartiküllerinden oluşan üçlü bir nano pansuman geliştirdi. Sonucunda beş patojene karşı üstün antimikrobiyal aktivite sergileyen yara örtüsü fazla eksüdayı emerek doku yenilenmesini de hızlandırdığı bildirilmiştir.	[171]
Kitosan	polietilen glikol, oksalik asit ve sitrik asit	Kurak bölgelerde toprağın su tutma kapasitesini arttırmak ve tarımsal girdilerin kontrollü salınımını sağlamak için polietilen glikol, oksalik asit ve sitrik asit kullanılarak kitosan hidrojeller sentezlenmiştir.	[172]
Kitosan	sitrik asit	Singh vd. emülsifikasyon ve iyonotropik jelleştirme yöntemi ile cisplatin yüklü kitosan mikroküreler hazırladılar. Bu sistemle ilacın doğrudan akciğere verilmesi yoluyla akciğer kanserinin daha iyi tedavi edilmesi için bir girişimde bulunulmuştur.	[173]
Kitosan/Kollajen	süksinik asit	Mitra vd. süksinik asit ile çapraz bağlanan kitosan / kollajen PEC'lerin, yapı iskelelerinin mekanik mukavemetini ve termal stabilitesini önemli ölçüde iyileştirdiğini ortaya koydular. Geliştirilen yapının, klinik uygulamalarda ve yara tedavisinde kullanım alanı bulmuştur.	[174]
Kitosan nanopartikül	sodium tripolyphosphate (TPP)/(CaCl ₂)	Anitha ve ark. CS nanopartikülleri ve suda çözünür türevleri olan O- carboxymethyl chitosan (O- CMC) ve N, O- carboxymethyl chitosan (N, O-CMC) iyonik çapraz bağlama yoluyla sentezledi. Bu kitosan/TPP nanopartiküllerin MCF-7 meme kanseri hücrelerine karşı hiçbir toksisite göstermediği, ayrıca Staphylococcus aureus'a karşı orta derecede antimikrobiyal etki gösterdiği raporlandı.	[175]

Tablo 4.2. (Devam) Fiziksel çapraz bağlı kitosan hidrojel uygulamalarına örnekler

Kitosan	Sitrik asit/ NHS-EDC	Ghosh vd. sitrik asit banyosundan geçirerek iyonik kompleksleşme sonucu çapraz bağlanan kitosan lifleri hazırladılar. Ardından kitosan-sitrat lifleri NHS-EDC ile tekrar çapraz bağlanarak ikili bir ağ yapının oluşumu sağlandı. [176]
Kitosan	Disodyum fosfat (Na_2HPO_4)	Supper vd. kitosan çözeltisine Na_2HPO_4 eklenerek kitosan hidrojelleri hazırlandı. Kitosan / poliol-fosfat gibi ısıya duyarlı jelleşme sistemleri, biyolojik olarak parçalanabilen ilaç dağıtım sistemlerinin tasarımı için yüksek potansiyele sahip aday olduğu öngörülmüştür. [177]
Kitosan/PVA	freeze-thaw	Guanghua vd. fiziksel olarak çapraz bağlı PVA / kitosan hidrojellerini freeze-thaw tekniği ile hazırlayarak mide ve bağırsak ortamındaki şişme davranışlarını simüle ettiler. [178]

Üçüncü nesil olarak tartışılan kitosan bazlı hidrojeller, sistemin biyoyumluluğundan ödün vermeden mükemmel mukavemet ve stabiliteye sahip, fiziksel olarak çapraz bağlı sistemlerden oluşur. Bu tür çapraz bağlayıcılar, etilendiamintetraasetik asit ve üre (EDUR), sitrik asit ve üre (CAUR) veya süksinik asit ve üre (SAUR) gibi eklentiler içerir. Bu eklentiler, kitosanı elektrostatik olarak çapraz bağlayan oligomerik polianyonik türlerden oluşur. Polianyonik gruplar aynı zamanda suyu hidrofilik ağa çekme görevini yerine getirerek süper emici özelliklere yol açar. Bu tür hidrojeller idrar adsorpsiyonu için çocuk bezlerinde, su tüketimini azaltacak su tutma sistemleri için tarım ve doku mühendisliği uygulamalarında yapı iskelesi olarak kullanımı büyük potansiyele sahip olabilir. Bu sistemlerin diğer bir avantajı da atık sahalarında kullanıldıktan sonra bertaraf edilmeleri gereken sentetik SAP'lara nazaran biyolojik olarak parçalanmaya uygun olmalarıdır [162].

4.1.3. Çift çapraz bağlı hidrojeller (hem iyonik hem kovalent)

Formaldehit ve gluteraldehit gibi yaygın kullanılan kovalent çapraz bağlayıcıların, sodyum sülfat ve magnezyum sülfat gibi farklı iyonik çapraz bağlayıcılardan daha yüksek toksisite değerine sahiptir. Öte yandan, kovalent çapraz bağlı hidrojeller, iyonik çapraz bağlı hidrojellere kıyasla daha iyi mekanik özellik sergilerler. Buradan yola çıkarak, kovalent çapraz bağlayıcıların toksik miktarını azaltmak ve elde edilen hidrojellerin mekanik stabilitelerini iyileştirmek için çift çapraz bağlı hidrojellerin

tasarımına yönelik çalışmalara ilgi artmıştır [179]. Çapraz bağlayıcı yoğunluğunun artması, kitosanın su molekülleri ile hidrojen bağı oluşturma yeteneğini azalttığından hafif çapraz bağı olarak adlandırılan bu sistemlerle, çapraz bağlanmanın sürekli bir serbest su oluşumuna izin veren süper adsorbe edici hidrojeller oluşturulur [99].

Ghosh vd. (2015) yaptıkları çalışmada, ikili çapraz bağlantılı kitosan-sitrat lifleri hazırladılar. Bunun için sitrik asit banyosundan geçirerek iyonik kompleksleşme sonucu çapraz bağlanan kitosan liflerini daha sonra EDC-NHS ile tekrar çapraz bağlayarak ikili bir ağ yapının oluşumu sağlandı. Çift çapraz bağı bu lifler, çapraz bağlanmamış ve yalnız sitrat çapraz bağı liflere kıyasla gelişmiş mekanik özellik, enzimatik bozunmaya karşı daha yüksek stabilite, hidrofobiklik ve üstün biyo-mineralizasyon sergilediği rapor edildi [176].

Li ve ark. (2020), yüksek mekanik performansa sahip hidrojel elde etmek amacıyla, Fe^{3+} indüklenmiş iyonik çapraz bağı ağdan oluşan ikili çapraz bağı yapıya, kitosanla dekore edilmiş halloysite nanotüpleri (CS-f-HNTs) entegre ederek yeni bir tür nanokompozit hidrojel geliştirilmesine yönelik bir çalışma sunmuştur. Nihai nanokompozit hidrojellerin; üstün gerilme mukavemeti, yüksek gerilebilirlik ve ultra yüksek tokluk dahil olmak üzere üstün mekanik özellik sergilediği rapor edildi [180].

Jatariu vd. (2011), kovalent çapraz bağlayıcının (toksik) miktarını azaltmak ve elde edilen hidrojin mekanik stabilitesini arttıracak çift çapraz bağı kitosan/jelatin hidrojellerin hazırlanması için bir yöntem sunmaktadır. Yöntemde hidrojeller, glutraldehit ile kısmi çapraz bağlanmanın ardından anhydrous Na_2SO_4 ile iyonik çapraz bağlanma yoluyla hazırlandı. Yapılan reolojik testler sonucunda, genel olarak güçlü, elastik ve stabil jellerin olduğu; iyonik çapraz bağlayıcı miktarındaki artışın jellerin reolojik özelliklerini bir seviyeye kadar iyileştirdiği ve mekanik stabilite üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu rapor edildi [179].

Ko ve Kim'in çalışmalarında (2020), kitosan asitsiz bir çözücü olan 1-butil-3-metilimidazolyum klorür (BmimCl) ile çözülmüş ardından kimyasal ve fiziksel yollarla çift yönlü olarak çapraz bağlanmıştır. Hidroksil grupları kovalent olarak epiklorohidrin (ECH) ile çapraz bağlanırken, amino grupları iyonik olarak itakonik asit (IA) ile çapraz bağlanmıştır. Hazırlanan çift çapraz bağı aerogeller, tekli çapraz bağı aerogeller ile karşılaştırıldığında, çift çapraz bağı yapının %1200'ün üzerinde gözenek yapısı ve mükemmel şişme davranışı sergilediği görülmüştür [181].

Moura ve ark. (2011), iyonik ve kimyasal çapraz bağlanmanın sentezlenen hidrojel üzerindeki etkilerini araştırmak için genipin çapraz bağlı kitosan/gliserol fosfat hidrojelleri (CS/GP/GE) ve kitosan/gliserol fosfat hidrojelleri (C/GP) hazırlayarak bunları genipin veya gliserol fosfat kompleksi eklenmemiş hidrojeller ile kıyasladılar. Sentezlenen hidrojeller, yalnızca iyonik çapraz bağlanmanın tipik özelliği olan ısıya duyarlı karakterini korumakla kalmamış, daha iyi mekanik özellik ve kimyasal kararlılık sergileyerek çift çapraz bağlamanın faydalarını da ortaya koymuştur [182].

Cao vd. (2020), ikili fiziksel çapraz bağlama (DPC) stratejisi kullanarak ultra yüksek mukavemete ve donma önleyici özelliklere sahip hidrojeller geliştirdiler. Bunun için ilk olarak PEC hidrojelleri, kitosan çözeltilerindeki akrilik asit (AAc) monomerlerinin yerinde serbest radikalik polimerizasyonu yoluyla hazırlandı. Ardından, katyon ve anyonlar polimer zincirleriyle güçlü elektrostatik etkileşimler oluşturmak için PEC hidrojellerine dahil edildi. DPC hidrojellerinin mekanik özellikleri, iyonik konsantrasyona ve yükleme iyonlarının valans durumuna önemli ölçüde bağlı olduğu görüldü. Ayrıca düşük sıcaklıklarda (subzero) ideal özelliklerini kaybeden hidrojellere kıyasla DPC-Ca hidrojelleri, donmadan -20 C'ye soğutulabilen iyonik iletkenlik ve donma toleransının yanı sıra yüksek mekanik dayanım sergilediler [183].

Cadinoiu ve ark. (2015), pilocarpine bazlı göz damlalarının kapsüllenmesi için küresel mikropartiküller elde ettiler. Kitosan ve PVA içeren bu mikropartiküller, basit bir yağ-su emülsiyonunun sulu fazında her iki polimerin çift çapraz bağlanmasıyla hazırlandı. Sodyum sülfat kullanılarak iyonik çapraz bağlamayı, glutraldehit ile kovalent bir çapraz bağlama izledi. Sonuçlar iyi küresel şekle sahip, aglomere olmayan, kısmen pürüzsüz mikropartiküllerin elde edildiğini ortaya koydu. Yanı sıra mikropartiküller, yüksek pilocarpine yükleme kapasitesi ve %82'ye kadar artan salım verimi ile göz hastalıklarının tedavisi için sürekli salımlı ilaç taşıyıcı olarak önerilmektedir [184].

4.2. Çapraz Bağlayıcılar

Çapraz bağlanma, iki veya daha fazla molekülün bir kovalent bağ ile kimyasal olarak birleştirilmesi işlemidir. Çapraz bağlayıcıların en belirleyici özelliği, kimyasal modifikasyonların yöntem ve mekanizmasının saptanmasında önem arz eden reaktif gruplarıdır. zerinde hidroksil grupları ile birlikte iki veya daha fazla reaktif fonksiyonel grup içeren çapraz bağlama reaktifleri, polimer zincirleri arasına girerek zincirler arası köprü oluşumunu sağlar ve polimerik segmentleri birbirine bağlarlar.

Oluşan bu bağlar, hidrojellerin üç boyutlu bir ağ yapıya sahip olmasını ve su içerisinde çözünmesini engelleyerek şişmesini sağlar [185-187].

Çapraz bağlanma; molekülleri birbirine bağlayarak moleküler ağırlığının artmasına dolayısıyla daha yüksek mekanik özellikler ve gelişmiş stabilitenin sağlanmasına yanı sıra bozunabilirliğin azalmasına olanak sağlayarak da biyomalzemelerin kullanımını sınırlandıran; yüksek nemde veya sulu çözeltide parçalanma, mekanik yetersizlik gibi dezavantajların üstesinden gelebilmek için bir yaklaşım oluşturur [71].

Çapraz bağlanma, fiziksel etkileşimler ve kovalent bağların yanı sıra hidrojen bağları ve Van der Waals etkileşimleri ile gerçekleşebilmektedir. Bu etkileşimlerle oluşan bağlanma noktalarındaki kimyasal ya da fiziksel davranışa göre elde edilen hidrojellerin geri döndürülme, şişme ve çözünürlük gibi pek çok mekanik ve kimyasal özellikleri farklılık gösterebilmektedir [63, 185].

Formaldehit, asetaldehit ve gluteralehit gibi yaygın kullanılan aldehitlerin yanı sıra maleik asit, oksalik asit, dimetilüre, poliakrolein, etilen glikol diakrilat (EGDA), etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), poli(etilen glikol) diakrilat (PEGDA), diizosiyanatlar, dietil squarate, N,N'-metilenbisakrilamid (NMBA) ve genipin de sıklıkla hidrojel sentezinde çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılabilir [158, 182, 188-190].

4.3. Çapraz Bağlayıcı Seçimi

Polimer zincirleri arasına girerek üç boyutlu ağların oluşmasını sağlayan çapraz bağlayıcılar, halka oluşumu ve yan reaksiyonlarda harcanabileceği için bütünüyle yapıya girerek etkin bir çapraz bağlanma göstermez. Ayrıca bağlanma noktaları arasındaki uzaklık eşit ve sabit olmadığından dolayı elde edilen hidrojel sistem içerisinde homojen bir çapraz bağ dağılımı ve yoğunluğu söz konusu olamamaktadır. Bu sebeptendir ki hidrojel sentezinde kullanılacak çapraz bağlayıcının türü, fonksiyonel grup sayısı, termal bozunması, yüzey alanı, hidrofilikliği ve hidrofobikliği gibi birçok özelliğinin elde edilecek jellerin mekanik ve fiziksel özellikleri üzerinde önemli bir etkisi vardır [191, 192].

Hidrojel sentezinde kullanılmak üzere tercih edilecek çapraz bağlayıcı ajanlar, reaksiyonun uyusabilirliğinin ön görülmesi adına kimyasal reaktivitelerine bakılarak seçilir ve yapılan deneysel çalışmalarla desteklenerek en uygun bağlayıcı ajana karar verilir.

Çapraz bağlayıcı seçiminde göz önünde bulundurulması gereken ölçütler [90];

- Kimyasal özellik
- Ara zincir uzunluğu
- Suda çözünürlük
- Hücre zar geçirgenliği
- Homobifonksiyonel ve heterobifonksiyonel reaktif gruplar
- Yarılabirlik

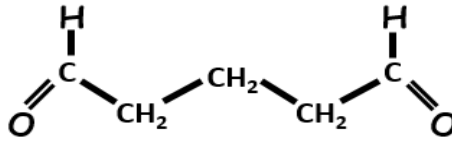
Çapraz bağlanma için hedeflenebilen fonksiyonel gruplar;

- Primer aminler
- Hidroksiller
- Karboniller
- Karbohidratlar
- Sülfhidriller
- Karboksilik asitler'i kapsar.

4.4. Gluteraldehit

Gluteraldehit gerek çapraz bağlama gücü gerekse ucuz ve kolay bulunabilir olması avantajları sebebiyle hidrojel hazırlamada kullanılan en yaygın kimyasal çapraz bağlayıcı ajanların başında gelir. Yanı sıra enzimlerin kovalent immobilizasyonunda kullanılan bifonksiyonel bir reaktiftir. Hızla reaksiyona girme ve yüksek çapraz bağlama gücü sayesinde konsantrasyona bağlı olarak bir dakikadan daha kısa sürede jelleşme reaksiyonu gösterebilmektedir. Bu durum biyouyumlulukları açısından avantaj sağlamaktadır [193].

Diğer yandan nispeten toksik etki göstermeleri, uygulama öncesi ek saflaştırma adımını gerektirdiğinden dezavantaj oluşturmaktadır. Ancak, düşük deri penetrasyonu dışında toksikolojik potansiyeli üzerine yapılan birçok araştırma henüz tutarlı bir sonuç ortaya koyamamıştır [194]. Biyoaktif sisteme kazandırdığı avantajlar yanı sıra yapılan birçok *in vitro* denemelerde %1 ve daha düşük konsantrasyonlardaki gluteraldehitin toksik etkisinin yok denecek kadar az olduğu, bu sayede çeşitli hidrojel uygulamalarda sıklıkla ve rahatlıkla kullanıldığı yapılan çalışmalarca ortaya konmuştur [195, 196].



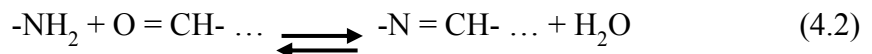
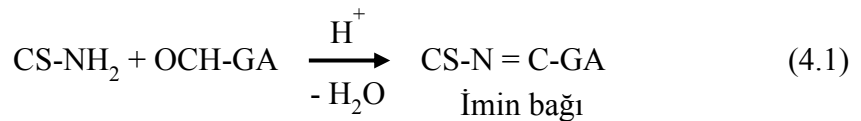
Şekil 4.2. Gluteraldehitin kimyasal yapısı

Bu tez çalışması kapsamında, tüm bu avantajları göz önünde bulundurularak kitosan esaslı hidrojellerin hazırlanması için gluteraldehit çapraz bağlayıcısı kullanılmış, yanı sıra farklı gluteraldehit konsantrasyonlarının ve farklı molekül ağırlığa sahip kitosanların, sentezlenen hidrojellerin mekanik ve fiziksel özelliklerine etkisi yapılan deneysel çalışmalarla detaylıca incelenmiştir.

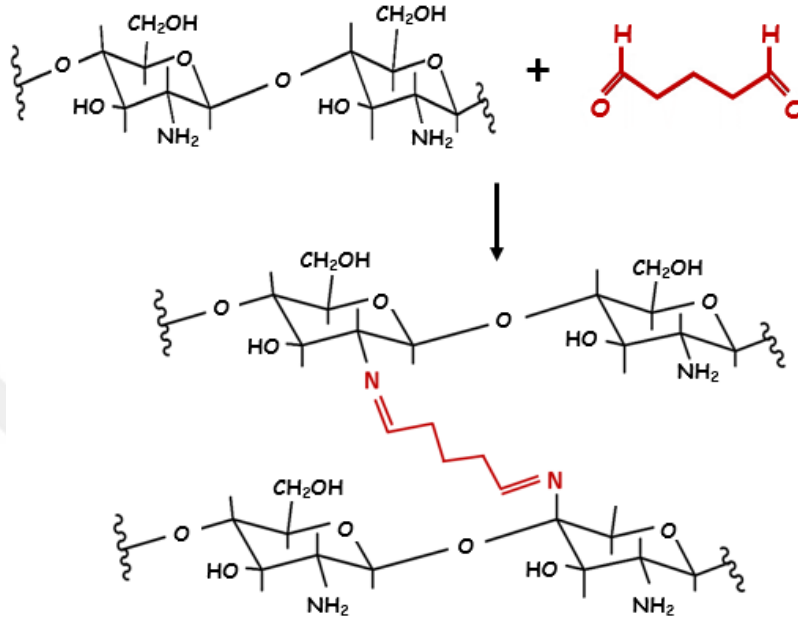
4.5. Kitosanın Gluteraldehit ile Çapraz Bağlanma Mekanizması

Hidrojel sentezi, çoğu yapı iskelesi olarak hizmet veren çeşitli kimyasal bileşimlere sahip birçok monomer ve çapraz bağlama maddesi kullanılarak gerçekleşir. Hidrojelleri sentezlemek için Michael, Click ve Schiff reaksiyonları gibi birkaç yöntem vardır. Michael tipi reaksiyonlar, bir doymamış karbonil bileşiği ile reaksiyon oluşturmak için bir karbanyonun veya bir tiyol ve amin gibi nükleofillerin ilavesini içerir. Click tipi reaksiyonlar, 1,2,3-triazoller oluşturmak için özellikle Cu (I) katalizli azid ve terminal asetilen grupları arasında gerçekleşir. Schiff reaksiyonları ise keton veya aldehit grupların uygun şartlarda primer aminlerle reaksiyon oluşturmasıdır. Açıklanan bu yöntemler hidrojel uygulamaları için kimi avantaj ve dezavantajlar içerir. Örneğin, bazı fonksiyonel gruplar çapraz bağlama reaksiyonu sırasında reaksiyona girmeyebilir, bu durum mekanik dayanımı zayıf ürünlerle sonuçlanabilir [197]. Bu yüzden doğru uygulama için doğru reaksiyon tipini seçmek önemlidir.

Rastgele dağıtılmış β -(1,4) D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin birimlerinden oluşan kitosanın, süper absorban hidrojellerin hazırlanmasında en yaygın kullanılan çapraz bağlayıcısı gluteraldehittir. Gluteraldehitin yapısındaki aldehit grupları (-CHO), kitosanın yapısındaki amin gruplarına (-NH₂) imin grubu üzerinden Schiff bazı reaksiyonu sonucu bağlanır ve kitosan hidrojeller elde edilir [198].



Kitosan ve gluteraldehitin çapraz bağlanması sırasında, $-NH_2$ ve $-CHO$ grupları arasında imin bağlarının oluşumu Denklem 4.1 ve 4.2'deki reaksiyona göre gerçekleşmektedir [199, 200].



Şekil 4.3. Gluteraldehit ve kitosanın kimyasal çapraz bağlanma mekanizması [194]

Polimer ve çapraz bağlayıcı arasındaki bu kimyasal reaksiyon sonucu kitosan zincirindeki serbest azot atomu yüzdesi azalmaktadır. Çapraz bağlayıcı konsantrasyonundaki artış, çapraz bağlanma veriminde düşüşe neden olabilmektedir. Gluteraldehitin yapısında bulunan her iki karbonil grubunun da kitosan ile çapraz bağlanma işleminde yer aldığı varsayılmakta beraber reaksiyon koşullarının, ortam pH'nın ve çapraz bağlayıcı-polimer konsantrasyonun çapraz bağlanma verimini doğrudan etkilediği bilinmektedir [194, 201].

Çapraz bağlanma sonucu oluşan jellerde, reaksiyonun tamamlandığının bir göstergesi olarak renk koyulaşması meydana gelir. Gluteraldehitin çözelti içerisindeki konsantrasyonu arttıkça sarı renk oluşumunun turuncu renge doğru döndüğü gözlemlenir. Bu durum, kitosan ile GA arasındaki reaksiyonun yani Schiff bazı oluşumunun bir karakteristiğidir [75].

Kitosan hidrojeller; sıvı jeller, boncuklar, filmler, kapsüller, mikropartiküller, tozlar, süngerler, nanofibriller ve inorganik kompozitleri içeren çok çeşitli şekillerde ve formülasyonlarda hazırlanabilmektedir [135].

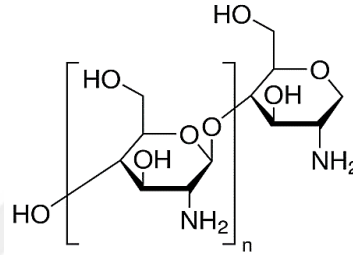
5. MATERİYAL VE METOD

5.1. Deneysel Çalışmada Yararlanılan Kimyasal Maddeler ve Kullanım Amaçları

Bu bölümde, deneysel çalışmalarda yararlanılan kimyasal maddeler ve çalışmadaki kullanım amaçları belirtilerek Tablo 5.1’de sunulmuştur.

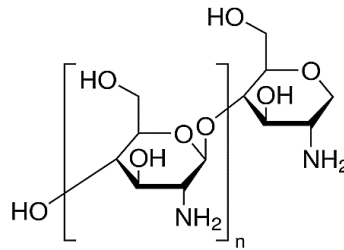
Tablo 5.1. Deneysel çalışmada yararlanılan kimyasallar ve kullanım amaçları

Kitosan - Düşük Molekül Ağırlıklı



Molekül Formülü	$C_{12}H_{24}N_2O_9$
Molekül Ağırlığı (cps)	20 - 300 cps
Deasetilasyon Derecesi	$\geq 75 \%$
Cas No	9012-76-4
Kullanım Amacı	Hidrojel hazırlama

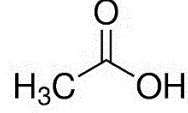
Kitosan - Orta Molekül Ağırlıklı



Molekül Formülü	$C_{12}H_{24}N_2O_9$
Molekül Ağırlığı (cps)	200 - 800 cps
Deasetilasyon Derecesi	$\geq 75 \%$
Cas No	9012-76-4
Kullanım Amacı	Hidrojel hazırlama

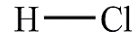
Tablo 5.1. (Devam) Deneysel çalışmada yararlanılan kimyasallar ve kullanım amaçları

Asetik Asit



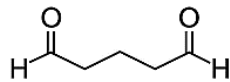
Molekül Formülü	CH ₃ COOH
Molekül Ağırlığı (g/mol)	60,05 g/mol
Yoğunluk (g/mL)	1,05 g/mL
Saflık	%100
Cas No	64-19-7
Kullanım Amacı	Kitosan çözeltisi hazırlama

Hidroklorik Asit



Molekül Formülü	HCl
Molekül Ağırlığı (g/mol)	36,46 g/mol
Yoğunluk (g/mL)	1,2 g/mL
Saflık	%30-33
Cas No	7647-01-0
Kullanım Amacı	Kitosan çözeltisi hazırlama

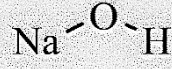
Gluteraldehit



Molekül Formülü	C ₅ H ₈ O ₂
Molekül Ağırlığı (g/mol)	100,11 g/mol
Yoğunluk (g/mL)	1,06 g/mL
Saflık	%25
Cas No	7732-18-5
Kullanım Amacı	Çapraz bağlayıcı ajan

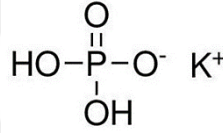
Tablo 5.1. (Devam) Deneysel çalışmada yararlanılan kimyasallar ve kullanım amaçları

Sodyum Hidroksit



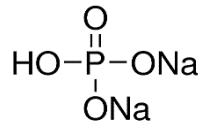
Molekül Formülü	NaOH
Molekül Ağırlığı (g/mol)	40 g/mol
Yoğunluk (g/mL)	2,13 g/mL
Cas No	1310-73-2
Kullanım Amacı	pH düzenleme ve titrasyon

Potasyum dihidrojen fosfat



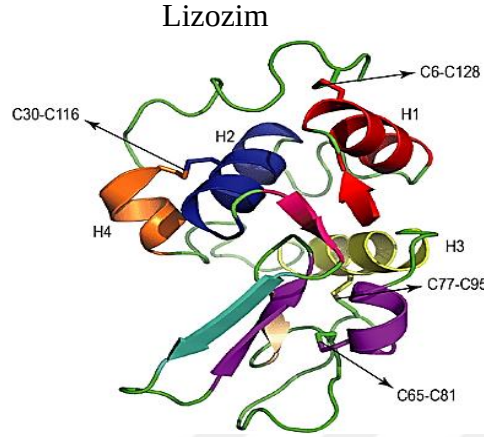
Molekül Formülü	KH ₂ PO ₄
Molekül Ağırlığı (g/mol)	136,08 g/mol
Yoğunluk (g/mL)	2,33 g/mL
Cas No	7778-77-0
Kullanım Amacı	Tampon çözelti hazırlama

Disodyum hidrojen fosfat



Molekül Formülü	Na ₂ HPO ₄
Molekül Ağırlığı (g/mol)	141,96 g/mol
Yoğunluk (g/mL)	0,88 g/mL
Cas No	7558-79-4
Kullanım Amacı	Tampon çözelti hazırlama

Tablo 5.1. (Devam) Deneysel çalışmada yararlanılan kimyasallar ve kullanım amaçları



Molekül Formülü	$C_{125}H_{196}N_{40}O_{36}S_2$
Molekül Ağırlığı (g/mol)	14.388 g/mol
Enzimatik Aktivite	~70000 U/mg
% Protein (UV)	≥ 90
Cas No	12650-88-3
Kullanım Amacı	<i>In vitro</i> bozunma çalışmaları

5.2. Deneysel Kısım

5.2.1. Viskozite tayini

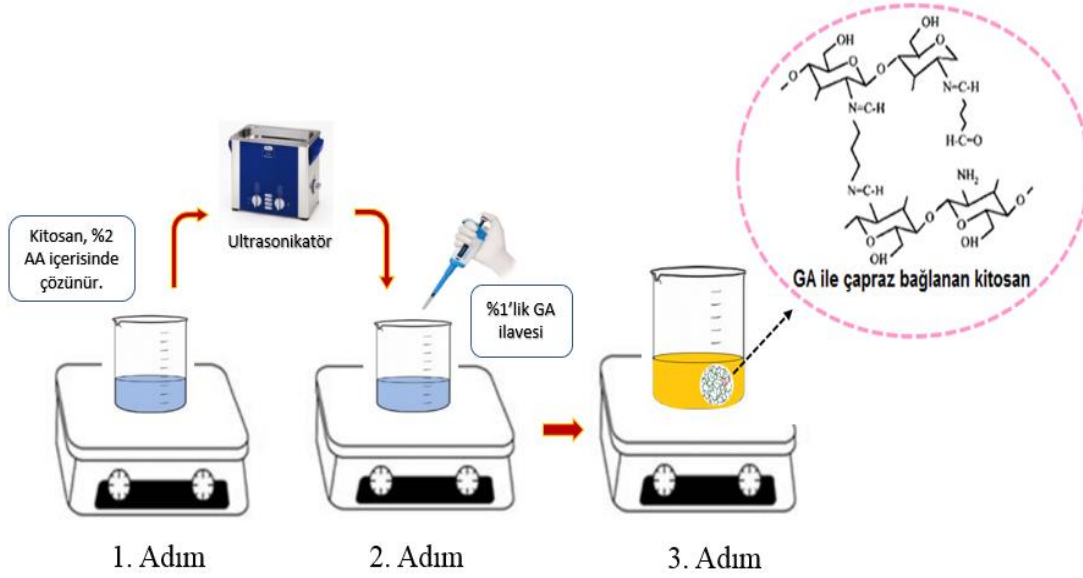
Kitosan çözeltilerinin viskozite değeri, molekül ağırlığı başta olmak üzere deasetilasyon derecesi ve iyonik kuvvet gibi birçok etkenden etkilenmektedir. Çözeltideki kitosan konsantrasyonunun yanı sıra çözeltinin hazırlandığı asit ortamına/türüne bağlı olarak da bu değerler değişim gösterebilmektedir [10, 14].

Bu metotta, hidrojel hazırlamada kullanılan düşük (DM_w) ve orta molekül ağırlıklı (OM_w) kitosanların viskozite değerlerini belirlemek amacıyla Brookfield viskozimetresi (DV2T) kullanılmıştır. %1 asetik asit içerisinde çözünerek hazırlanan %1 kitosan konsantrasyonlu örneklerin farklı hızlarda (Spindle No:3) viskozite değerleri cPa cinsinden belirlenmiş ve elde edilen veriler Tablo 6.1’de sunulmuştur.

5.2.2. Çözünürlük

Bir santrifüj tüpü içerisinde hazırlanan %1 kitosan (0,1 g) ve %1 asetik asit (10 mL) çözeltisi 250 rpm ve 25 °C de yaklaşık 40 dak. süreyle karıştırılmış, ardından 10 dak. süreyle 100 °C su içerisinde bekletilen örnekler oda sıcaklığına ulaştığında 1200 rpm de santrifüjlenmiştir. İşlemin ardından sıvı kısmı uzaklaştırılan ve saf su ile durulanan örnekler tekrar santrifüjlenip çözünmeyen katı kısımların 1 gün süreyle 60 °C de kuruması sağlanmıştır. Başlangıç ve sondaki kuru madde miktarları kullanılarak kitosanın % çözünürlük değeri hesaplanmış, elde edilen veriler Tablo 6.2’de sunulmuştur.

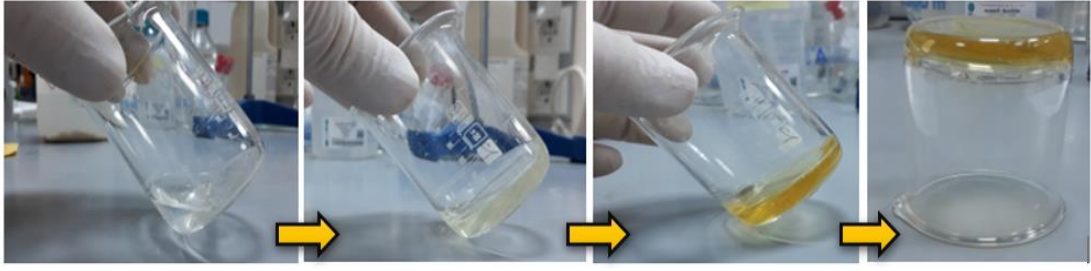
5.2.3. Kitosan esaslı hidrojenlerin sentezi



Şekil 5.1. Kitosan hidrojenlerin hazırlanma prosedürü

Kitosan hidrojenlerin hazırlanmasında farklı jel formülasyonları denenmiş ve sonucunda %2 (w/w)'lik asetik asit çözeltisinde çözünerek hazırlanan kitosana göre ağırlıkça %1, %3, %5, %7 ve %10 çapraz bağlayıcı oranına sahip %2'lik kitosan formülasyonu uygun görülmüştür.

Yüksek molekül ağırlığı ve kristalin yapısı gereği çözünürlüğü sınırlı olan bu biyopolimerin en yaygın kullanılan çözücüsü asetik asittir. %2'lik asetik asit içerisinde çözünmek üzere belirlenen konsantrasyonlarda tartımları alınan kitosan, homojen bir çözünürlük için manyetik karıştırıcıda karıştırılmasının ardından içerisindeki hava kabarcıklarının giderilmesi amacıyla ultrasonikátörde ~30 dak. bekletilmiştir. Ardından %1 (w/w)'lik sulu çözeltisi hazırlanan gluteraldehit çapraz bağlayıcısı, otomatik pipet yardımıyla kitosana göre ağırlıkça %1 - %10 oranlarında ilave edilip homojen bir dağılımın sağlanması için hızla karıştırılarak çapraz bağlanma reaksiyonu tamamlanana kadar bir gün süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Günün sonunda kitosan biyopolimeri ve gluteraldehit arasında Schiff bazı oluşumu ile polimerizasyon reaksiyonu tamamlanmış, bunun bir göstergesi olarak da hazırlanan jellerde sarı-turuncu renk döngüsü meydana gelmiştir. Hidrojenlerin sentez çalışması şematik olarak Şekil 5.1 ve Şekil 5.2'de gösterilmektedir.



Şekil 5.2. Gluteraldehit ilavesi sonrası çapraz bağlanma reaksiyonu gösteren kitosan hidrojel örneği

Reaksiyona girmeyen çapraz bağlayıcının ve asetik asidin uzaklaşması için jeller bulunduğu kaptan alınarak destile su ile yıkanmış, numune kabında saklanmak üzere dondurularak liyofilizatörde kurutulmuştur.

5.2.4. Sol miktarının belirlenmesi

Bu test yönteminde, hazırlanan çapraz bağlı kitosan hidrojellerin içeriğindeki kitosanın, jel reaksiyonuna hangi oranda katıldığı, çapraz bağlanma reaksiyonuna girmeyen kitosanın bulunup bulunmadığını tespit etmek amaçlanmıştır.

5 farklı konsantrasyonda hazırlanarak liyofilizatörde kurutulan DM_w ve OM_w hidrojel örneklerin kuru ağırlıkları (m_0) kaydedildikten sonra 37 °C saf suda 45 dakika arayla 5 kez değiştirmek kaydıyla şişmeye bırakılmıştır. 5. tekrarın ardından tekrar liyofilizatörde kurutulan hidrojel örneklerin nihai ağırlıkları (m_1) kaydedilerek aşağıdaki eşitlik yardımıyla reaksiyona katılmayan kitosan miktarı tayin edilmiştir [100].

$$\text{Sol} = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \quad (5.1)$$

m_0 : hidrojellerin şişme öncesi kuru ağırlıkları

m_1 : hidrojellerin şişme sonrası nihai kuru ağırlıkları

5.2.5. FTIR

Kitosan esaslı hidrojellerin FTIR analizleri, ATR aparatına sahip Perkin-Elmer Specturm 100 FTIR cihazı ile 4000-650 cm^{-1} aralığında gerçekleştirilmiştir. FTIR analizi ile farklı oranlarda gluteraldehit içeren kitosan hidrojellerin yapısında meydana gelen değişimler ve çapraz bağlayıcı ile hidrojel matrisi arasındaki etkileşimler izlenmiştir.

5.2.6. Optik mikroskop

Optik mikroskoplar, görünür ışık altındaki küçük nesnelerden büyütülmüş görüntüler oluşturmak için kullanılan mikroskop türüdür. Elektron mikroskoplarının aksine görüntü oluşturmak için ışık kullanılır. Mikroskop lambasından gelen ışığın bir kısmının önce yoğunlaştırıcıdan ardından numune üzerinden (ışık soğuran bir numune) geçerken sapmaya uğraması ve lenslerin odak noktasında kırılarak retina üzerinde görüntü oluşturması çalışma prensibine dayanır. Objelerin 500x büyütülmesini sağlarken aynı anda dereceli bir şekilde çözünürlük ve netliğini de artırmaktadır [202, 203].

- İnsan gözünün ayırt etme gücü 0,1 mm
- Işık mikroskobunun ayırt etme gücü 0,2 μ m
- Elektron Mikroskobunun ayırt etme gücü 0,1 nm'dir.

Farklı molekül ağırlığı ve gluteralehit konsantrasyonlarında hazırlanan kitosan hidrojenlerin, görünür ışıktaki görüntü ve morfolojileri SOIF MD50 model optik mikroskop yardımıyla incelenmiştir.

5.2.7. SEM

Kitosan hidrojenlerin yüzey morfolojilerini incelemek amacıyla SEM (taramalı elektron mikroskobu) analizi yapılmıştır. ZEISS LEO-1430 VP model SEM cihazında gerçekleştirilen analiz için hazırlanan numuneler belirli ölçekte kesitleri alındıktan sonra altın ile ince bir tabaka halinde kaplanarak topoğrafik görüntüler elde edilmiştir.

5.2.8. Kitosan hidrojenlerin şişme değerlerinin belirlenmesi

Çapraz bağlı yapılar, uygun çözücü ortamına konulduğunda çözücünün ağ yapıya girmesiyle şişerler. Bu durum, çözücünün ağ yapıya girme hızı ile salım hızının birbirine eşit olduğu ana dek devam eder. Şişmenin maksimum değerine ulaştığı bu nokta denge noktasıdır. Şişme davranışı sergileyen çapraz bağlı polimerlerin şişme eğrilerinin oluşturulması, şişme kinetiğinin ve difüzyon mekanizmasının açıklanmasında son derece önemlidir [99].

Kitosan esaslı doğal hidrojenlerin şişme davranışları; cilt pH'ı, mide pH'ı ve fizyolojik pH'taki etkinliğini değerlendirebilmek amacıyla üç farklı ortamda (destile su, pH 2,0 ve pH 7,4) incelenmiştir.

5 farklı GA konsantrasyonunda, düşük ve orta molekül ağırlıklı olmak üzere toplam 30 adet jel numunesinin aynı ebatlarda kesilerek tartımları alınmıştır. Daha sonra şişme ortamlarına teker teker bırakılan jeller belirli periyotlarda bu ortamlardan çıkarılarak üzerlerindeki fazla suyun filtre kâğıdı ile giderilmesinin ardından dikkatle tartımları alınarak tekrar şişme ortamlarına geri bırakılmıştır. Jel numuneleri şişme dengesine ulaştığı ve artık alınan tartımların sabitlendiği ana kadar bu işleme devam edilmiştir. İşlem sonunda, maksimum şişme değerine ulaşan hidrojellerin denge anındaki su içeriği Denklem 5.2’den yararlanılarak hesaplanmıştır [204].

Tüm şişme deneyleri, her GA konsantrasyonu için üçer örnek üzerinden yürütülmüştür.

$$DSİ = \frac{m_d - m_o}{m_o} \times 100 \quad (5.2)$$

m_d ; hidrojelin denge anındaki ağırlığı,

m_o ; hidrojelin başlangıç anındaki kuru ağırlığıdır.

Tampon çözeltiler, Merck laboratuvar el kitabında verilen bileşimlere göre hesaplanarak doğruluğu pH metre ile kontrol edilmiştir. Hazırlanan tampon çözeltilerin içeriğindeki bileşenler ve oranları Tablo 5.2’de yer almaktadır.

Tablo 5.2. Tampon çözeltileri hazırlamada kullanılan kimyasallar ve oranları

Tampon Çözelti pH Değerleri	Çözelti Hazırlamada Kullanılan Kimyasallar ve Kullanım Oranları
2,0	0.1 M Disodyum sitrat ($C_6H_7O_7Na_2$) – 0.1 M Hidroklorik asit (HCl) 30,2 mL ($C_6H_7O_7Na_2$) + 69,8 mL HCl destile su ile 1 L’ye tamamlanır.
7,4	1/15 M Potasyum dihidrojen fosfat – 1/15 M Disodyum hidrojen fosfat 19,7 mL (KH_2PO_4) + 80,3 mL (Na_2HPO_4) destile su ile 1 L’ye tamamlanır.

5.2.9. Hidrojellerin tekrar kullanım sayısının şişme performansına etkisi

Bu deneysel çalışmada, hazırlanan kitosan jel örneklerinin saf su içerisindeki % şişme değerlerinin tekrarlı kullanım sonucunda şişme performansına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Hazırlanan jel numuneleri önce bir gün süreyle saf su içerisinde bekletilerek maksimum şişme değerine gelmesi beklenmiş, ardından tartımı alınan jel numuneleri vakum etüvünde (50 °C) kurutulduktan sonra tekrar şişme ortamına bir

gün süreyle geri bırakılmıştır. Bu işlem 5 tekrarla gerçekleştirilmiş olup, jel numunelerinin şişme değerleri tespit edilerek 5. kullanım sonundaki şişme performansları değerlendirilmiştir.

5.2.10. DSC

Kitosan ve farklı oranlarda gluteraldehit ile çapraz bağlanan kitosan hidrojellerin faz geçiş sıcaklıklarının (T_g) belirlenmesi amacıyla Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) testi uygulanmıştır. Yaklaşık 5 mg numune kullanılarak yapılan analizler, TA Instrument model DSC cihazında, 10 °C - 400 °C sıcaklık aralığında ve 10 °C/dak'lık sıcaklık artış hızında gerçekleştirilmiştir.

5.2.11. TGA

Kitosan miktarının ağırlıkça %1, %3, %5, %7 ve %10'nu oranlarında gluteraldehit içeren hidrojeller, termal davranışlarının incelenmesi amacıyla 20 °C - 600 °C sıcaklık aralığında, N₂ gazı atmosferinde ve 10 °C/dak'lık sıcaklık artış hızında TGA analizleri yapılmıştır. Analizler SDT 2960 Simultaneous DSC-TGA termal analiz cihazıyla, yaklaşık 5 mg numune kullanılarak yapılmıştır.

5.2.12. Mekanik dayanım testi

Çapraz bağlayıcı madde ve konsantrasyonunun, kitosan hidrojellerin mekanik özelliklerine etkisini belirlemek amacıyla farklı oranlarda GA ile içeren kitosan hidrojellere basma testi uygulanmıştır. 20x20 mm boyutlarında hazırlanan jel örneklerin analizi 3 tekrarla gerçekleştirilmiştir. Uygulanan bu yük sonucunda jellerde oluşan deformasyon oranı λ , Eşitlik 5.3 ve 5.4 ile hesaplanmıştır [205, 206].

$$L = L_0 - \Delta L \quad (5.3)$$

$$\lambda = L / L_0 \quad (5.4)$$

λ : Hidrojelin deformasyon oranı

L : Deforme olmuş hidrojinin uzunluğu (m)

L₀ : Deforme olmamış hidrojinin uzunluğu (m)

ΔL : Sıkışma miktarı (m)

Elde edilen verilerden yararlanılarak tüm jel örnekleri için gerilim-gerinim grafikleri oluşturulmuş ve elastik modülleri, G aşağıdaki eşitlikler yardımıyla belirlenmiştir.

$$\tau = G (\lambda - \lambda^{-2}) \quad (5.5)$$

$$\tau = F / A_0 \quad (5.6)$$

$$A_0 = \pi \left(\frac{D_0}{2} \right)^2 \quad (5.7)$$

τ : Deforme olmamış şişmiş hidrojin birim alanına uygulanan F kuvveti (Pa)

G : Elastik modül (Pa)

D_0 : Deforme olmamış şişmiş hidrojin çapı (m)

A_0 : Deforme olmamış şişmiş hidrojin alanı (m²)

5.2.13. *In vitro* bozunma

Doğal ve biyobozunur bir polimer olan kitosanın bozunma davranışı üzerine yapılan birçok *in vitro* çalışmada molekül ağırlığı, deasetilasyon derecesi, ortam pH'ı, enzim türü ve konsantrasyonu gibi parametrelerin etkisi detaylıca araştırılmıştır. Gravimetrik yöntem, jel geçirgenlik kromatografisi, elektron mikroskobu vb. yöntemler doğal bir polimerin bozunma davranışını karakterize etmek için kullanılan yaygın tekniklerdir [207-209].

Bu deneysel kısımda, kitosan hidrojenlerin gravimetrik yöntemle *in vitro* bozunma davranışlarının incelenmesi, kitosan molekül ağırlığının ve çapraz bağlayıcı oranının bu bozunma davranışına etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Hazırlanan kitosan esaslı hidrojenler, *in vitro* bozunurluklarının tayin edilmesi amacıyla liyofilize edilip benzer boyutlarda kesilerek ilk tartımları (W_0) not edilmiştir. Numuneler, lizozim enzimi (0,5 mg/mL) içeren ve içermeyen iki farklı pH 7,4 PBS (3 mL) çözelti ortamına daldırılarak 37°C sabit koşullar altında inkübasyona bırakılmıştır. Ağırlık kayıplarının ölçülmesi için belirlenen periyotlarda bozulma ortamından çıkarılıp saf su ile yıkanan örnekler, üzerlerindeki fazla suyun filtre kâğıdı ile giderilmesinin ardından 50°C vakum ortamında kurutulmuş ve tartımları alınmıştır (W_f). Her tartımdan sonra numuneler tazelenen çözelti ortamında tekrardan inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlemler, 3 gün arayla çözelti ortamının tazelenmesi koşuluyla 1 ay boyunca devam ettirilmiştir. Elde edilen tartım sonuçları Denklem 5.8'den yararlanılarak kitosan hidrojenlerin bozunma grafikleri oluşturulmuştur [210].

$$D (\%) = \frac{W_0 - W_f}{W_0} \times 100 \quad (5.8)$$

$D (\%)$: Bozunma yüzdesi

W_0 : Başlangıç kütlesi

W_f : Son kuru kütleyi ifade etmektedir.



6. BULGULAR VE TARTIŞMA

6.1. Viskozite Tayini

Viskozite değeri, kitosanın fizikokimyasal özellikleri ve ticari olarak uygulanabilirliği üzerinde etkili olan en önemli parametrelerden biridir. Üretim koşulları, molekül ağırlığı, kitosan konsantrasyonu, moleküller arası itme etkileşimleri vb. doğrudan etkilenmekte olup bu parametrelerin değiştirilmesiyle kitosan çözeltilerin viskozite değerleri değiştirilebilmektedir [10, 211].

%1 kitosan konsantrasyonunda hazırlanan örneklerin asidik ortamdaki viskozite değerleri tayin edilmiştir. Brookfield viskometresiyle (Spindle No:3) yapılan ölçümlerde alınan değerler Tablo 6.1’de sunulmuştur.

Tablo 6.1. Viskozite değerleri

Kitosan	Hız (rpm)	Viskozite (cP)
%1 DM _w	100	101,5
%1 OM _w	100	333,5

Değerler 2 tekrarın aritmetik ortalamasıdır.

Elde edilen viskozite değerlerinden yararlanılarak, iyonizasyon derecesinin bir fonksiyonu olan intrinsik viskozitenin belirlenmesi kitosan molekül ağırlığının hesaplanmasında yaygın kullanılan bir yöntemdir.

Ticari olarak kullanılan DM_w kitosanların viskozite değerleri 20-300 cPa, OM_w kitosanların viskozite değerleri ise 200-800 cPa arasında değişiklik gösterir [26]. Yüksek molekül ağırlıklı kitosanlar 2000 cPa ve üzeri viskozite değerlerine sahip olmakla beraber elde edilecek yüksek viskoz çözeltiler işleme zorluğunu da beraberinde getireceğinden endüstriyel uygulamalarda tercih edilmezler.

Muzzarelli vd. (1985), yüksek molekül ağırlığa sahip kitosan viskozitesinin düşük molekül ağırlığa sahip kitosan viskozitesine kıyasla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir [212]. Nitekim mevcut çalışmada elde edilen deneysel sonuçlar bu açıklamayı doğrulamakta olup, yüksek molekül ağırlığa sahip kitosan grubunun viskozite değerlerinde artış gözlenmiştir.

Yine kimyasal yöntemle kitosan üretiminin yapıldığı birçok çalışmada deasetilasyon süresinin ve derecesinin yanı sıra ortam pH'ının artmasının viskoziteyi artırdığı; demineralizasyon süresinin artması veya ortam sıcaklığının düşmesinin ise viskozite değerlerini düşürdüğü belirtilmiştir [213-215].

6.2. Çözünürlük

Yüksek molekül ağırlığı ve kristal yapısı gereği su ve yaygın inorganik asitlerde çözünürlüğü kısıtlı olan kitosanın, en yaygın kullanılan çözücüsü %1'lik asetik asit çözeltisidir. % çözünürlük değeri hesaplanan kitosan örneklerine ait veriler Tablo 6.2'de sunulmuştur.

Tablo 6.2. Çözünürlük değerleri

Kitosan	Çözünürlük (%)
%1 DM _w	%95,5
%1 OM _w	%91

Kitosan çözünürlüğünü etkileyen en önemli parametrelerden biri ortamın pH'ıdır. Kitosan, yapısındaki serbest amino grupları sayesinde pH < 6 olan ortamlarda protonasyona uğrar ve oluşan katyonik alanların elektrostatik itmesiyle kolayca çözünür. pH > 6,5'da ise amino grupları daha az protonlandığından çözünürlük stabilitesi zayıflar ve çökme meydana gelir.

Kitosan çözünürlüğü pH'ın yanı sıra moleküler ağırlık, kitin eldesinde kullanılan ön işlemler, deasetilasyon derecesi ve işlem koşulları (sıcaklık, alkali konsantrasyonu, işlem süresi), iyonik güç, asetil gruplarının dağılımı gibi faktörlerden doğrudan etkilenmekte, dolayısıyla bu parametreler değiştirilerek çözünürlük kontrol edilebilmektedir [17, 216, 217].

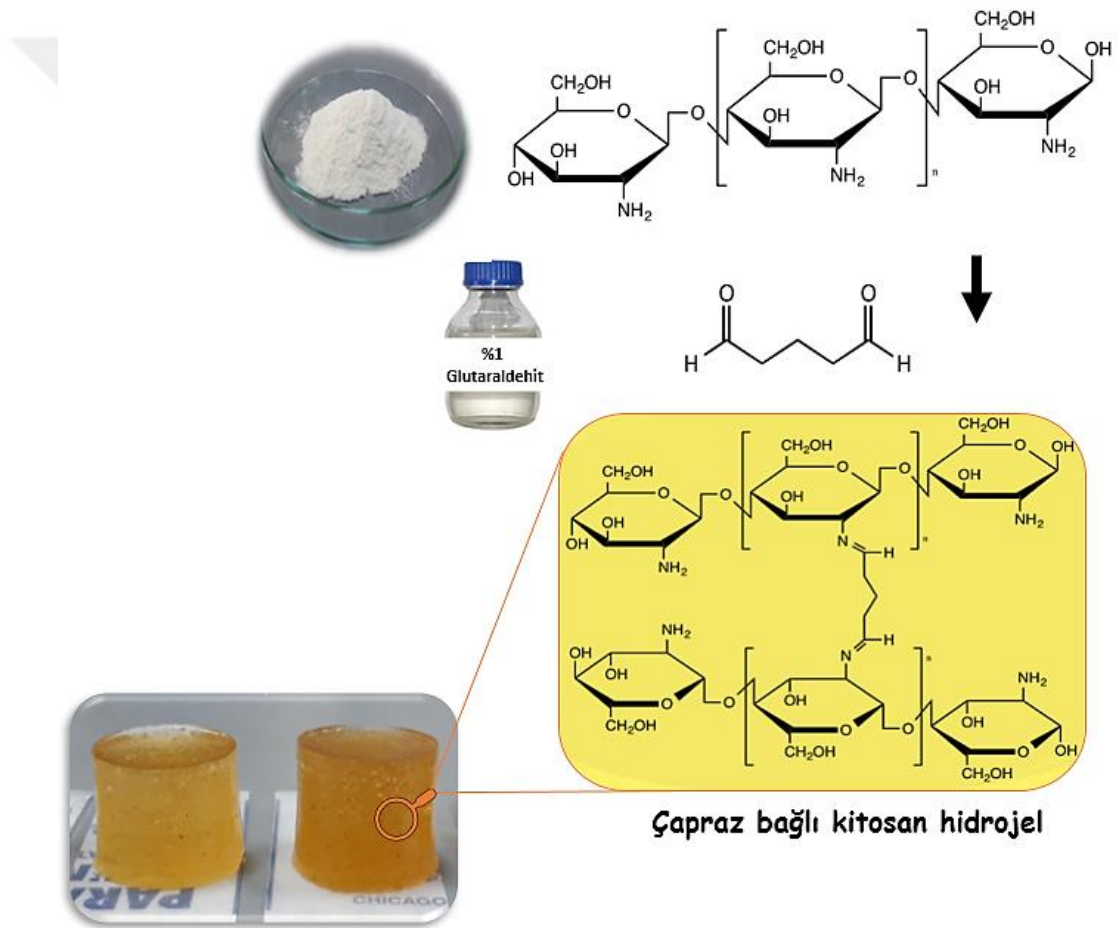
Hossain ve Iqbal (2014), karides kabuklarından kimyasal yöntemle elde ettikleri kitosanın kalitesinin ekstraksiyon işlemlerine bağlı olduğunu, uygun konsantrasyon ve sürede çalışıldığında (24 saat süreyle 60°C'de %60 NaOH) yüksek deasetilasyon derecelerinde (%81,2) ve yüksek çözünürlükte (%97,6) kitosan elde etmenin mümkün olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada %30 ve %40 NaOH konsantrasyonunda deasetillenmiş kitosanların %48,3 ila %71,27 arasında değişen bir çözünürlük

sergilediği görülürken, %50 ve %60 NaOH ile deasetillenen kitosanların %97,6'lara ulaşan mükemmel bir çözünürlüğe sahip olduğu bulunmuştur [215].

No ve diğer. (1995) göre istenilen çözünürlüğün elde edilebilmesi için kitosanın en az %85 oranında deasetilasyonunu tamamlanmış olması gerekmektedir [218].

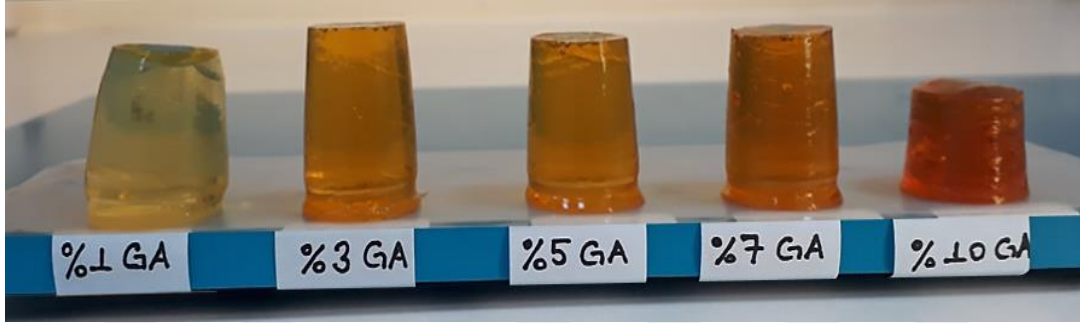
6.3. Gluteraldehit ile Çapraz Bağlanan Kitosan Hidrojeller

Kitosan biyopolimeri ile gluteraldehitin çapraz bağlanma mekanizmasına ait şematik gösterim Şekil 6.1'de, elde edilen kitosan hidrojellerine ait görüntüler Şekil 6.2 ve Şekil 6.3'de yer almaktadır.

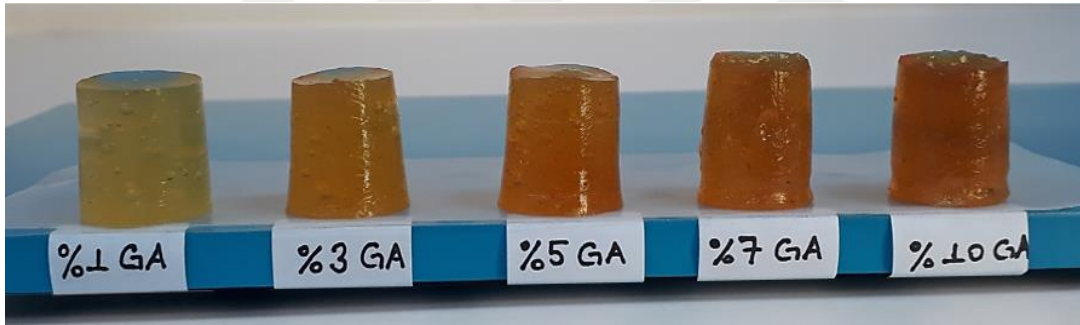


Gluteraldehitin yapısındaki aldehit grupları ($-CHO$), kitosanın yapısındaki amin gruplarına ($-NH_2$) imin grubu üzerinden Schiff bazı reaksiyonuyla bağlanması sonucu kitosan hidrojeller elde edilir. Kitosan ve gluteraldehit arasındaki bu kimyasal reaksiyon sonucu oluşan jellerde sarı-turuncu renk döngüsü gözlemlenir. Meydana

gelen renk değişimi, $-NH_2$ ve $-CHO$ grupları arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonunun tamamlandığının bir göstergesidir. Ayrıca kitosan molekül ağırlığının ve jel içeriğindeki çapraz bağlayıcı konsantrasyonun artması, çapraz bağlanmanın hızıyla beraber renk koyulaşmasını da artırdığı gözlemlenmiştir.



şekil 6.2. Artan glutaraldehit konsantrasyonun çapraz bağlanma ve renk değişimine etkisi (DM_w)



şekil 6.3. Artan glutaraldehit konsantrasyonun çapraz bağlanma ve renk değişimine etkisi (OM_w)

DM_w kitosan jellerin çapraz bağlanma süresi, OM_w 'lara nispeten daha uzun olarak gözlemlenmiştir. Bu durum, GA ilavesi sonrası daha uzun karıştırma imknı sağlayarak GA'nın kitosan çözeltisi içerisinde daha etkin ve homojen dağılımını sağlamıştır. DM_w hidrojellerin görünümü OM_w 'lara kıyasla daha düzenli ve pürüzsüz iken OM_w hidrojellerin daha tok bir görünümün yanı sıra kitosan çözeltisi içerisindeki hava kabarcıkları oluşumu düşük olana nispeten daha yoğun olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun; yüksek viskozitenin etkisiyle soldan jele geçiş süresinin bir dakikadan daha kısa bir sürede tamamlanmış olduğundan reaksiyon sırasında oluşan gaz ve hava kabarcığı çıkışının tam olarak giderilememesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Zhou vd. (2008), kitosan ve α β -gliserolfosfat ile hazırlanan ısıya duyarlı hidrojellerin, ısıya duyarlılık özellikleri yanı sıra görünümü ve yapısının kitosan konsantrasyonu,

molekül ağırlığı ve deasetilasyon derecesine doğrudan etkilendiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, hidrojellerin görünümünün M_w artışı ile daha tok ve düzenli bir hale geldiği ancak DD'nin %85'in üzerine yükseldiğinde yapının daha kompakt ve düzensiz hale geldiğini belirtmişlerdir [219].

6.4. Sol Miktarının Belirlenmesi

Polimerik hidrojellerin sol içeriği, yapının içerisindeki çapraz bağlanmamış ve çözünebilir polimerin miktarını ifade eden önemli bir parametredir. Zincirler arasındaki kimyasal çapraz bağlanma tam olarak gerçekleşmediği takdirde sıcaklığa duyarlı jellerde şişme-büzülme geçişi, sol-jel faz geçişine uğrayabilmektedir. Bu durum nispeten daha düşük sol içeriğe sahip jellerin, daha yüksek çapraz bağ verimine sahip olduğu ile ilişkilendirilebilmektedir [100, 220].

Yapılan deneysel çalışmada, farklı konsantrasyonlarda gluteralehit ile çapraz bağlanan DM_w ve OM_w kitosan jellerin ortalama sol içeriği sırasıyla %26,12 ve %44,08 olarak bulunmuştur. Bu durum; OM_w 'lara kıyasla DM_w kitosan jellerde, düşük molekül ağırlık ve nispeten daha rahat moleküler hareketliliğin bir sonucu olarak daha etkin bir çapraz bağlanma gerçekleştiğini göstermiştir.

Yüksek M_w 'lı kitosan hidrojellerin sahip olduğu yüksek viskozite ve düşük çözünürlük değerleri, ortam pH'ının da etkisiyle matris içerisindeki -CHO ve -NH₂ molekül etkileşimlerini etkileyerek etkin ve homojen bir çözelti oluşumunu sınırlandırdığı, bu durumun çapraz bağlanma verimini düşürerek OM_w kitosan hidrojellere ait sol içeriğin daha yüksek çıkmasına sebep olduğu düşünülmektedir.

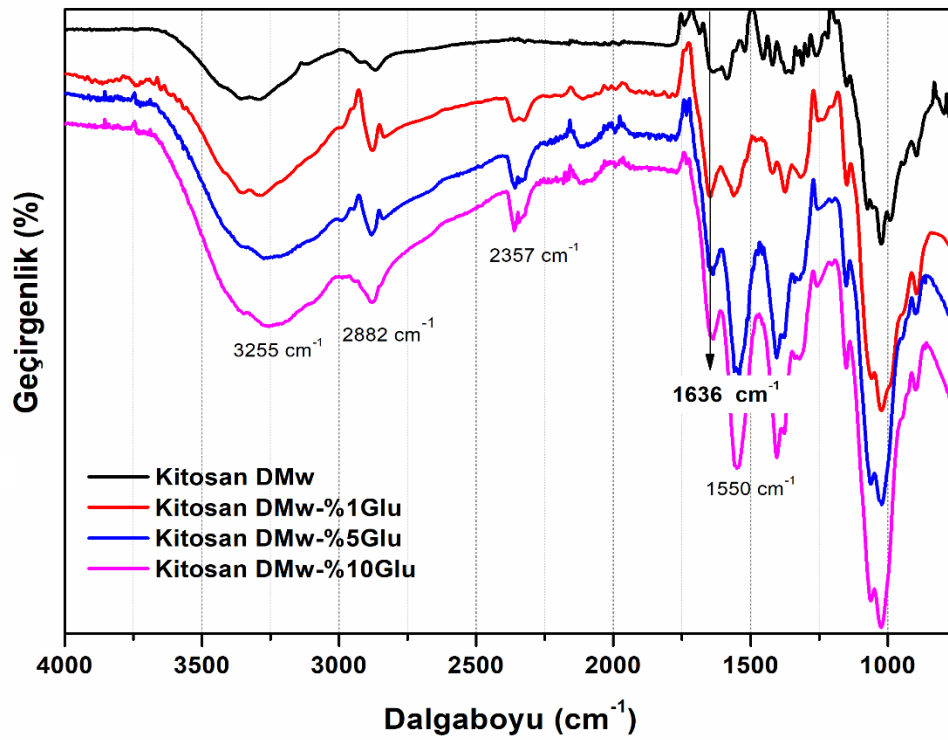
Diğer yandan, su molekülleri ile hidrojen bağı yapabilen -NH₂ grupların -CHO grupları ile çapraz bağlanma reaksiyonuna katılması hidrofobikliği artırmaktadır. CS/GA oranı azaldıkça sol içeriğinin 0,310'dan 0,200 (g/g)'a düştüğü görülmektedir. Bu sonuç, GA içeriğindeki artışın CS/GA hidrojel sistemindeki çapraz bağlanma yoğunluğunun artmasına dolayısıyla daha düşük sol içeriği ve daha düşük su alımına yol açmıştır.

Zhou vd. (2018), UV radyasyonu altında sentezledikleri maleatlanmış kitosan/metakrilatlı poli(vinil alkol) hidrojellerden nispeten daha düşük sol içeriğe sahip olanların daha yüksek çapraz bağ verimine ulaştığı, çapraz bağ yoğunluğu ve molekül ağırlığındaki artışın daha düşük sol içeriğine beraberinde daha düşük su alımına neden olduğu tespit edilmiştir [100].

6.5. Kitosan Hidrojellerin FTIR Analizi

FTIR spektroskopisi, bir malzemenin moleküllerinin yapısındaki kimyasal bağların veya fonksiyonel grupların varlığını belirlemek için kullanılan bir yöntemdir [221]. Gluteraldehit ile çapraz bağlanan kitosan hidrojenlerin yapısında amino gruplarının bulunması beklenir. Bu varsayımı doğrulamak için FTIR analizi yapılmıştır.

FTIR çalışmaları, çapraz bağlanmamış ticari kitosan ve belirlenen oranlarda GA ile çapraz bağlanmış kitosan hidrojenler ile gerçekleştirilmiştir. DM_w kitosan ve kitosan jellerine ait FTIR spektrumları Şekil 6.4'te, OM_w kitosan ve kitosan jellerine ait FTIR spektrumları ise Şekil 6.5'te sunulmaktadır.



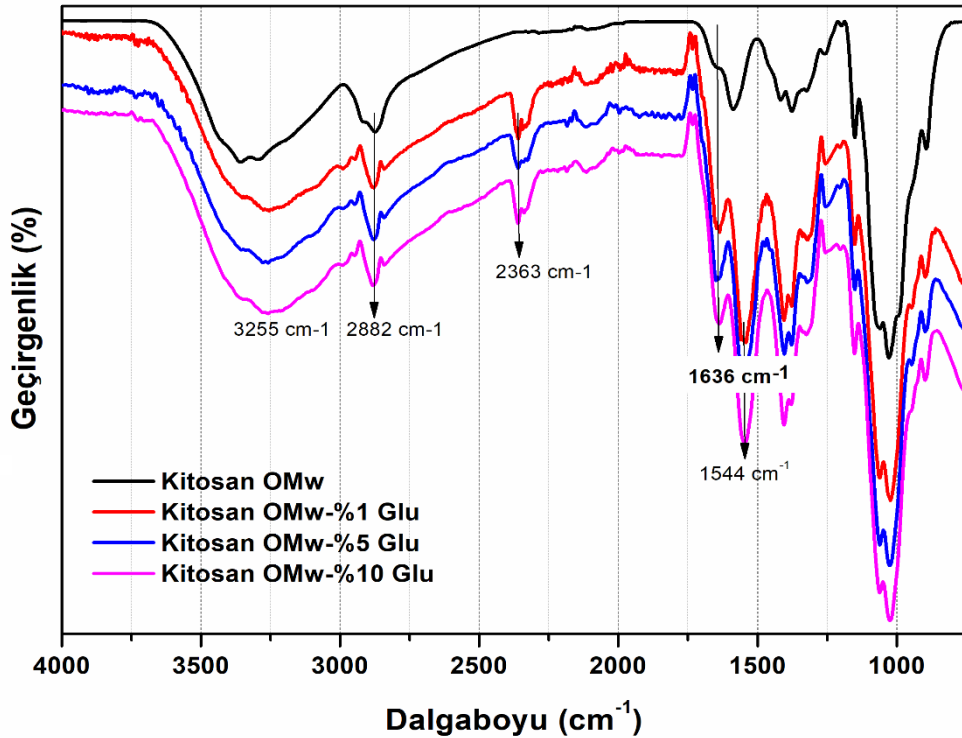
Şekil 6.4. DM_w ticari kitosan ve çapraz bağlı kitosan jellere ait FTIR spektrumları

GA içeren kitosan hidrojenlerin çapraz bağlanma öncesi ve sonrası değişimlerini görmek adına ham kitosana ait spektrumlarla birlikte sunulmuştur. Şekil 6.4'te yer alan veriler incelendiğinde, N-H ve O-H hidroksil gruplarının varlığına atfedilen 3364-3225 cm⁻¹ arasında geniş bir bant görülmektedir [112, 222-224]. 2882 cm⁻¹'deki bandın C-H gerilme titreşim bandına [225], 1647-1566 cm⁻¹ aralığında gözlenen keskin tepe noktalarının amid II grupları ile serbest amin (-NH₂) gruplarındaki N-H eğilme titreşimine [222, 226, 227], 1373 - 1308 cm⁻¹ aralığındaki tepe noktaların C-H eğilme titreşimine ve CH₃ simetrik deformasyonuna [228], 1155 cm⁻¹'deki küçük tepe

noktasının C-O-C bağlarının asimetrik gerilmesine, 1050-1026 cm^{-1} aralığının ise kitosanın polisakkarit yapısının bir karakteristiği olan C-O gerilmesine atfedilmiştir [224, 229]. Mallika vd. (2006) göre, kitosanın serbest amin gruplarındaki N-H eğilme titreşiminin 1596-1599 cm^{-1} bandında seyrettiği ve bu pikin şiddetinin yapıdaki serbest amin grubunun varlığına yani DD'ne bağlıdır [230].

%1, %5 ve %10 oranda GA ile çapraz bağlanan hidrojellerin FTIR spektrumları incelendiğinde 1636 cm^{-1} bandında küçük tepe noktaları görülmektedir. Bu tepe noktaları, kitosan ve GA arasındaki imin bağlarının C=N varlığına atfedilmektedir [111, 112, 197]. Bu bandın varlığı, kitosan ve GA'nın Schiff reaksiyonunu yani kovalent çapraz bağlanmasını doğrulamaktadır. Diğer yandan 1647-1550 cm^{-1} de seyreden primer aminlerin N-H eğilme titreşim bandına ait şiddetin azalarak daha düşük dalga sayısına kaymaktadır. Bu durum, kitosanın GA ile reaksiyonu sonucu azalan $-\text{NH}_2$ gruplarının N-H bandının şiddetini azaltmasına atfedilmektedir [111, 199]. GA oranının artması ile 1058-1026 cm^{-1} 'deki bantların şiddetinde artış görülürken, 619 cm^{-1} 'de $-\text{NH}_2$ 'ye ait sallanma titreşimi bandı görülmektedir [199].

Tüm FTIR analiz sonuçları, kitosan ve GA arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonunda kitosan amino gruplarının varlığını doğrulamaktadır.



Şekil 6.5. OM_w ticari kitosan ve çapraz bağlı kitosan jellere ait FTIR spektrumları

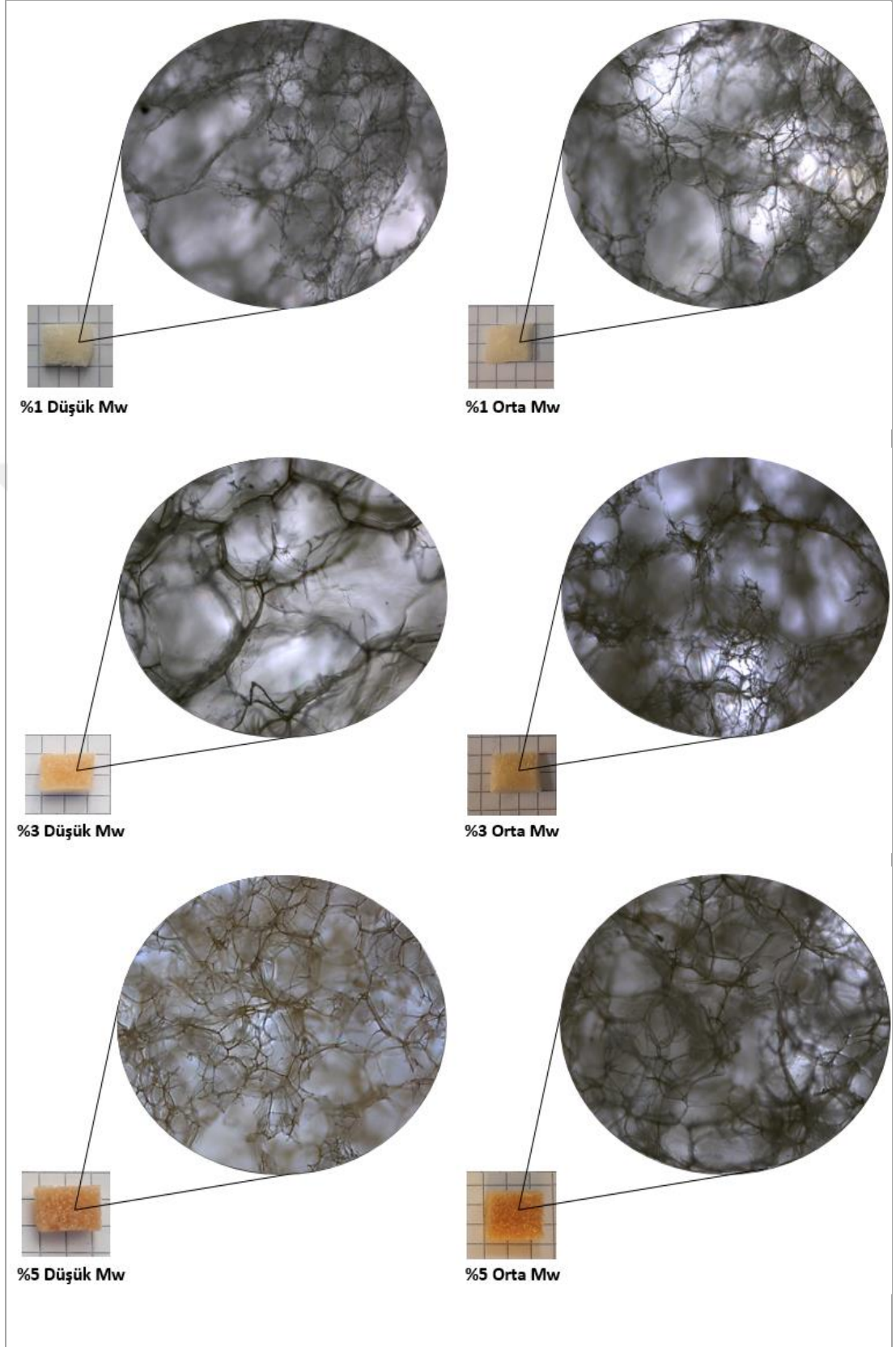
Şekil 6.5'te sunulan OM_w saf kitosan ve çapraz bağlı kitosan hidrojellere ait FTIR spektrumları incelendiğinde, farklı M_w'a sahip jel örneklerin spektrumlarında belirgin bir farklılığın olmadığı görülmektedir. Saf kitosana ait veriler incelendiğinde, 3255 cm⁻¹'de görülen geniş yayvan bandın moleküller arası hidrojen bağlarına ve hidroksil gruplarının (O-H) varlığına atfedilmektedir [219, 231]. 2882 cm⁻¹'deki bandın C-H gerilme titreşimine, 1655-1565 cm⁻¹'de gözlenen keskin tepe noktalarının amid I ve amid II ile serbest -NH₂ gruplarındaki N-H eğilme titreşim bandına [197, 199, 224], 1381-1316 cm⁻¹'de gözlenen tepe noktalarının C-H eğilme titreşimine ve CH₃ simetrik deformasyonuna [197, 231] atfedilir. DM_w kitosandan farklı olarak; kitosanın polisakkarit yapısına atfedilen 1050 cm⁻¹ ve 913 cm⁻¹'deki C-O gerilme piklerinin belirginliğini kaybederek 1026 cm⁻¹ bandı ile birleşmiştir. Bu sonuçların, DM_w kitosan spektrumlarıyla örtüştüğü görülmektedir.

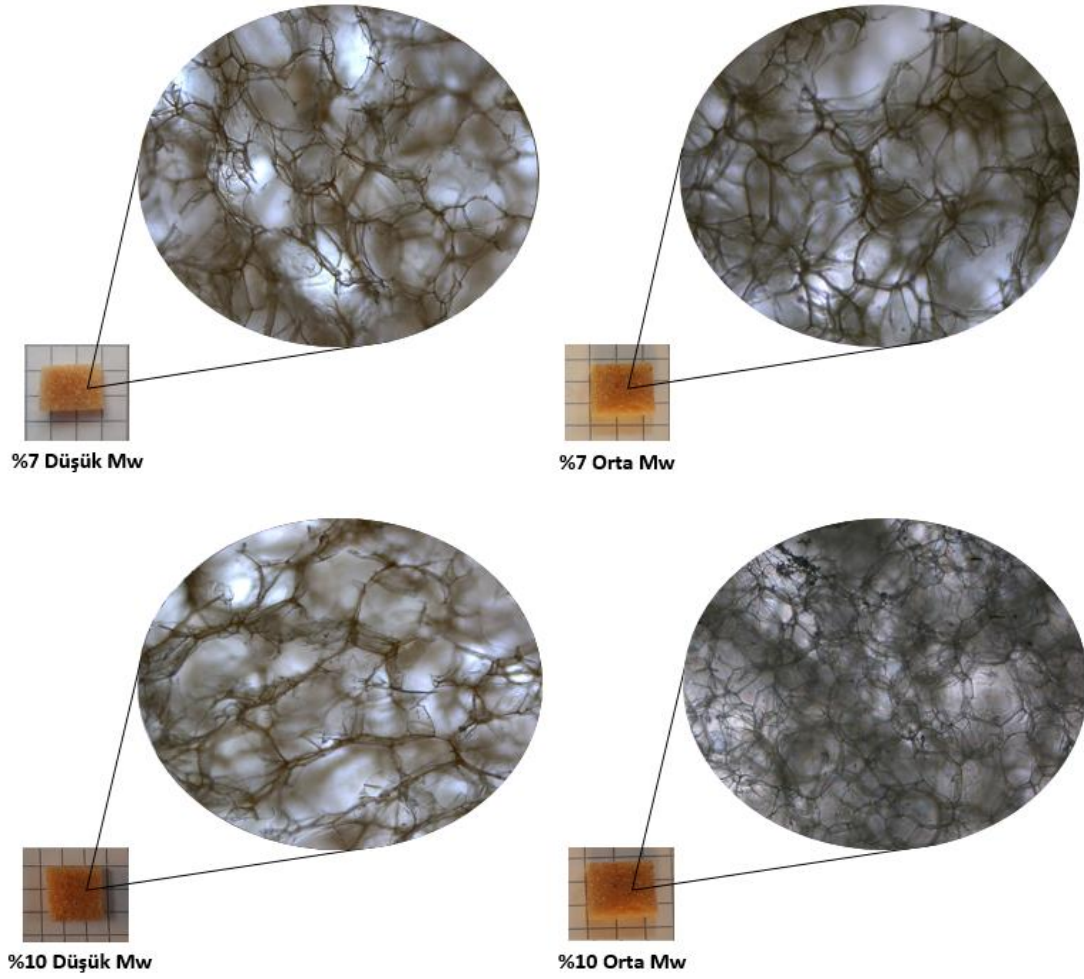
Zhou vd. (2008)'nin çalışmasına göre, farklı molekül ağırlığında ve DD'de sentezlenen ısıya duyarlı hidrojellerin FTIR spektrumlarında belirgin bir fark görülmediği, DD'sindeki azalmanın 1650 cm⁻¹'de seyreden ve amid I bağının varlığına atfedilen bandın yoğunluğunu bir miktar arttığını belirtmişlerdir [219].

Martinez-Mejia vd. (2019), farklı oranlarda GA ile çapraz bağlı kitosan hidrojellere ait FTIR spektrumlarında, imin bağının (HC=N-) gerilme frekanslarına atfedilen 1638 cm⁻¹'deki absorpsiyon bandının ve - N-H ile -OH germe titreşiminin görüldüğü 3326 cm⁻¹'deki bandın sinyallerinde artan çapraz bağ oranı ile artış olduğunu rapor etmişlerdir [197].

6.6. Optik Mikroskop

Farklı molekül ağırlığı ve glutraldehit konsantrasyonlarında hazırlanan kitosan hidrojellerin, görünür ışıktaki görüntü ve morfolojileri bir optik mikroskop yardımıyla incelenmiştir. 40x - 50x büyütme mercekleri kullanılarak görüntüleri alınan kuru jellere ait gösterim Şekil 6.6'da sunulmaktadır. Optik mikroskop ile morfolojik görüntülerin yanı sıra jellerin gözenek çapları ve çap uzunlukları da belirlenebilmektedir. Bu veriler, farklı çapraz bağ yoğunluklarına sahip kitosan hidrojellerin ortalama gözenek boyutlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.





Şekil 6.6. Farklı oranlarda GA ile çapraz bağlı kitosan hidrojellere ait optik mikroskop görüntüleri

Şekil 6.6’da sunulan ve kitosana göre ağırlıkça %1-3-5-7-10 oranda GA ile çapraz bağlanarak hazırlanan kitosan hidrojellerin optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde, gözenekli bir yapıya sahip olan hidrojel matris içeriğindeki çapraz bağlayıcı oranı arttıkça jellerin gözenek boyutlarının ve çaplarının küçüldüğü görülmektedir. Bu durum jellerin şişme davranışlarını doğrudan etkilemektedir.

Mirzaei vd. (2013), ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılacak kitosan hidrojelleri farklı oranlarda GA ile çapraz bağlayarak gözenek boyutları ve şişme değerleri arasındaki ilişkiyi analiz etmişlerdir. Deneysel sonuçlar, GA oranının 0,068'den 0,30'a yükseltilmesiyle gözenek çaplarının 100'den 500 mm'ye değiştiğini ve denge şişme değerlerinin %1200'den %600'e düştüğünü ortaya koymuştur [232].

%7 OM_w ve %10 DM_w jellerin gözenek boyutlarının beklenenden daha büyük ve geniş olması, bu jellerin sol içeriği oranının diğerlerinden daha fazla olması ile ilişkilidir. Nitekim yapılan şişme denemelerinde, sol içeriği yüksek olan grupların daha fazla su absorplayarak yüksek şişme değerleri kaydettiği rapor edilmiştir.

6.7. Kitosan Hidrojellerin SEM Analizi

Yapılan hidrojel çalışmalarında en yüksek ve en düşük şişme değerlerine sahip olduğu tespit edilen %1 ve %10 gluteraldehit katkılı kitosan hidrojellerin yüzey morfolojilerini incelemek amacıyla SEM analizi yapılmıştır. SEM görüntüleri sayesinde hidrojel numunelerin gözenek yapısı ve boyutları hakkında fikir sahibi olunur. Özellikle biyomedikal ve salım çalışmalarında kullanılacak polimerik malzemelerin, kullanım yüzeyinde herhangi bir implantasyona sebep olmaması için yüzey özelliklerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

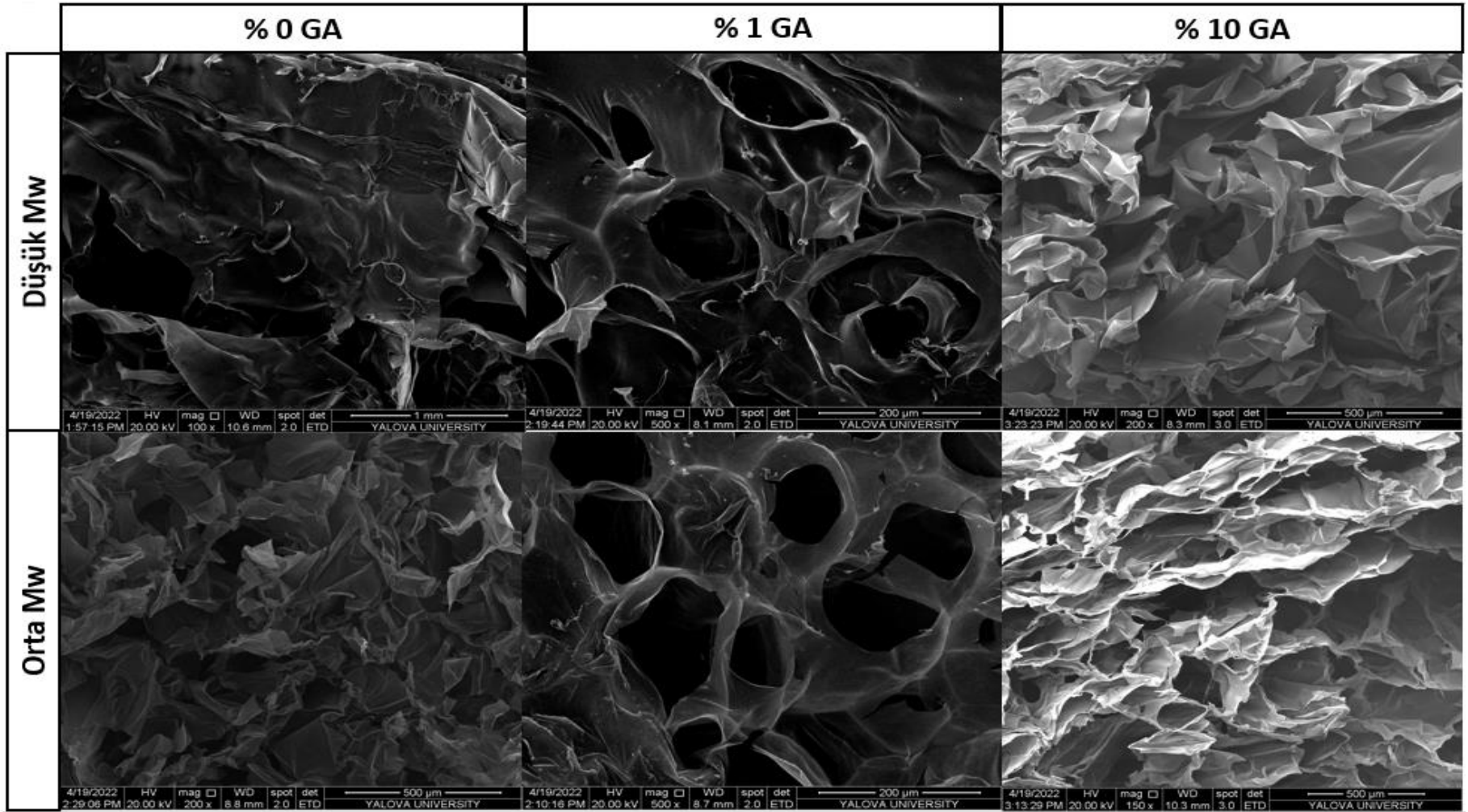
Şekil 6.7’de yer alan, farklı oranlarda GA içerikli DM_w ve OM_w kitosan hidrojellere ait SEM görüntüleri incelendiğinde; hidrojel matrisinin gözenekli bir yapıya sahip olduğu, içeriğindeki GA miktarının artışıyla bu gözeneklerin boyutunda belirgin bir küçülme meydana geldiği görülmektedir. Yapılan hidrojel çalışmalarında en yüksek şişme değerlerine ulaşan jellerin en büyük gözenek boyutuna sahip jeller olduğu görülmüştür. OM_w’a kıyasla DM_w kitosan hidrojellerin göreceli olarak daha düzgün, daha homojen bir gözenek yapısına sahip olduğu görülmektedir. Bu durumun, düşük M_w ve düşük viskozite değerlerinin daha etkin bir çapraz bağlanmaya ve sonucunda daha homojen gözenek yapısının oluşumuna olanak sağladığı düşünülmektedir.

Ritonga vd. (2019), tarım uygulamalarında verimliliği artırmak için su depolamada rol oynayacak gluteraldehit ile çapraz bağlı kitosan ko-poliakrilamid hidrojelleri geliştirmiştir. Geliştirilen hidrojellerin morfolojik değerlendirmeleri sonucunda, düşük çapraz bağ oranına sahip jellerin gözenek boyutlarının belirgin bir şekilde büyük ve yoğun, yüzey görünümlerinin ise daha pürüzsüz olduğu belirtilmiştir. Bu gözenekli yapıların yüksek su absorpsiyonu sağlayarak tarım ve toprak madenciliği sahalarında verimliliğin artmasına fayda sağlayacağı düşünülmektedir [233].

Mirzaei vd. (2013), ilaç salımında kullanılmak üzere farklı oranlarda gluteraldehit ile çapraz bağlanan jellerin, çapraz bağlayıcı miktarındaki artış ile gözenek boyutlarının küçülmesine neden olarak 500 µm’den 100 µm’ye, şişme değerlerinin ise %1200’den

%600'e değiştiğini bildirmiştir. Ayrıca apraz bağlanma derecesinin, hidrojellerin yüzey morfolojilerini ve düzenli yapılarını da etkilediğini; çapraz bağlayıcı içermeyen saf kitosan hidrojellerin, GA içeren hidrojellere kıyasla morfolojilerinin daha düzgün ve pürüzsüz olduğunu bildirmiştir [232].

Zhou vd. (2008) tarafından gerçekleştirilen benzer bir çalışmada da farklı konsantrasyonlarda fakat aynı M_w (1360 kDa) ve DD (%75)'deki kitosan hidrojellerin morfolojik görüntüleri incelenmiş ve kitosan konsantrasyonundaki değişimlerin jellerin görünümünü etkilediği grlmştir. Kitosan konsantrasyonundaki artışın jel yüzeylerini daha kompakt ve nispeten düzensiz bir hale getirdiği dolayısıyla hidrojellerin morfolojik yapılarının çapraz bağlayıcı konsantrasyonunun yanı sıra kitosan özelliklerine de doğrudan bağlı olduğu ortaya koyulmuştur [219].



Şekil 6.7. Kitosan hidrojellere ait SEM görüntüleri

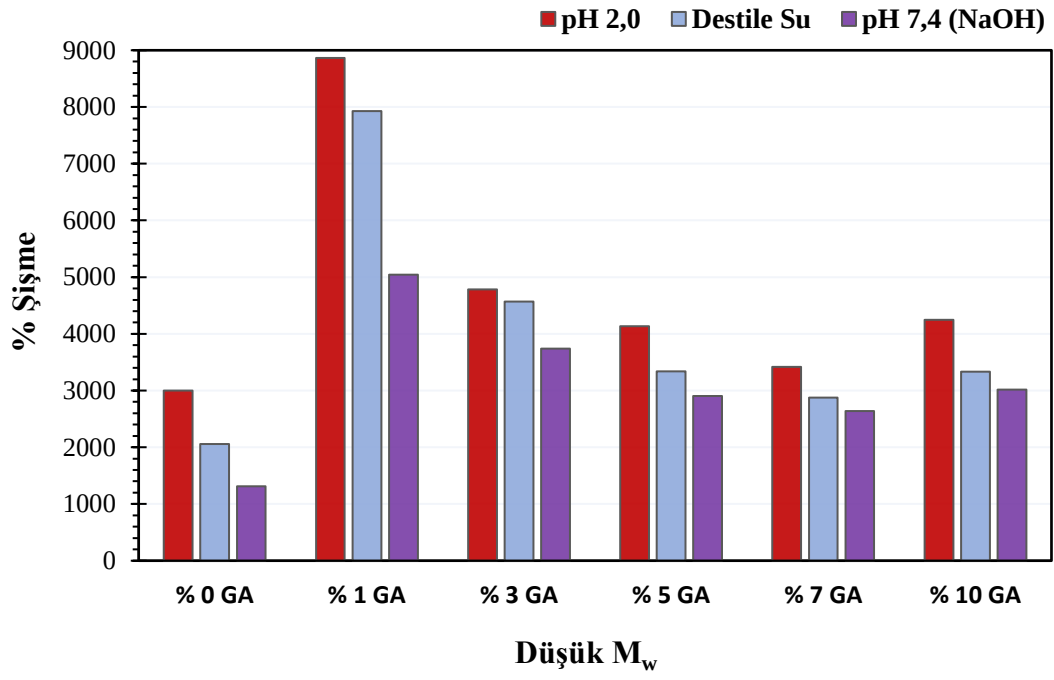
6.8. Kitosan Hidrojellerin Şişme Değerlerinin Belirlenmesi

Hidrojeller, yapılarında -OH, -COOH, -NH₂, -CONHR, -SO₃H gibi su molekülleri ile hidrojen bağı yapabilen gruplar içerdiğinden, su içine konulduklarında kuru hacimlerinin birkaç bin katına kadar şişme özelliği sergilerler. Hidrojellerin şişme kapasiteleri; malzemenin yapısal stabilitesi, gözenekliliği, absorplayabileceği sıvı miktarı gibi birçok konuda fikir verirken bu özellikleri bulundukları ortamın koşullarına göre değişiklik göstermektedir [210, 234, 235].

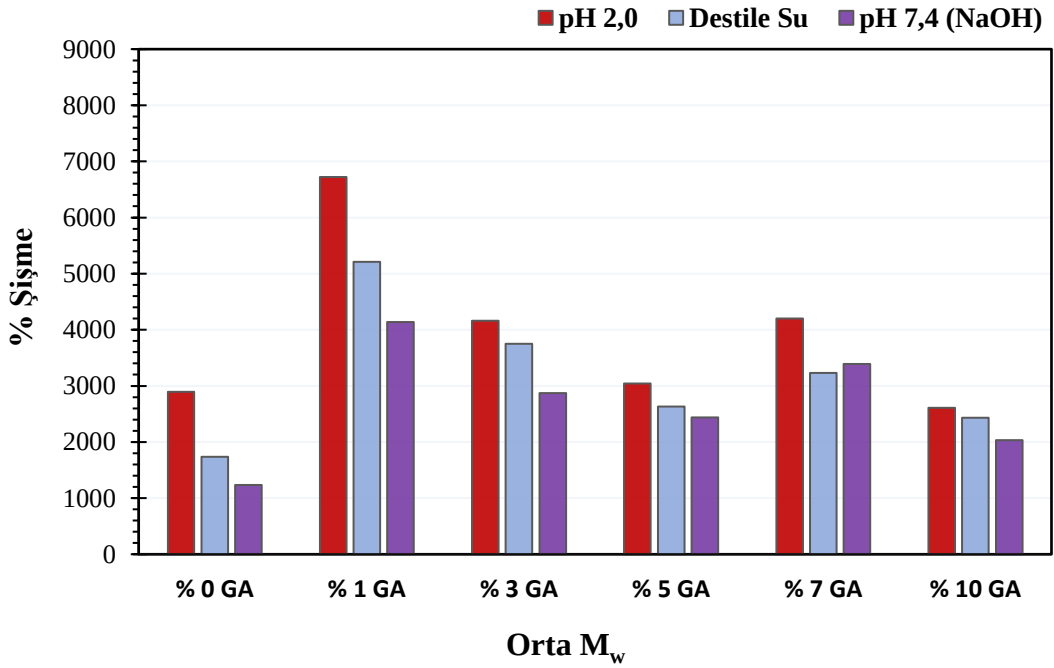
Şişme davranışı sergileyen çapraz bağlı polimerlerin şişme eğrilerinin oluşturulması, şişme kinetiğinin ve difüzyon mekanizmasının açıklanmasında son derece önemlidir [236].

5 farklı GA konsantrasyonunda çapraz bağlanan DM_w ve OM_w kitosan hidrojellerin şişme davranışları üç farklı ortamda (destile su, pH 2,0 ve pH 7,4) incelenmiştir. Belirli periyotlarda tartımları alınan jel numunelerinin denge noktasına ulaştığı andaki şişme değerleri ve zamana bağlı değişimleri gravimetrik yöntemle tayin edilmiştir.

Şekil 6.8’de DM_w kitosan hidrojellerin, Şekil 6.9’da OM_w kitosan hidrojellerin destile su ve farklı pH’lardaki % şişme değerleri sunulmaktadır. Şekil 6.10-6.11’de ürünlerin pH 2,0’daki, Şekil 6.12-6.13’te destile sudaki ve Şekil 6.14-6.15’te ise pH 7,4’teki şişme değerleri ve zamana bağlı değişimleri yer almaktadır. Tablo 6.3’te ise tüm jel örneklerine ait şişme değerleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir.



Şekil 6.8. DM_w kitosan hidrojelilerin (kuru) destile su ve farklı pH’lardaki şişme değerleri



Şekil 6.9. OM_w kitosan hidrojelilerin (kuru) destile su ve farklı pH’lardaki şişme değerleri

Her biri eşit kitosan konsantrasyonunda ve kitosana göre ağırlıkça %1-3-5-7-10 oranda GA ile çapraz bağlanarak hazırlanan jel numuneleri, ortalama 6 saatin sonunda maksimum şişme dengesine ulaşmıştır. Her iki molekül ağırlığına sahip kitosan jellerin, her üç ortamda da artan GA konsantrasyonu ile beraber % şişme değerlerinde farkedilir miktarda azalma kaydedilmiştir. Şekil 6.6'da sunulan optik mikroskop ve Şekil 6.7'de sunulan SEM görüntülerine istinaden bu durumun, artan GA miktarının jel yapısı içerisindeki gözenek boyutunu küçülterek su tutma kapasitesini azalttığını göstermektedir.

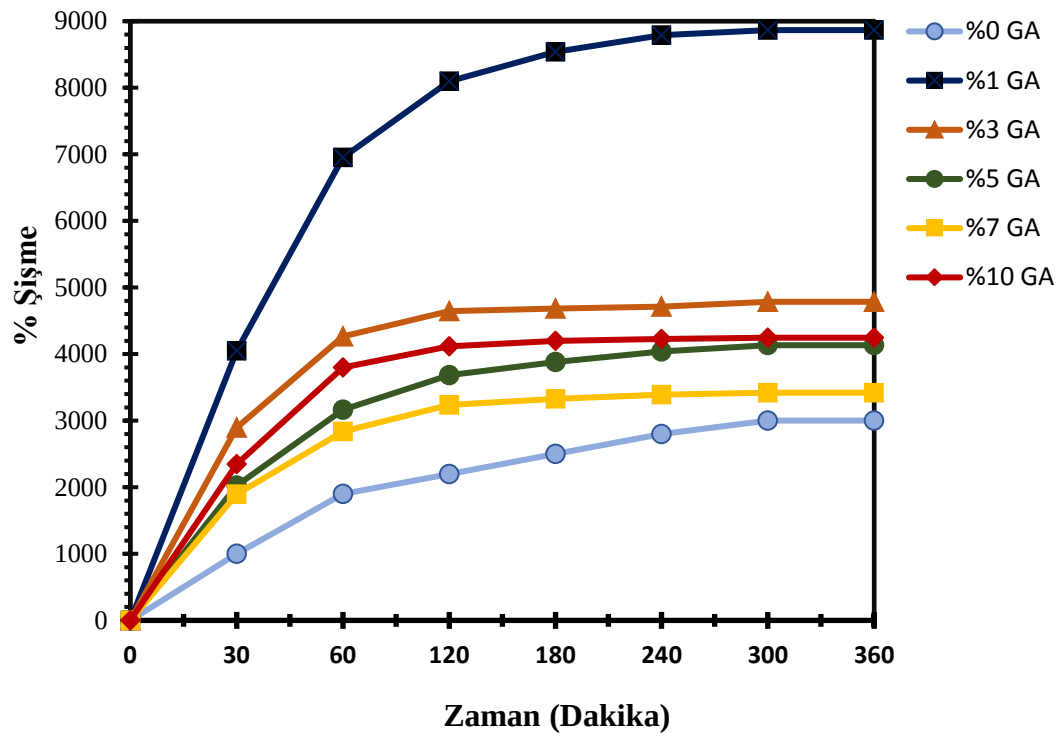
GA ile çapraz bağlı kitosan jeller, çapraz bağlı olmayan saf kitosan jellere kıyasla daha yüksek şişme değeri göstermiştir. Bu durumun, düşük çapraz bağ yoğunluğuna sahip jellerin daha geçirgen bir yapıya sahip olmasından kaynaklandığı söylenebilir. Zielińska vd. (2011), düşük konsantrasyonda gluteralehit ile çapraz bağlanmanın, zincirlerin yerel düzenlenmesine veya kitosan membranların hidrofobik doğasını arttırmaya yol açmadığını; düşük oranda çapraz bağlanmanın absorpsiyon kapasitesinde artışa neden olarak çapraz bağlı olmayan kitosana kıyasla daha yüksek şişme değerlerine ulaşıldığını rapor etmiştir [237]. Silva vd. (2004), düşük kristallığın su moleküllerinin erişilebilirliğini artırdığını öne sürerek düşük çapraz bağ oranına sahip (%1 GA) kitosan membranların çapraz bağlanmamış kitosana kıyasla daha yüksek denge şişme derecesine ulaştığını bildirmiştir. Çapraz bağ oranındaki artışın (%10 ve %20 GA) ise denge şişme derecelerini düşürmede etkili olduğunu gözlemlemiştir [238]. Benzer şekilde Wegrzynowska vd. (2020), çözücü ortamına bırakılan saf kitosan filmlerin çapraz bağlı olanlara kıyasla iki kat daha düşük şişme oranı sergileyerek ilk saatin sonunda %153; 24 saatin sonunda ise yaklaşık %490 şişme değerine ulaştığını bildirmiştir [239].

Diğer yandan; kitosanı karakterize eden en temel parametrelerden biri olan molekül ağırlığının, çapraz bağlanma yoğunluğu ve su absorplama yeteneği üzerinde önemli bir etkisinin olduğu, artan molekül ağırlığıyla şişme değerlerinin farkedilir derecede düştüğü görülmektedir. Şekil 6.7'de sunulan SEM görüntüleri, DM_w 'lara kıyasla daha küçük ve göreceli olarak daha az sayıda gözenek yapısına sahip olan OM_w kitosan jellerin şişme denge değerlerindeki bu düşüşü desteklemektedir. Düşük molekül ağırlığın sağlamış olduğu daha rahat moleküler hareketlilik ve matris içerisindeki homojen dağılım, yüzey alanının artmasına dolayısıyla daha fazla suyun bünyede

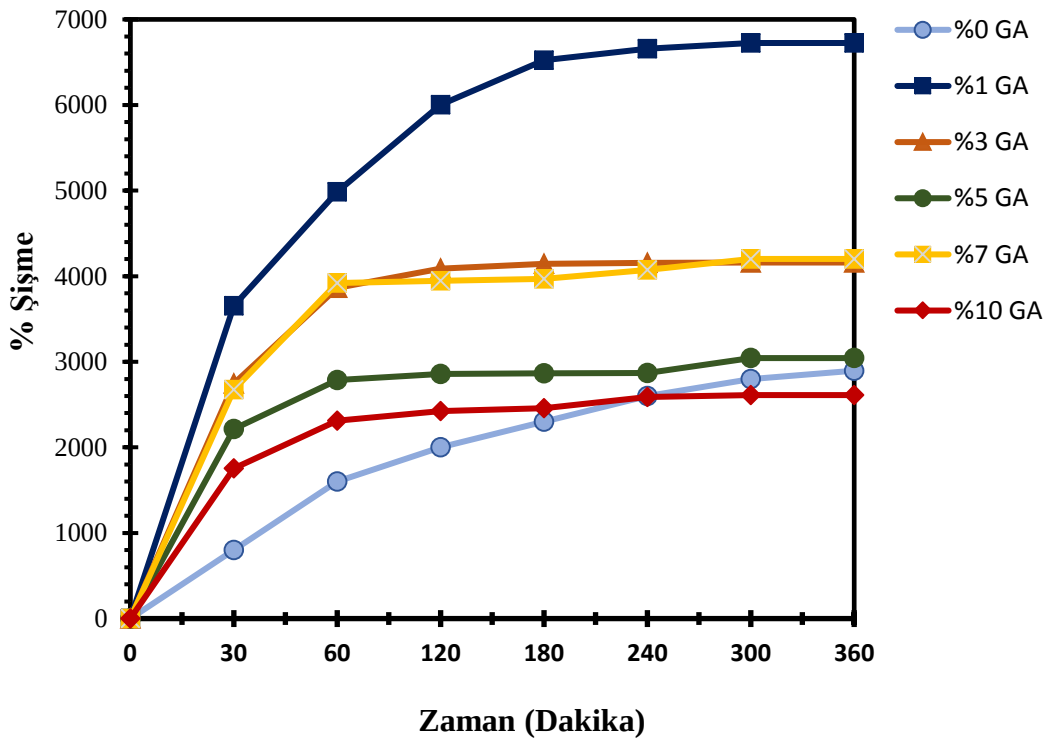
tutulabilmesine imkan sağlamaktadır. Etkin ve homojen karışım, çapraz bağlanma etkinliğini de artırmaktadır. Bu yüzden reaksiyona katılmayan kitosan molekülleri (Bkz. Bölüm 6.4) OM_w 'a göre daha düşük ve şişme denge değerleri daha yüksektir. Zhou vd. (2008), kitosanın molekül ağırlığı ve deasetilasyon derecesinin elde edilen hidrojeller üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmalarında, bu iki parametrenin jellerin viskozite, pH, ısıya duyarlılık özelliklerinin yanı sıra gözenek boyutu ve şişme davranışlarını da doğrudan etkilediği sonucuna varmıştır [219]. Berger vd. (2004), artan molekül ağırlığın kitosan jellerin mekanik dayanımında iyileşme gösterirken şişme değerlerinde ve geçirgenliğinde azalmaya yol açtığını rapor etmiştir [99]. Gupta vd. (2008), M_w ve DD'nin kitosan mikroküreler üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu ve düşük DD (ağırlıkça %48) ile düşük M_w (260 kg.mol^{-1}) sahip mikrokürelerin, yüksek DD (ağırlıkça %75) ile yüksek M_w (2227 kg.mol^{-1}) sahip mikrokürelerden daha yüksek şişme değerlerine ulaştığını rapor etmiştir [240]. Bu sonuçlar, Dutta vd. (2009) [241] ve Zhang vd. (2001)'nin bulgularıyla da uyumludur [242].

%10 GA oranına sahip DM_w kitosan hidrojellerin şişme denge değerleri, %7 GA oranına sahip DM_w kitosan hidrojellerin denge şişme değerlerinden bir miktar daha yüksek çıkmıştır. Bu durum, yapılan reaksiyona girmeyen kitosan tayininde %10 GA'nın en yüksek sol içeriğe sahip olmasıyla ilişkilendirilebilir. Nitekim sol içeriğinin artması çapraz bağ verimini düşürecek ve jelin daha fazla çözücü absorplamasını sağlayacaktır.

Benzer şekilde, OM_w kitosan hidrojeller arasında en yüksek sol içeriğe sahip olan %7 GA'nın %5 GA içerikli jellerden daha fazla şişme değeri kaydettiği görülmüştür.



Şekil 6.10. DM_w kitosan jellerin (kuru) pH 2,0'deki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği



Şekil 6.11. OM_w kitosan jellerin (kuru) pH 2,0'deki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği

Kitosan hidrojenlerin, 0,1 M disodyum sitrat ve 0,1 M HCl çözeltileri ile hazırlanan pH 2,0 tamponunda zamana bağı sergiledikleri şişme davranışları Şekil 6.10 ve 6.11’de sunulmaktadır. Genel olarak, çapraz bağlayıcı konsantrasyonundaki artışın jellerin su absorplama yüzdeleri belirgin oranda düşürdüğü gözlenirse de destile su ve pH 7,4 ortamlarına kıyasla en yüksek şişme değerlerine pH 2,0’de ulaşıldığı görülmektedir. Bu durum kitosanın katyonik yapısından kaynaklanmaktadır.

Asit ortamında, kitosan hidrojenlerin yapısında bulunan $-NH_2$ grupları protonlanarak pozitif yüklü $-NH_3^+$ haline geçerler. Kitosan zinciri boyunca esnekliği ve hidrofilikliği artıran bu iyonik grupların varlığı aralarında itmenin oluşmasına, ağ yapının genişlemesine ve çözücü moleküllerinin genişleyen bu yapıya daha rahat nüfuz etmesine yol açar. Bu sayede daha fazla çözücü absorplayan hidrojenler daha yüksek şişme değerine ulaşırlar.

Şekil 6.10’da yer alan DM_w kitosan hidrojenlere ait zamana bağı % şişme değerleri incelendiğinde, GA konsantrasyonu arttıkça şişme değerlerinin giderek azaldığı görülmektedir. Ancak %10 GA içeriğine sahip kitosan hidrojenlerin %5 ve %7 GA’dan daha yüksek bir şişme değeri kaydettiği görülmüş, bu durumun DM_w hidrojenler içerisinde en yüksek sol içeriğinin %1 ve %10 GA’ya ait olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çapraz bağlanma reaksiyonuna katılmayan $-NH_2$ grupların protonasyonu şişme lehine etki göstererek şişme denge değerlerinin artmasına katkı sağlamıştır.

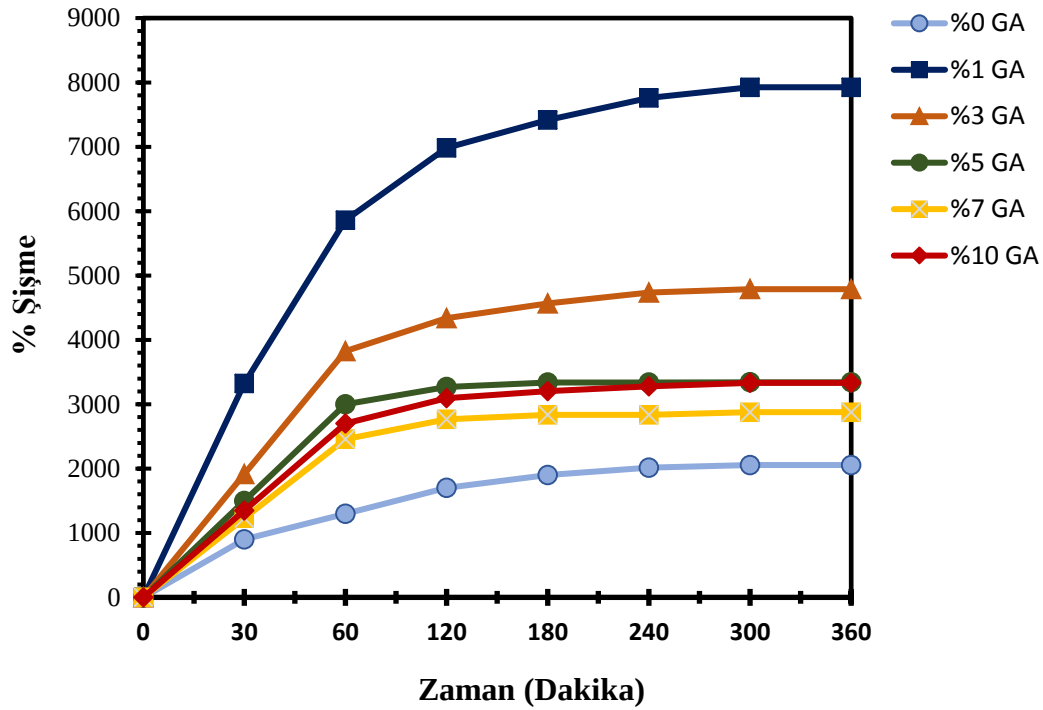
Şekil 6.11’de yer alan OM_w kitosan hidrojenlere ait zamana bağı % şişme değerleri incelendiğinde, GA konsantrasyonu arttıkça şişme değerlerinin giderek azaldığı görülmektedir. Ancak %7 GA içeriğine sahip kitosan hidrojenlerin %5 GA’dan daha yüksek bir şişme değeri kaydettiği görülmüş, bu durumun OM_w hidrojenler içerisinde en yüksek sol içeriğinin %1 ve %7 GA’ya ait olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Sol içeriğinin artması çapraz bağ verimini azalttığından bu durum daha yüksek şişme değerleri ile sonuçlanmıştır.

Supper vd. (2014), farklı pH ortamlarında şişme davranışlarını inceledikleri ısıya duyarlı kitosan/gliserofosfat hidrojenlerin, düşük pH değerlerinde daha fazla şişme kaydettiğini belirtmiştir. Bunun sebebinin; kitosanın $pK_a < 6$ da protonlanan amino

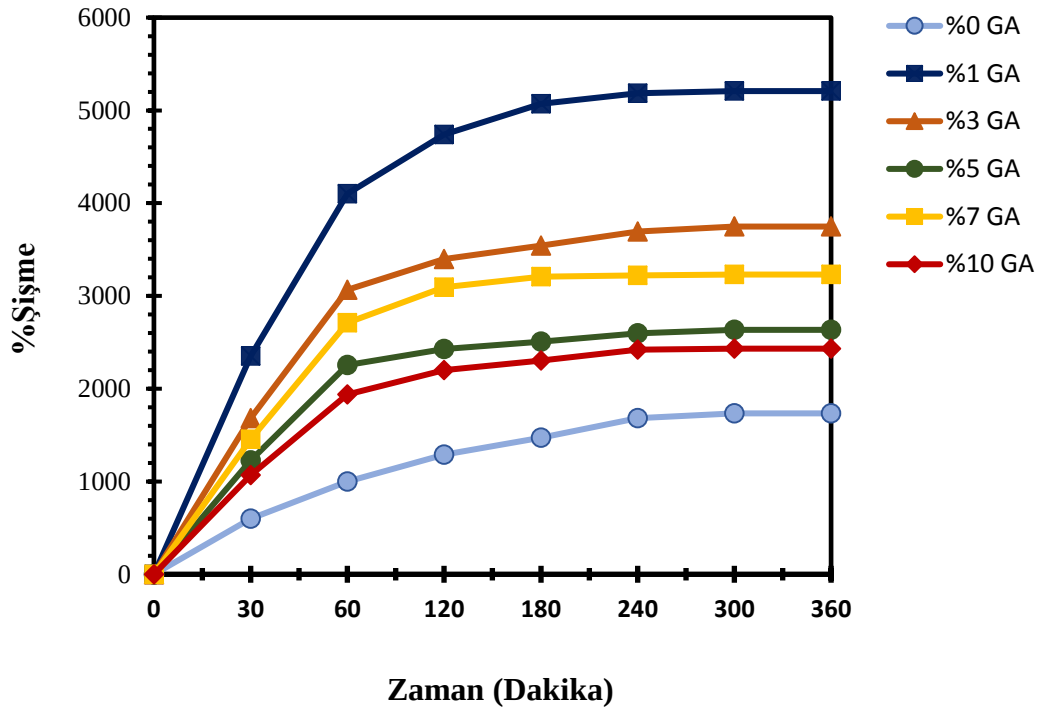
gruplarının, polimer zincirleri arasında yarattığı elektrostatik itmenin bir sonucu olarak ağ yapının daha fazla çözücüyü absorplayabilmesi olduğu açıklanmıştır [243].

Hamedi vd. (2018), asidik koşullarda protonlanmış amino grupları sayesinde yüksek şişme değerlerine ulaşan kitosan hidrojellerin, nötr ve bazik ortam koşullarında protonasyonun oluşmayacağından düşük şişme değerleri sergileyeceğini rapor etmiştir [148].

Benzer şekilde Nangia vd. (2021) [112] ve Rohindra vd. (2004)'nın [244] çalışmalarında, kitosan bazlı hidrojellerin en yüksek şişme değerleri asidik ortamda elde edilirken en düşük şişme değerleri nötr ve bazik ortamda elde edildiği raporlanmıştır.



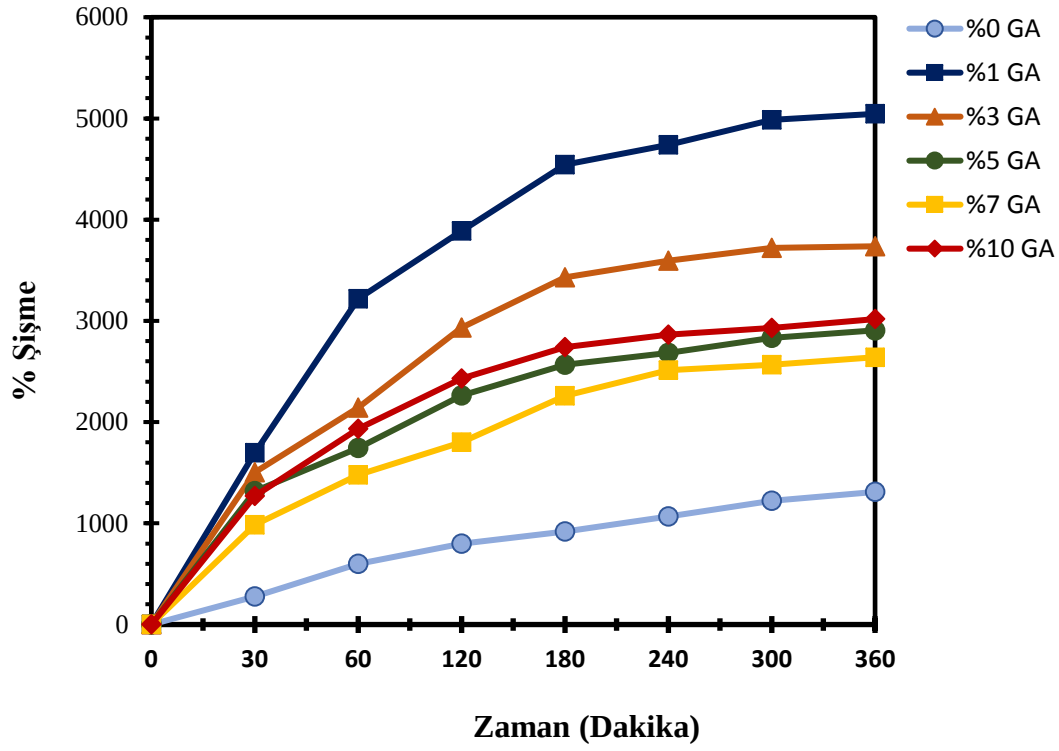
Şekil 6.12. DM_w kitosan jellerin (kuru) destile su içindeki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği



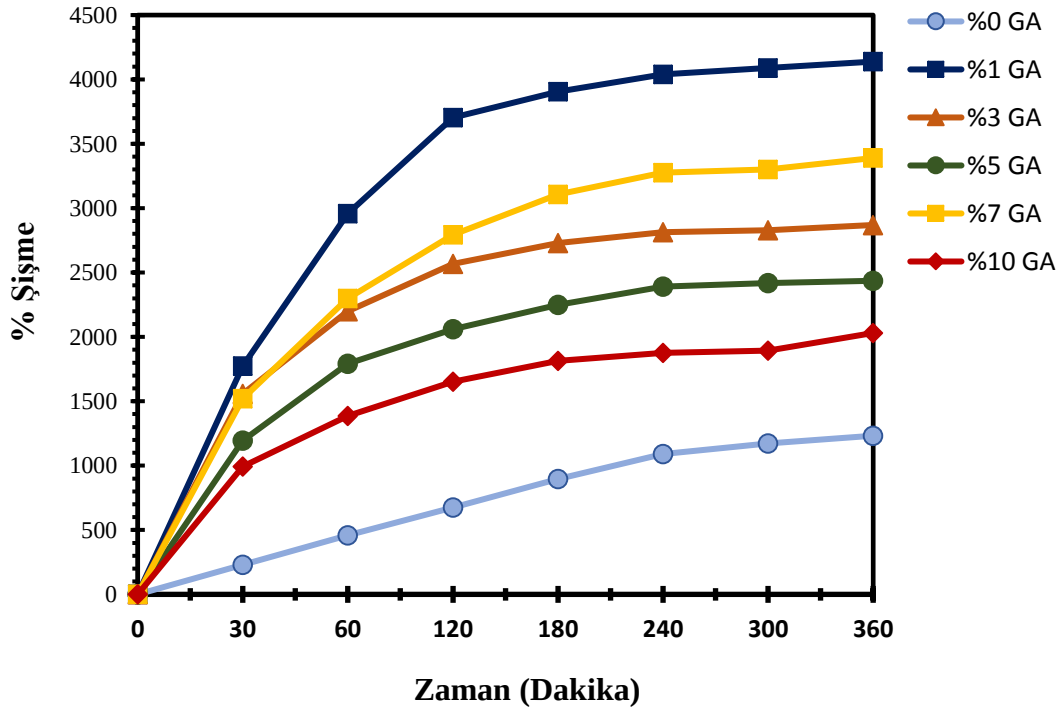
Şekil 6.13. OM_w kitosan jellerin (kuru) destile su içindeki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği

Başlangıçta yüksek artış seyreden destile su içerisindeki kitosan hidrojelatin şişme yüzdeleri, zamanla azalarak 6 saatin sonunda tamamen dengeye ulaşmıştır. Çapraz bağlayıcı konsantrasyonundaki artışın jellerin su absorplama yüzdelerini belirgin oranda düşürdüğü görülmüştür. Bu durum, hidrojel yapı içerisinde bulunan çapraz bağlayıcı ajana ait -CHO grupların, polimer ağındaki -NH₂ gruplarla etkileşimleri artırarak daha sıkı bir yapının oluşması sonucu polimer zincirlerinin esnekliğini azaltmasından kaynaklanmaktadır. Hidrojellerin hidrofilik özelliğini de azaltan bu durum aynı zamanda su absorplama kapasitelerini de beraberinde azaltmaktadır.

Genel olarak, destile su içerisindeki hidrojelatin şişmesi, asit çözeltisindeki şişme değerlerinden daha düşüktür. Nötral durumda ve bazik durumda protonasyona uğramayan kitosanın katyonik yapısından kaynaklanan bu durum, artan GA oranının etkisiyle de şişme değerlerini düşürmektedir [232]. Kitosandaki amino gruplarının, destile su ve bazik ortamda NH₂ formunda olmasına rağmen kitosan jellerin destile su ortamında pH 7,4 ortamına kıyasla daha fazla şişmesi suyun iyonik şiddetiyle (0-sıfır) ilişkilidir. Nitekim Peppas vd. (2000) [92] ve Hoffman vd. (2012)'a [54] göre hidrojelatin, ortam pH'ı ve sıcaklığının yanı sıra ortamın iyonik şiddetinden de etkilenerek hacimlerinin binlerce katına kadar şişme davranışı sergileyebilirler.



Şekil 6.14. DM_w kitosan jellerin (kuru) pH 7,4'deki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği

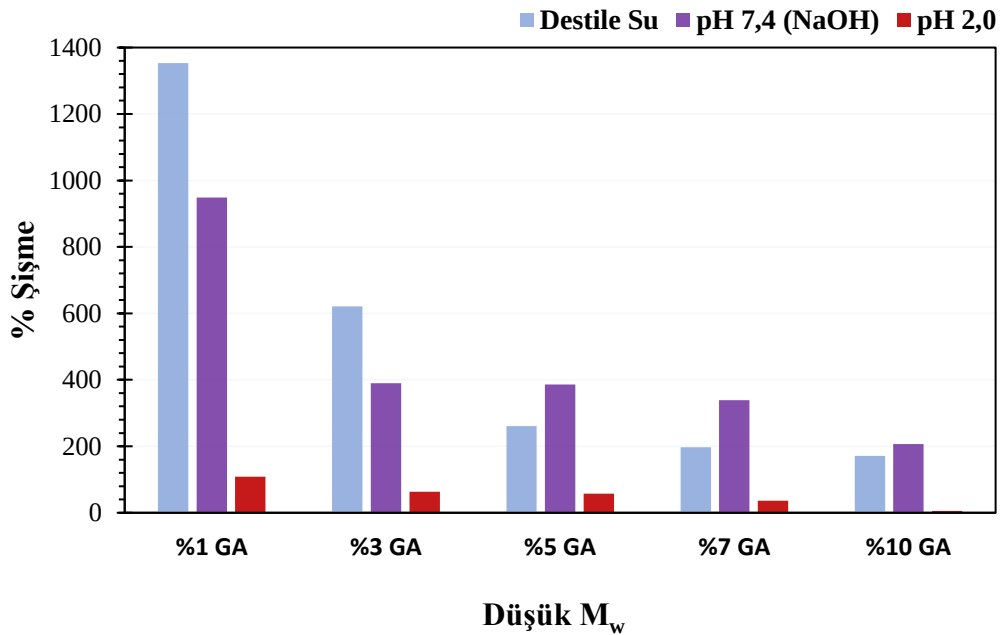


Şekil 6.15. OM_w kitosan jellerin (kuru) pH 7,4'deki şişme değerlerinin zamana bağlı grafiği

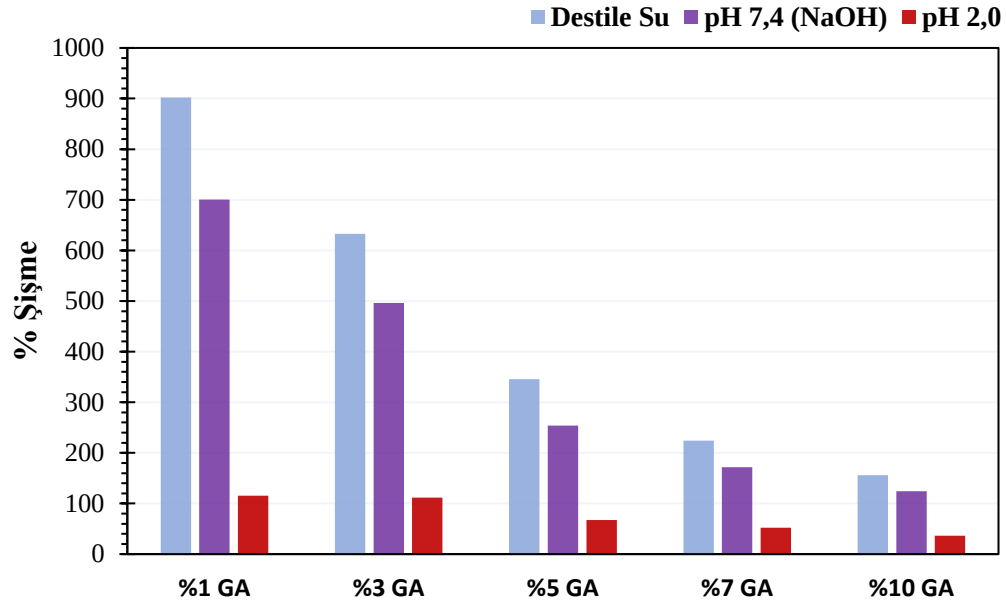
NaOH ile hazırlanan pH 7,4 tampon ortamında şişmeye bırakılan kitosan hidrojelilerin zamana bağlı sergiledikleri şişme davranışları Şekil 6.14 ve 6.15'te sunulmaktadır. Sunulan grafikler incelendiğinde, çapraz bağlayıcı konsantrasyonundaki artışın jellerin su absorplama yüzdelerini belirgin oranda düşürdüğü gözlemlenmiştir. Diğer yandan, destile su ve pH 2,0 ortamlarıyla karşılaştırıldığında en düşük şişme denge değerlerinin pH 7,4'te kaydedildiği görülmektedir. Bu durum kitosanın katyonik yapısıyla doğrudan alakalıdır.

Katyonik jellerde, yüksek pH değerlerinde ($\text{pH} > 6$) serbest amino gruplarının daha az protonlanması kitosan zinciri boyunca hidrofobikliği artırmaktadır. Bazik ortamda iyonlaşma ve elektrostatik itme etkisinin azalması, jelin su absorplayebileceği gözenek alanını küçülterek büzölmeye ve şişme denge değerlerinde düşmeye neden olmaktadır [215, 245].

Berger vd. (2004), kitosan bazlı hidrojellerin şişme kapasitelerinin çapraz bağlayıcı yoğunluğunun yanı sıra ortam pH'ına da bağlı olduğunu, çapraz bağ oranının artmasıyla şişme değerlerinde azalma meydana gelirken jel kararlılığında iyileşme meydana geldiğini bildirmişlerdir [99]. Hamed vd. (2018), kitosan hidrojellerin nötral ve bazik koşullarda protonasyon oluşturmadığından şişme değerlerinin düşük olduğunu bildirmiştir [148].



Şekil 6.16. DM_w kitosan hidrojellerin (ıslak) destile su ve farklı pH'lardaki şişme değerleri



Orta M_w

Şekil 6.17. OM_w kitosan hidrojenlerin (ıslak) destile su ve farklı pH'lardaki şişme değerleri



Şekil 6.18. Kitosan hidrojenlerin şişme öncesi ve sonrası görüntüleri

Tablo 6.3. GA ile çapraz bağlanan kitosan hidrojel­lerin (destile su, pH 2,0 ve pH 7,4) şişme değ­erlerinin karşılaştırılması

Kitosan Hidrojel	pH 7,4		Destile Su		pH 2,0	
	Kuru	Islak	Kuru	Islak	Kuru	Islak
Saf Kitosan DM _w	%1309,80	--	%2056,07	--	%3001,33	--
Saf Kitosan OM _w	%1232,45	--	%1734,29	--	%2895,97	--
% 1 DM _w	%5045,31	%948,34	%7925,58	%1353,11	%8866,67	%108,77
% 1 OM _w	%4138,55	%700,32	%5208,00	%902,42	%6724,49	%115,15
% 3 DM _w	%3737,10	%389,56	%4568,53	%621,03	%4785,29	%63,37
% 3 OM _w	%2869,40	%496,16	%3748,00	%632,51	%4159,72	%111,90
% 5 DM _w	%2906,52	%385,88	%3340,87	%260,26	%4133,33	%57,36
% 5 OM _w	%2435,96	%253,96	%2634,47	%345,33	%3043,41	%67,16
% 7 DM _w	%2640,86	%338,62	%2877,66	%196,78	%3419,85	%36,13
% 7 OM _w	%3389,80	%171,92	%3230,69	%223,97	%4201,67	%52,37
% 10 DM _w	%3017,56	%206,80	%3332,26	%170,76	%4246,46	%5,76
% 10 OM _w	%2030,56	%124,55	%2431,76	%156,17	%2611,11	%36,13

Kitosan hidrojellerin su absorplama kapasiteleri hem kuru hem de ıslak formda değ­erlendirilmiş olup, sonuçlar Tablo 6.3'te toplu olarak sunulmuştur. Hidrojellerin örne­klerin; molekül ağırlığının, çapraz bağlayıcı miktarının ve ortam pH'ının yanı sıra hazırlanma formundan da etkilendiği görülmüştür.

Şişme değ­erleri kuru jeller için destile su ortamında DM_w ve OM_w için sırayla %7926 ve %5208'lere çıkarken; pH 2,0 ortamında %8867 ve %6725'lere, pH 7,4 ortamında ise %5045 ve %4139'lara ulaşmıştır. Bu değ­erler kuru örne­kler ile karşılaştırıldığında, ıslak jellere ait % şişme oranlarının daha düşük seyrettiği görülmektedir. Bunun sebebi, ıslak jellere nazaran liyofilize edilen kitosan hidrojellerin süblimasyon esnasında jelin yapısında su absorplamaya imkân sağlayacak çok fazla gözenekliliğin oluşmasıdır [197, 232].

Diğ­er yandan, kuru jellerde en yüksek şişme değ­erlerine pH 2,0 ortamında ulaşılırken ıslak jellerde tersi bir etki görülmektedir. Bu durumun, jellerin dışındaki ve içindeki

ortam ile olan elektrostatik etkileşimlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim, jelin dışında bulunan ortam iyonik yük açısından daha nötr bir ortam ise jelin şişmesine yol açarken jelin dışındaki ortamın içindeki ortama göre daha iyonik olması jelin içindeki suyu dış ortam çekerek jelin büzülmesine sebep olacaktır.

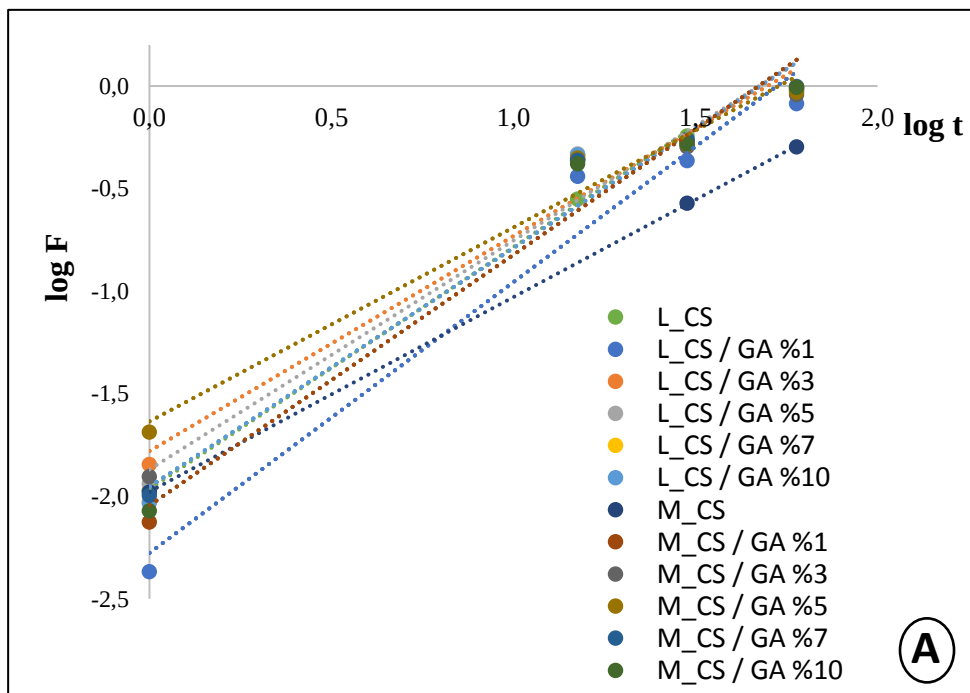
Martínez vd. (2019), analiz ettikleri SEM görüntüleri sonucunda, liyofilize edilmiş kitosan hidrojellerin ıslak jellere kıyasla çok fazla sayıda gözeneğe sahip olduğu ve bu gözenekliliğin kullanılan çapraz bağlayıcı miktarından etkilendiğini rapor etmiştir [197].

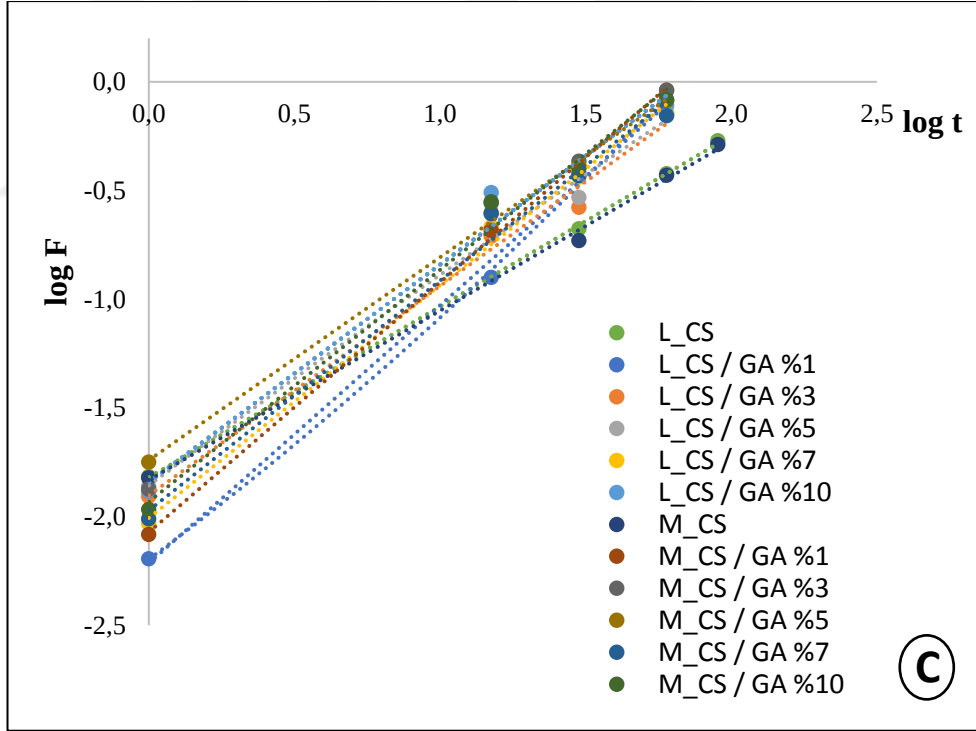
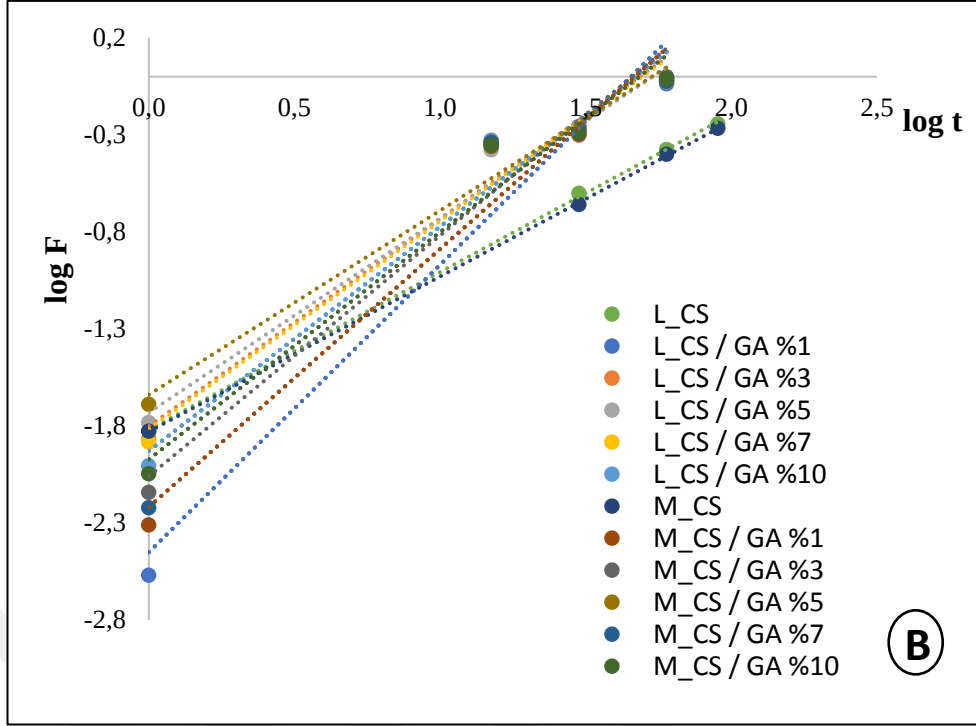
6.9. Hidrojellerin Şişme Kinetik Mekanizmalarının Belirlenmesi

Denge şişme noktasına ulaşan hidrojellerin şişme ve difüzyon mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi için şişme kinetikleri araştırılmıştır. Fick difüzyon kanunundan yararlanılarak oluşturulan Eşitlik 6.1'e göre log F değerlerine karşılık gelen log t grafiğinin eğimi difüzyon üsteli olan n değerini vermektedir. Bu değer çözücünün jele veya jelin çözücüyeye olan difüzyonu hakkında fikir verecektir [246].

$$\log F = \log k + n \cdot \log t \quad (6.1)$$

Farklı konsantrasyonlarda GA içeren DM_w ve OM_w kitosan hidrojellerin destile su, pH 2,0 ve pH 7,4 ortamındaki şişme davranışlarına ait grafikler Şekil 6.19'da sunulmaktadır.





Şekil 6.19. GA ile çapraz bağlanan kitosan hidrojenlerin Fick Yasasına göre (A) Destile su (B) pH 2,0 ve (C) pH 7,4 ortamındaki şişme davranışları

Tablo 6.4. GA ile çapraz bağlanan kitosan hidrojellerin (destile su, pH 2,0 ve pH 7,4) difüzyon parametreleri

JEL TİPİ	n			k			R ²		
	Destile Su	pH 2,0	pH 7,4	Destile Su	pH 2,0	pH 7,4	Destile Su	pH 2,0	pH 7,4
L_CS	0,968	0,813	0,786	1,972	1,820	1,819	0,9993	0,9997	0,9997
L_CS / GA %1	1,321	1,481	1,186	2,277	2,450	2,214	0,9652	0,9538	0,9965
L_CS / GA %3	1,049	1,068	0,962	1,780	1,801	1,902	0,9700	0,9705	0,9915
L_CS / GA %5	1,116	1,001	0,949	1,869	1,731	1,852	0,9694	0,9775	0,9930
L_CS / GA %7	1,164	1,072	1,071	1,955	1,816	2,006	0,9702	0,9697	0,9956
L_CS / GA %10	1,164	1,155	1,001	1,953	1,928	1,842	0,9657	0,9669	0,9825
M_CS	0,949	0,799	0,779	1,978	1,829	1,831	0,9999	0,9999	0,9978
M_CS / GA %1	1,222	1,329	1,150	2,045	2,217	2,071	0,9676	0,9631	0,9993
M_CS / GA %3	1,071	1,240	1,032	1,837	2,059	1,852	0,9698	0,9658	0,9954
M_CS / GA %5	0,946	0,949	0,933	1,636	1,639	1,740	0,9758	0,9773	0,9985
M_CS / GA %7	1,149	1,276	1,057	1,928	2,130	1,971	0,9734	0,9614	0,9899
M_CS / GA %10	1,189	1,171	1,067	2,001	1,972	1,931	0,9732	0,9687	0,9900

Bir polimer ağı, sulu bir çözelti ile temas ettiğinde, polimer zincirlerinin ve suyun termodinamik uyumluluğundan dolayı şişmeye başlar. Bu şişme kuvveti, çapraz bağlı ağların geri çekme kuvvetiyle dengelenir ve bu iki kuvvet eşit olduğunda şişme dengeye ulaşmış olur. Polimer ağların termodinamik davranışları kesin olarak bilinemediğinden hiçbir teori difüzyon mekanizmasını kesin olarak tahmin edemez. Ancak Fickian difüzyon analizi ile makul değerlendirmelerde bulunabilir [247].

Bir hidrojel matrisinde, çözücü moleküllerin difüzyon hızı ve mesafesi hem polimerin hem de çözücünün özelliklerine ve etkileşimlerine bağlıdır. Dolayısıyla difüzyon hızı; polimerin molekül ağırlığından, çapraz bağlayıcı konsantrasyonundan ve jelin gözenek büyüklüğünden etkilenecektir [247]. Difüzyon mekanizmalarının açıklanması, özellikle doku mühendisliği ve ilaç salım uygulamalarında hidrojellerin farklı ortam koşullarında sergileyeceği davranışların belirlenmesinde oldukça yararlı olacaktır [248].

Şişme eğrilerinden faydalanarak oluşturulan grafiklerde hem destile su hem de pH 2,0 ve pH 7,4 ortamındaki kitosan hidrojellerin difüzyon üsteli (n) belirlenerek difüzyon mekanizmaları incelenmiştir.

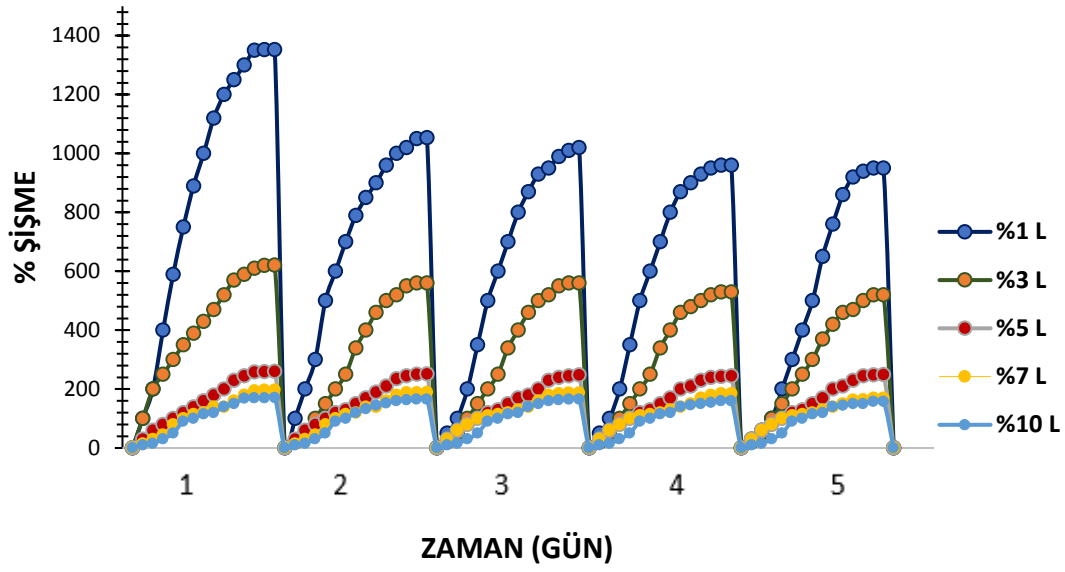
Tablo 6.4’te sunulan veriler incelendiğinde, GA içermeyen saf kitosan hidrojellerin n değerleri $0,5 < n < 1$ aralığındadır. Bu durum şişmenin Fick tipi olmayan yani çözücünün jel içine olan difüzyon hızının polimer zincirlerinin gevşeme hızından daha büyük ve hızlı olduğu anlamına gelmektedir. Bu tipteki jellerin şişme hızını polimer zincirlerin relaksasyon (gevşeme) hızı belirler.

GA ile çapraz bağlanan hidrojellerin ise her üç ortamda da n değerlerinin $n \geq 1$ olduğu görülmektedir. Süper durum difüzyonu olarak adlandırılan bu durum, şişme hızının üzerinde hem difüzyon hem de gevşeme hızının aynı etkiye sahip olduğu anlamına gelmektedir. pH 2,0 ortamında iyonik grupların sayısının fazla olması, difüzyon hızının diğer bazik ortamlardan daha yüksek çıkmasını sağlamıştır. Çapraz bağlı örnekler arasında M_{CS} / GA %5’in diğerlerinden farklı olarak Fick tipi olmayan davranış sergilediği görülmektedir. Bu durumun sol içeriğiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Çapraz bağlanma reaksiyonuna katılan $-NH_2$ grupların suya ilgisi reaksiyona katılmayan gruplardan daha az olduğundan şişmeyi azalan yönde etkilemektedir.

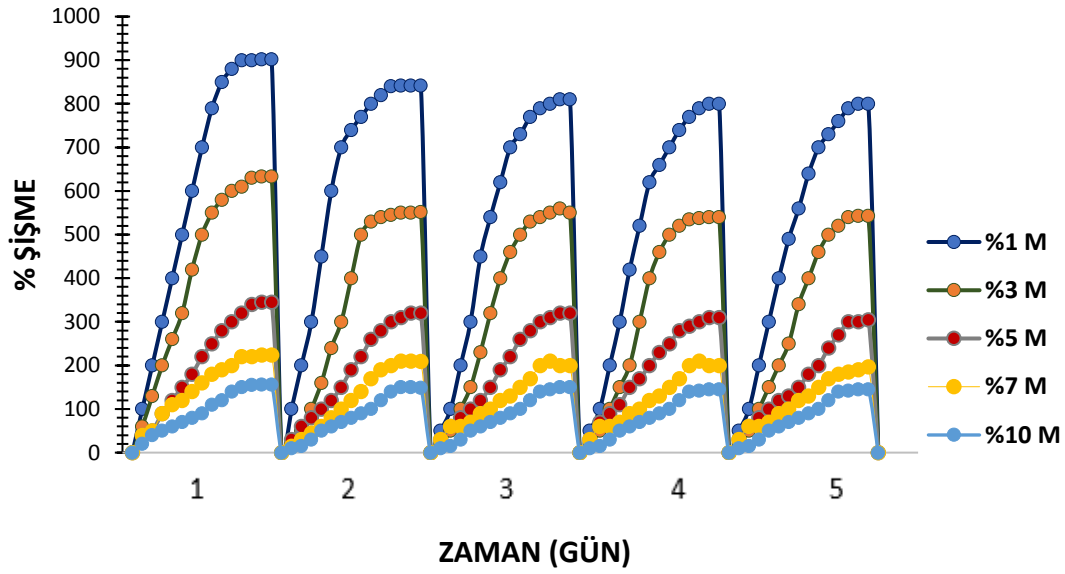
6.10. Hidrojellerin Tekrar Kullanım Sayısının Şişme Performansına Etkisi

5 farklı GA oranında hazırlanan ve kullanım sayısının % şişme performansı üzerindeki etkisi araştırılan kitosan hidrojellere ait % şişmenin zamana bağlı grafiği, DM_w için Şekil 6.20, OM_w için ise Şekil 6.21’de sunulmaktadır. Maksimum şişme dengesine ulaşan hidrojeller, vakum etüvünde kurutulmanın ardından tekrar şişme ortamına bırakılmış ve 5. kullanım sonunda alınan şişme değerleri diğer ölçümlerle karşılaştırılarak bir şişme-zaman grafiği oluşturulmuştur.

Her iki molekül ağırlığı için de ayrı ayrı yürütülen deneysel çalışma sonucunda; GA ile çapraz bağlanan kitosan jellerin saf su içerisinde yaklaşık %160 - 1350 arasında bir şişme performansı gösterdiği ve bu durumun ilk kullanım sonrası bir miktar azalsa da 2. ve sonraki kullanımlarda belirgin bir fark göstermediği görülmüştür.



Şekil 6.20. Farklı GA oranında hazırlanan DM_w kitosan hidrojellerinin şişme performanslarının 5 kullanım sonucundaki zamanla değişimi



Şekil 6.21. Farklı GA oranında hazırlanan OM_w kitosan hidrojellerinin şişme performanslarının 5 kullanım sonucundaki zamanla değişimi

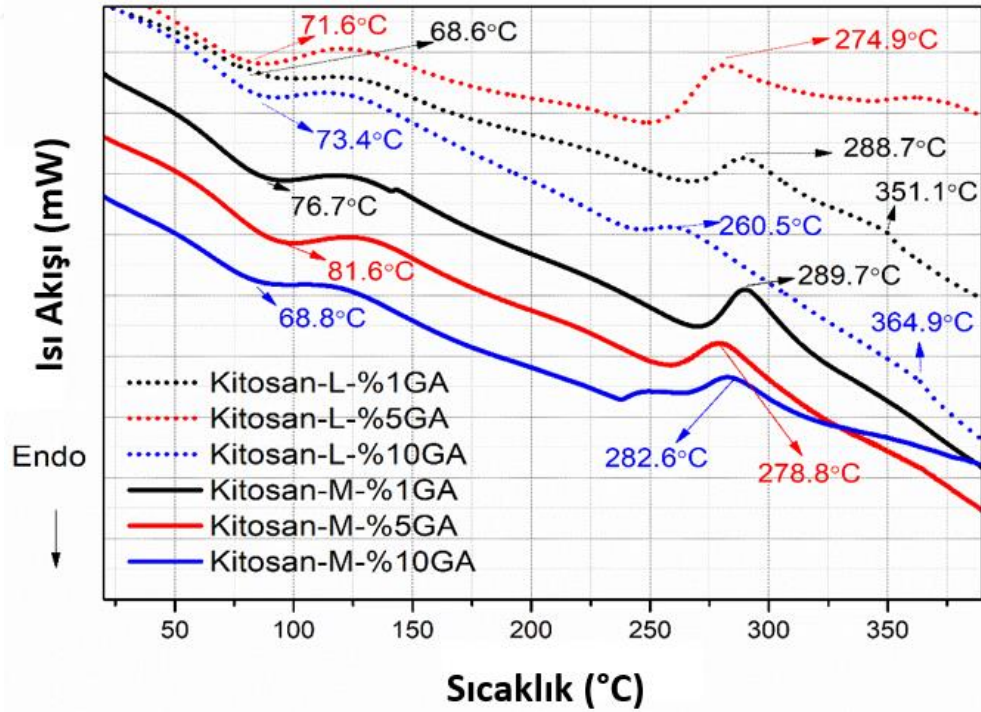
Sunulan grafik verileri incelendiğinde, her döngü için artan GA oranıyla şişme değerlerinde azalma meydana geldiği görülmüştür. Bu durum, artan çapraz bağ yoğunluğunun jelin ağ yapısındaki gözenek boyutunu küçülttüğünü ve beraberinde şişme kapasitesini düşürdüğünü göstermektedir.

Birinci ve ikinci kullanım arasındaki şişme yüzdelерinde görünür bir fark olurken diğer kullanım sonuçlarında belirgin bir farkın görülmediği ve değerlerin neredeyse birbirleriyle sabitlendiği görülmüştür. Bu durum; ilk kullanımdan sonra kurutulmak üzere vakum etüvünde bekleyen jellerin yapılarındaki hidrofilik grupların, sıcaklığın etkisiyle bünyesinde hapsettiği suyu salarak şişme oranını bir miktar düşürdüğü, ancak bunun sonucunda jelin daha kararlı ve sıkı bir hale gelerek sonraki kullanımlardaki şişme oranlarında belirgin fark göstermediği yönünde açıklanmıştır.

Shu vd. (2001), kitosan hidrojellerin su absorplama ve salım davranışlarının üzerinde bazı iyonların ve ikincil parametrelerin etki ettiğini, bu etkenlerin perdeleme etkisi göstererek ağ yapılı matris içerisindeki etkileşimleri önlediğini ve şişme miktarlarını azalttığını belirtmiştir [249].

6.11. Kitosan Hidrojellerin DSC Analizi

%1, %5 ve %10 oranında GA ile çapraz bağlanan kitosan hidrojellerin T_g-camsı geçiş ve bozunma sıcaklıkları DSC analiziyle belirlenmiş olup, analiz sonuçları Şekil 6.22’de sunulmaktadır.



Şekil 6.22. Farklı oranlarda GA içeren DM_w ve OM_w kitosan hidrojellere ait DSC eğrileri

Kristalin yapısı ve içerdği kuvvetli molekül içi - moleküller arası hidrojen bağları sebebiyle kitosanın Tg değerini saptamak oldukça zordur. Diğer yandan hidroskopik yapısı, özellikle DSC analizlerini doğrudan etkilemektedir [250, 251]. Bu nedenle, Tg'nin belirlenebilmesi için literatürde birçok farklı yöntem denenmiştir. Dong vd. (2004) [250], kitosanın Tg değerini DSC'nin yanı sıra dinamik mekanik termal analiz (DMTA), termal simüle edilmiş akım spektroskopisi (TSC) ve dilatometri (DIL) olmak üzere dört farklı teknik kullanarak 140-150 °C olarak belirlerken; Dragan vd. (2012) [252], DSC yöntemini kullanarak bu değeri 207 °C olarak tespit etmiştir.

Şekil 6.22'de sunulan DSC termogramları değerlendirildiğinde; ilk görülen endotermik piklerin Tg değerlerine, diğer piklerin ise bozunma sıcaklıklarına ait olduğu tespit edilmiştir. Görülen ilk pikler kitosana bağlı suyun ve GA'a ait fonksiyonel grupların yapıdan uzaklaştığını gösterirken, 260-350 °C aralığında görülen pikler ise kitosan ana zincirinin bozunduğunu gösterir. Hidrojel matrisinde bulunan çapraz bağlayıcı oranının artmasıyla Tg değerlerinde bir artış olduğu görülmektedir. Grafik verileri incelendiğinde %1, %5 ve %10 GA içeren DM_w hidrojellere ait Tg değerleri sırasıyla 68,6 °C, 71,6 °C ve 73,4 °C iken OM_w hidrojellerde sırasıyla 76,7 °C, 81,6 °C ve 68,8 °C olarak bulunmuştur. Buna göre OM_w'a sahip hidrojellerin DM_w'a kıyasla Tg değerlerinin bir miktar daha yüksek olduğu görülmektedir.

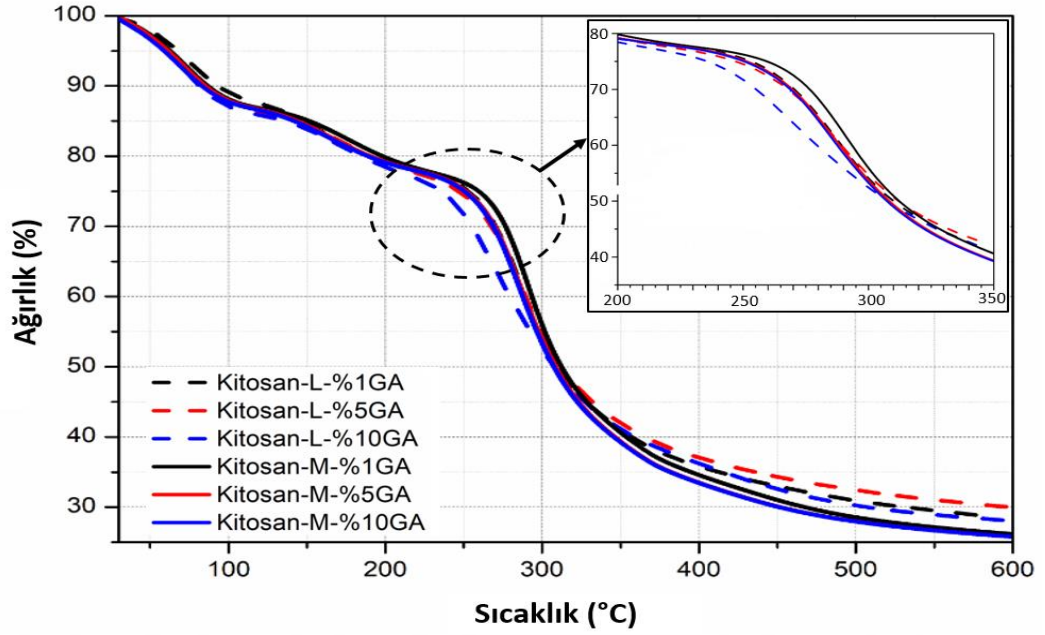
Çapraz bağlayıcı oranının artmasıyla Tg değerlerinde artışın meydana gelmesi, kitosan ve gluteraldehit molekülleri arasındaki güçlü etkileşimin bir sonucu olarak serbest hacmin azalması ve yapının daha sıkı bir hale gelmesinden kaynaklanmaktadır [253]. Zhou vd. (2011), Tg değerlerinin, çapraz bağlayıcı miktarının yanı sıra kitosanın molekül ağırlığı, deasetilasyon derecesi ve kristalinite derecesi gibi karakteristiklere bağlı olduğunu, ayrıca DD artıkça Tg değerlerinde de artış meydana geldiğini tespit etmişlerdir [254].

Ostrowska vd. (2015), çapraz bağlı kitosan jellerin termal kararlılığının çapraz bağlı olmayanlara kıyasla daha düşük olduğunu ve bu değerlerin sırasıyla 218 °C ve 301°C olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir [251].

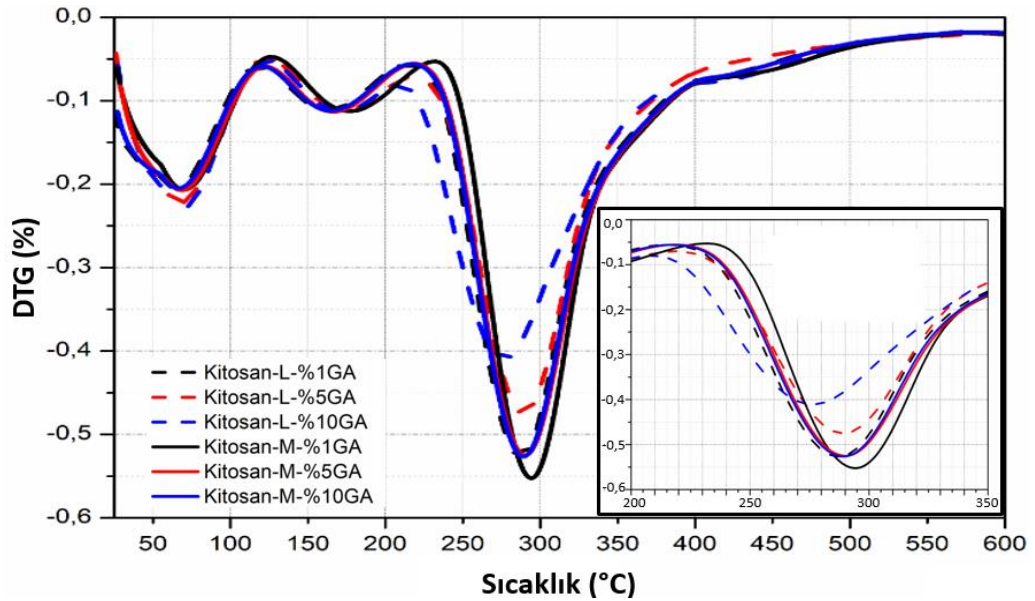
DSC termogramları, GA oranının artması ile jellerin bozunma sıcaklıklarının bir miktar düştüğünü gösterir. Bu sonuçlar TGA sonuçlarını doğrulamaktadır.

6.12. Kitosan Hidrojellerin TGA Analizi

Gluteraldehit ile çapraz bağlanan kitosan hidrojenlerin yapısında bulunan çapraz bağlayıcı oranının, hidrojenlerin termal kararlılığına etkisi termogravimetrik analiz (TGA/DTG) yöntemleriyle incelenmiştir. %1, %5 ve %10 GA oranına sahip hidrojenlere ait analiz sonuçları Şekil 6.23 ve Şekil 6.24'te yer almaktadır.



Şekil 6.23. Farklı oranlarda GA içeren DM_w ve OM_w kitosan hidrojenlere ait TGA eğrileri



Şekil 6.24. Farklı oranlarda GA içeren DM_w ve OM_w kitosan hidrojenlere ait DTG eğrileri

Kitosanın termal bozunmasının iki aşamada gerçekleştiği bilinmektedir [112, 255]. Birinci aşama, ~ 100-120 °C'den önce meydana gelir ve çözücünün veya absorplanan suyun uzaklaşmasına atfedilirken; ikinci aşama 220-500 °C aralığında meydana gelir ve ana zincirin bozunmasına atfedilir. Ağırlık kayıpları polimerin yapısı, kristallliği ve hidrofilikliğine bağlı olarak değişim gösterir [251].

Şekil 6.23 ve Şekil 6.24'te sunulan TGA / DTG termogramlarına göre, 600 °C'ye kadar ısıtılan GA içerikli kitosan hidrojellerin 3 aşamada bozunduğu görülmektedir. Birinci aşama, 50-85 °C'de hidrojel örneklerde bulunan ve kurutularak tamamen uzaklaştırılamayan su ve çözücünün uzaklaştığı ; ikinci aşama 140-180 °C'de ana zincirin bozunmasının gerçekleştiği; üçüncü aşama ise 260-300 °C'de son bozunmaya atfedilen aşamadır. DM_w hidrojellerin bozunma sıcaklıklarının sırasıyla 287,3 °C, 286,5 °C ve 268,7 °C olduğu, OM_w hidrojeller için ise 289,9 °C, 285,3 °C ve 281,1 °C olduğu bulunmuştur. Buna göre kütle kayıpları DM_w için sırasıyla %71,7, %70,2, %72,0 iken OM_w için sırasıyla %73,9, %74,3 ve %72,4 olduğu hesaplanmış olup 500 °C'den sonra kütle kaybı gözlenmemiştir.

Ramachandran vd. (2011); gluteralehit ile çapraz bağlanan kitosan mikrokürelere ait termogramları incelediklerinde, yapıdaki suyun uzaklaşmasına atfedilen kaybın 58 °C'de gözlendiğini ancak ~280 °C'de meydana gelebilecek olan bozunma pikinin DSC de gözlemlenemediğini bildirmiştir [256].

Ostrowska vd. (2015)'e göre saf kitosan için 240 °C'de başlayan termal bozunma 301 °C'de maksimuma ulaşır ve 400 °C'de % 49 ağırlık kaybı ile sonlanırken, GA ile çapraz bağlanan kitosan hidrojellerin termal bozunması 197 - 279 °C aralığında gerçekleşerek % 43 ağırlık kaybı ile sonlanır [251].

DTG sonuçları, hidrojel matrisi içerisindeki çapraz bağlayıcı oranının artmasıyla bozunma sıcaklıklarının bir miktar düştüğünü göstermektedir. Nitekim, GA oranının %1 den %10'a çıkarılmasıyla bozunma sıcaklığının 287,3 °C'den 268,5 °C'ye düştüğü görülmektedir. Bu sonuçlar, CS-GA jellerin termal davranışlarını inceleyen Ostrowska vd. (2015) ve Beppu vd. (2007)'nin bulgularıyla uyumludur. Yanı sıra OM_w'a sahip hidrojellerin DM_w'a kıyasla termal dayanımlarının bir miktar daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla artan molekül ağırlığının kitosan hidrojellerin termal dayanımlarını üzerinde etkisinin olduğu görülmektedir.

Nangia vd. (2021) [112] ve Ostrowska vd. (2015)'e [251] göre kimyasal modifikasyonlar kitosanın termal kararlılığını düşürerek daha düşük sıcaklıklarda bozunmasına neden olmaktadır.

Beppu vd. (2007), gluteraldehit ile reaksiyona giren kitosanın daha yüksek hidrofobik özellik kazanarak daha az su tutma eğiliminde olduğu ve artan çapraz bağ konsantrasyonu ile daha düşük sıcaklıklarda uçucu hale geldiğini tespit etmiştir [257].

Benzer bir çalışmada Monteiro ve Airol di (1999), kitosanın gluteraldehit ile reaksiyonu sonucunda daha düzensiz bir yapının oluştuğunu ve artan gluteraldehit konsantrasyonu ile oluşan bu düzensiz yapının kristaliniteyi azaltarak termal bozunma sıcaklığını düşürdüğünü belirtmiştir [75]. Literatürde yer alan bu bulguların sonuçlarımızla uyumlu olduğu görülmüştür.

Tablo 6.5. GA ile çapraz bağlanan kitosan hidrojelere ait TGA analiz sonuçları

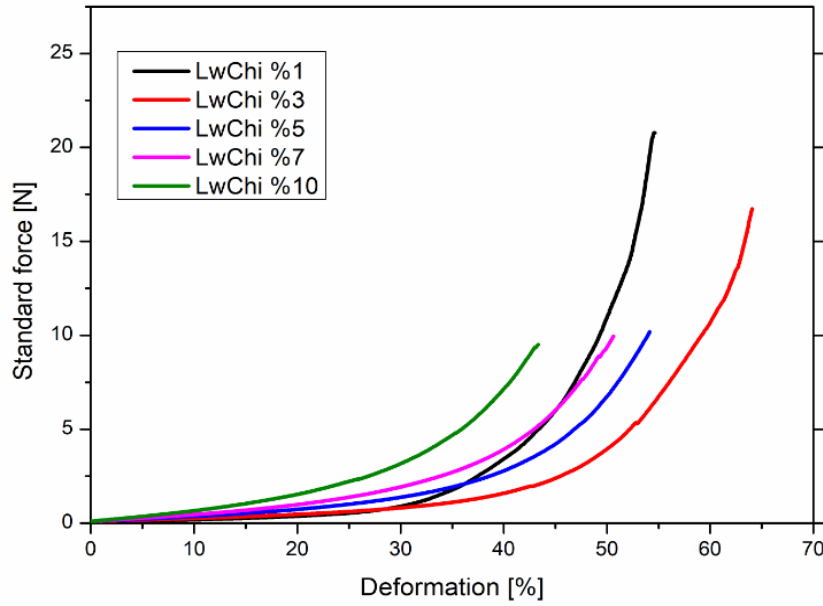
Kitosan Hidrojel	T₅ (°C)	T_{max} (°C) 1. bozunma sıcaklığı ve bozunma oranı (%/dk)	2. bozunma sıcaklığı (°C) ve bozunma oranı (%/dk)	Kalıntı (%)
CS:GA %1 L	62,31	159,8 / 9,8	287,3 / 49,3	28,3
CS:GA %5 L	56,22	171,5 / 9,0	286,5 / 47,6	29,8
CS:GA %10 L	55,78	172,6 / 8,9	268,7 / 49,1	28,0
CS:GA %1 M	57,77	179,1 / 9,2	289,9 / 51,4	26,1
CS:GA %5 M	56,40	168,6 / 8,7	285,3 / 52,3	25,7
CS:GA %10 M	58,57	143,1 / 6,8	281,1 / 54,6	27,6

6.13. Mekanik Dayanım Testleri

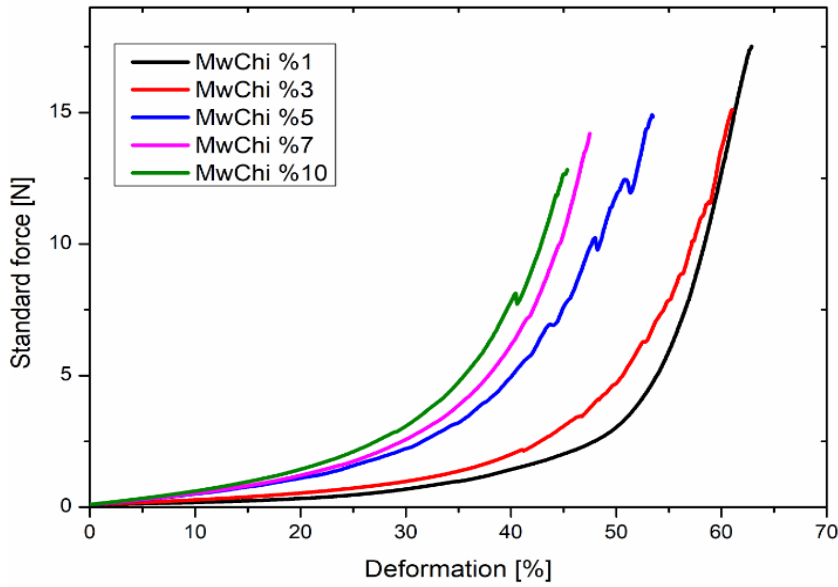
5 farklı konsantrasyonda gluteraldehit ile çapraz bağlanan kitosan hidrojellerin mekanik dayanımları üzerinde çapraz bağlayıcı oranının etkisini incelemek amacıyla basma testleri gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen basma gerilimi ve gerinim değerleri Şekil 6.25 ve Şekil 6.26'da sunulmaktadır.

Hidrojeller genellikle polimer zincirlerinin çözücü içerisindeki hareketliliği ile ilişkilendirilen viskoelastik bir davranış sergilerler [258]. Sahip oldukları bu

karakteristik davranış, kullanım alanlarını da doğrudan etkilemektedir. Hidrojel uygulamalarında, çapraz bağlanma oranı veya komonomer miktarı uygun oranlarda ayarlanarak arzu edilen mekanik dayanım veya esneklik sağlanabilir. Ancak çapraz bağlanma oranının belirli bir değerin üzerine çıkması hidrojin esnekliğini yitirerek kırılma noktasına neden olabileceğinden optimum dengeyi sağlamak önemlidir [259-261].



Şekil 6.25. DM_w kitosan hidrojellere ait gerilim-gerinim eğrileri



Şekil 6.26. OM_w kitosan hidrojellere ait gerilim-gerinim eğrileri

Sunulan veriler, kitosan molekül ağırlığının ve çapraz bağlanma derecesinin hidrojelilerin mekanik özellikleri üzerinde güçlü bir etkisinin olduğunu göstermiştir.

Çapraz bağlayıcı oranı arttıkça DM_w kitosan jellerin basma mukavemetlerinde belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Özellikle %1 GA içeriğine sahip jellerde sonra bu düşüş daha belirgindir. Bu sonuçlar, Arianita vd. (2019)'nin sonuçlarıyla uygunluk göstermektedir [204]. Artan çapraz bağ oranı ile jellerin elastikliğinin azaldığı ve basma modülü değerlerinin arttığı görülmüştür.

Tablo 6.6. DM_w ve OM_w hidrojelilerin basma modülü değerleri

%	Basma Modülü (kPa)	
	DM_w	OM_w
CS:GA %1	2,2	2,1
CS:GA %3	4,2	4,8
CS:GA %5	7,1	11,0
CS:GA %7	10,1	12,8
CS:GA %10	15,1	15,6

Aynı davranış OM_w kitosan jellerinde de görülmektedir. Ancak, DM_w jellere kıyasla OM_w jellerin basma mukavemetlerinin daha düşük, basma modülünün ise daha yüksek çıktığı gözlenmiştir. Bu durum, OM_w kitosan jellerin DM_w 'lara kıyasla daha sert bir yapıya sahip olmasıyla açıklanabilmektedir. Yanı sıra GA oranındaki artış; çapraz bağlanma reaksiyonunun daha yoğun ve daha hızlı olarak gerçekleşmesine, viskozitenin hızlı artışına sebep olarak homojen bir karışımın sağlanmasını güçleştirmiştir. Bu durumun, jellerde gözle görülemeyen homojenlik problemi oluşturabileceği de varsayılmaktadır.

6.14. *In Vitro* Bozunma

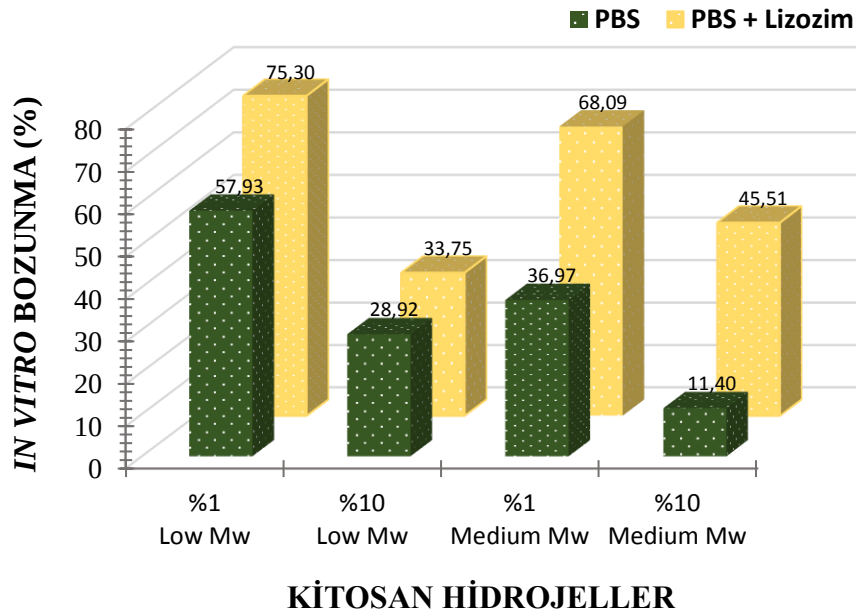
Bir biyomalzemenin bozunma hızı, özellikle medikal uygulamalarda ve doku mühendisliği uygulamalarında çok önemli bir veridir. İdeal bir biyomalzemenin aktivasyonunu tamamladıktan sonra hızla bozularak vücuttan atılması istenirken, ilaç salımı ve doku mühendisliği gibi uygulamalarda kullanılacak biyomalzemenin ilgili

bölgede istenilen etkiyi gösterebilmesi, hücre proliferasyonunun (üremesi) indüklenmesini sağlayabilmesi için yeterince uzun bir bozunma süresi istenir.

Lizozim enzimi, insan vücudunda kitosanı parçalayabildiği bilinen ve canlı vücudunun biyolojik ortamını (*in vivo*) simüle etmesi için kitosanın *in vitro* bozunmasında en yaygın kullanılan enzimdir [207, 262]. Kitosanın yapısında bulunan D-glukozamin ve N-asetil glukozamin grupları arasındaki β -(1,4) glikozit bağlarını hidrolize ederek bozunmayı sağlar [194]. Ancak deasetilasyon derecesi %95'in üzerinde olan kitosanı etkileyemez [263].

Doğal ve biyobozunur bir polimer olan kitosanın, GA ile çapraz bağlanması sonucunda elde edilen hidrojellerin *in vitro* bozunma etkinliğini deneylemek için lizozim ortamında (0,5 mg/mL) ve enzimatik bozunma üzerinde çözünme ve dehidrasyonun herhangi bir etkisinin olup olmadığını belirleyebilmek için de lizozimsiz ortamda inkübasyona bırakılarak ağırlık kayıpları izlenmiştir.

In vitro bozunma profillerinin oluşturulabilmesi için belirlenen periyotlarda ağırlık kayıpları izlenen %1 ve %10 GA konsantrasyonuna sahip kitosan hidrojellere ait % bozunma grafiği Şekil 6.27'de sunulmaktadır. Çapraz bağlayıcı oranındaki artışın bozunma üzerindeki etkinliğini tayin edebilmek için en düşük ve en yüksek GA konsantrasyonuna sahip jeller kullanılmıştır.



Şekil 6.27. Kitosan hidrojellerin enzimatik / enzimatik olmayan bozunması

Şekil 6.27’de görüldüğü gibi lizozim içeren ve içermeyen her iki PBS ortamındaki tüm jel örneklerin bozunmaya uğradığı, lizozim içermeyen PBS ortamındaki jel örneklerin diğerlerine kıyasla yapısal bütünlüğünü koruyarak bozunmaya karşı kararlılık gösterdiği gözlenmiştir.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde; GA konsantrasyonundaki artışın, kitosan hidrojellerin ağırlık kaybı üzerinde doğrudan etkili olduğu görülmektedir. Yavaş ve düşük bir bozunma hızı sergileyen jellerin 90 günlük inkübasyon süresinin sonunda yaklaşık %75 bozunma değerlerine ulaşan ağırlık kayıpları gözlenmiştir.

Kitosan hidrojellerin bozunma oranı, GA oranına bağlı olarak %1’lik olanlarda bir miktar daha fazladır. İçeriğindeki çapraz bağ oranının en yüksek olduğu %10’luk örneklerin ise bozunmaya karşı en dayanıklı grup olduğu görülmüştür. Bu durum, hidrojel bünyesindeki çapraz bağlayıcı oranının enzimatik ve enzimatik olmayan bozunma üzerinde kayda değer bir etkisinin olduğunu göstermekte olup, lizozim enzimi ile polimer zincirleri arasındaki etkileşimin yüksek çapraz bağ yoğunluğu ile önlenileceği anlaşılmaktadır. Yanı sıra kitosan biyopolimerinin kuvvetli molekül içi etkileşimlerinin bozunma sürecini yavaşlattığı yönünde de açıklanabilmektedir.

DM_w ve OM_w hidrojeller karşılaştırıldığında ise artan molekül ağırlığının biyobozunurluğu azalttığı, bu durumun artan molekül ağırlığıyla daha kararlı hale gelen kitosan yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Lončarević vd. (2017), yüksek kristallik ve yüksek molekül ağırlığının bozunma hızını düşürdüğü, bunların yanı sıra kitosan bozunmasının ortam pH’ı, çapraz bağlayıcı ajan ve enzim konsantrasyonu gibi diğer parametrelerden de etkilendiğini açıklamıştır [207].

Kofuji vd. (2005), *in vitro* bozunmanın kitosan viskozitesiyle ilişkisini araştırmak amacıyla lizozim varlığında hazırladığı kitosan çözeltilerinin enzimatik davranışlarını incelemiştir. Araştırma sonucunda; farklı deasetilasyon koşullarının, moleküller arası kuvvetlerinin, kitosan konsantrasyonunun çözelti viskozitesini değiştirdiği, bu durumun düşük DD’li kitosanolarda daha hızlı bozunma eğilimine sebep olduğu bulunmuştur [23]. Benzer diğer çalışmalarda, kitosan biyobozunurluğunun hem DD’ye hem de molekül ağırlığına doğrudan bağlı olduğu; artan DD, M_w ve kristallik derecesi ile bozunma hızında bir azalma meydana gelirken lizozim miktarındaki artışın bozunmayı hızlandırdığı rapor edilmiştir [194, 264].

Bununla birlikte, benzer DD ve M_w 'a sahip kitosan türlerinin bile enzimatik bozunmasında farklılıklar gösteren çalışmalar mevcuttur. Shigemasa ve ark. (1994), bozunmadaki farklılıkların, kitosan molekülündeki (CH_3CONH_2) asetamit gruplarının farklı dağılımından kaynaklandığını dolayısıyla DD'nin, biyolojik bozunma yüzdesinin belirlenmesinde tek başına yeterli olamayacağını öne sürmüşlerdir [265].

Sonuç olarak; GA ile çapraz bağlı DM_w ve OM_w kitosan hidrojellerin yavaş ve kontrollü bozunması, bu malzemelerin kontrollü ilaç salımı ve doku mühendisliği uygulamalarında önemli avantaj sağlayacağı aşikârdır.



7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yüksek lisans tezi olarak sunulan bu çalışmada, kimyasal yöntemle çapraz bağlanan farklı molekül ağırlığı ve gluteraldehit konsantrasyonuna sahip kitosan hidrojeller sentezlenerek karakterize edilmiştir. Elde edilen hidrojel ürünlerin yapısal özellikleri FTIR, morfolojik özellikleri SEM, termal özellikleri DSC ve TGA analizleri ile izlenmiştir. Yanı sıra difüzyon kinetiğinin belirlenebilmesi için destile su ve farklı pH'larda (pH 2,0 ve 7,4) şişme ölçümleri, bozunma profillerinin oluşturulabilmesi için *in vitro* bozunma analizleri ve mekanik dayanım özelliklerinin belirlenebilmesi için basma testleri gerçekleştirilmiştir.

Kitosanı karakterize eden en temel parametrelerden biri olan molekül ağırlığının, başta çözünürlük, viskozite, hidrofiliklik, çapraz bağlanma yoğunluğu, su absorplama kapasitesi, mekanik dayanım, biyobozunurluk gibi bir dizi kimyasal ve biyolojik özelliğın belirlenmesinde önemli bir etkindir. Hidrojel hazırlamada en yaygın çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan gluteraldehitin; hızla reaksiyona girmesi, yüksek çapraz bağlama gücüyle sisteme mekanik dayanım sağlaması, %1 ve daha düşük konsantrasyonlarda toksik etkisinin yok denecek kadar az olması vb. avantajları hidrojel uygulamalarında güvenle tercih edilmesine olanak sağlamaktadır.

Kitosan hidrojellerin şişme kinetiğı ve difüzyon mekanizmasının açıklanması, jellerin farklı ortam koşullarında sergileyeceğı şişme davranışlarının ve uygulama alanlarının belirlenmesinde büyük önem arz etmektedir. Kullanım sayısının şişme performansı üzerindeki etkisinin değeriendirildiğı analiz sonucunda jellerin sergilediğı kararlı durum, özellikle salım çalışmalarıında kullanım avantajı sunacağı düşünölmektedir.

Molekül ağırlığı ve çapraz bağlayıcı oranının jellerin mekanik dayanımları üzerine etkisinin incelendiğı analizde, özellikle çapraz bağlayıcı oranının %1'in üzerine çıkması, hidrojellerin esnekliğini yitirerek kırılğanlaşmasına ve mekanik dayanımın azalmasına yol açmıştır. Dolayısıyla hidrojellerde arzu edilen mekanik dayanımın elde edilebilmesi için çapraz bağ oranında optimum dengeyi sağlamak oldukça önemlidir.

Hidrojellerin *in vitro* bozunma etkinliğı değeriendirildiğinde; artan molekül ağırlığı ve GA konsantrasyonunun, kitosan hidrojellerin ağırlık kaybı üzerinde doğrudan etkili olduğı ve de daha kararlı hale gelerek yapısal bütönlüğünö koruyan kitosan hidrojellerin bozunma hızını azalttığı görölmüştür. Bu durum; ilgili bölgede uzun

sürekli doku rejenerasyonu için yavaş ve kontrollü bozunmanın arzu edildiği salım çalışmalarında hem avantaj sağlayacağını hem de kitosan biyopolimerinin bozunma sürecinin yüksek çapraz bağ yoğunluğu ile önlenebileceğini göstermiştir.

Tüm bu analizlerin ışığında görülmüştür ki; bir hidrojinin kullanım alanının, işlevinin ve özelliklerinin belirlenmesi tek bir değişkene bağlı olmayıp molekül ağırlığı ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonu yanı sıra ortam pH'ı, sol içeriği, kitosan molekülündeki asetamit gruplarının dağılımı, hazırlanma formu vb. parametrelerden doğrudan etkilenebilmektedir. Dolayısıyla, arzu edilen özelliklere uygun kitosan hidrojinin geliştirilmesinde optimum değerlerin sağlanması oldukça önemlidir.

Geliştirilen bu kitosan hidrojinlerin yüksek oranda çözücüyü bünyesine alabilme, tekrarlı kullanımda kararlılık gösterme, yüksek basma modülü sergileme ve ilgili bölgede doku rejenerasyonu için yeterli olabilecek yavaş ve kontrollü bozunma özellikleri sayesinde doku mühendisliği ve yara örtüsü uygulamalarında, antitümör ve antibiyotik türü ilaçların kontrollü salımında, tarımsal verimliliğin artırılması amacıyla su, gübre ve tarım ilaçlarının kontrollü salımında vb. alanlarda kullanım potansiyeline sahip olduğu öngörülmektedir.

Birçok eşsiz özelliğinin yanı sıra doğal, yenilenebilir ve sıfır maliyete sahip kitosan biyopolimerinin üzerinde daha fazla Ar-Ge çalışmalarının yürütülmesi; ülkemizde çok büyük pazar payına sahip olan deniz ürünleri endüstrisinin neden olduğu atıkları geri kazanarak yüksek katma değerli ürünlerin üretilmesinde hem ekonomik açıdan hem de çevre kirliliği açısından son derece büyük yararlar sağlayacağı aşıkardır.

Yüksek çapraz bağlama gücü ve hızlı jelleşme reaksiyonu verme özelliğine sahip GA'nın jel matrisi içerisindeki oranının artması (%3-%10), soldan jele geçiş süresinin bir dakikadan daha kısa bir sürede tamamlanmasını sağlamaktadır. Ortam pH'ının da etkisiyle meydana gelen yüksek viskozite ve daha kısıtlı moleküler hareketlilik, daha etkin ve homojen çapraz bağlanmanın oluşumunu engellemektedir. Bu durum, kitosan hidrojinlere ait sol içeriğin beklenenden fazla olmasına sebep olmuştur. Sentez aşamasındaki bu güçlüğü ortadan kaldırarak daha homojen ve sol içeriği düşük kitosan jellerin sentezlenebilmesi için ileri çalışmalara ve jel bileşiminde yapılabilecek değişikliklerin araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sayede çapraz bağlanma verimi yüksek, başta fiziksel özellikler olmak üzere diğer tüm özellikler bakımından daha iyileştirilmiş kitosan hidrojinlerin sentezlenebileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] S. Kumbar, C. Laurencin, and M. Deng, *Natural and synthetic biomedical polymers*. Newnes, 2014.
- [2] S. Thomas, N. Ninan, S. Mohan, and E. Francis, *Natural polymers, biopolymers, biomaterials, and their composites, blends, and IPNs*. CRC press, 2012.
- [3] E. V. Campos, J. L. Oliveira, and L. F. Fraceto, "Poly (ethylene glycol) and cyclodextrin-grafted chitosan: From methodologies to preparation and potential biotechnological applications," *Frontiers in chemistry*, vol. 5, p. 93, 2017.
- [4] M. D. Akkurt, "Kitin, Kitosan ve Diş Hekimliğindeki Kullanım Alanları," *ADO Klinik Bilimler Dergisi*, vol. 6, no. 2, pp. 1206-1211, 2012.
- [5] X. F. Guo, K. Kikuchi, Y. Matahira, K. Sakai, and K. Ogawa, "Water-soluble chitin of low degree of deacetylation," *Journal of carbohydrate chemistry*, vol. 21, no. 1-2, pp. 149-161, 2002.
- [6] V. Mourya and N. N. Inamdar, "Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore," *Reactive and Functional polymers*, vol. 68, no. 6, pp. 1013-1051, 2008.
- [7] D. Sahoo and P. Nayak, "Chitosan: The most valuable derivative of chitin," ed: John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2011, pp. 129-166.
- [8] E. Szymańska and K. Winnicka, "Stability of chitosan—a challenge for pharmaceutical and biomedical applications," *Marine drugs*, vol. 13, no. 4, pp. 1819-1846, 2015.
- [9] R. Czechowska-Biskup, D. Jarosińska, B. Rokita, P. Ulański, and J. M. Rosiak, "Determination of degree of deacetylation of chitosan-comparison of methods," *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, vol. 17, pp. 5-20, 2012.
- [10] M. Dash, F. Chiellini, R. M. Ottenbrite, and E. Chiellini, "Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications," *Progress in polymer science*, vol. 36, no. 8, pp. 981-1014, 2011.
- [11] E. S. de Alvarenga, C. P. de Oliveira, and C. R. Bellato, "An approach to understanding the deacetylation degree of chitosan," *Carbohydrate Polymers*, vol. 80, no. 4, pp. 1155-1160, 2010.
- [12] L. Guo, Z. Y. Zhao, J. Bai, S. Y. Han, and X. Zhao, "Preparation and performance evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of chitosan composite materials," in *Advanced Materials Research*, 2012, vol. 583, pp. 171-174: Trans Tech Publ.
- [13] W. Bough, W. Salter, A. Wu, and B. Perkins, "Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. I.

- Chemical composition, viscosity, and molecular-weight distribution of chitosan products," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 20, no. 12, pp. 1931-1943, 1978.
- [14] J. Kumirska *et al.*, "Influence of the chemical structure and physicochemical properties of chitin-and chitosan-based materials on their biomedical activity," *Biomedical Engineering, Trends in Materials Science*, pp. 25-64, 2011.
 - [15] Q. Z. Wang *et al.*, "Protonation constants of chitosan with different molecular weight and degree of deacetylation," *Carbohydrate polymers*, vol. 65, no. 2, pp. 194-201, 2006.
 - [16] N. B. Milosavljević, L. M. Kljajević, I. G. Popović, J. M. Filipović, and M. T. Kalagasidis Krušić, "Chitosan, itaconic acid and poly (vinyl alcohol) hybrid polymer networks of high degree of swelling and good mechanical strength," *Polymer International*, vol. 59, no. 5, pp. 686-694, 2010.
 - [17] J. Kumirska, M. X. Weinhold, J. Thöming, and P. Stepnowski, "Biomedical activity of chitin/chitosan based materials—influence of physicochemical properties apart from molecular weight and degree of N-acetylation," *Polymers*, vol. 3, no. 4, pp. 1875-1901, 2011.
 - [18] H. K. No, N. Y. Park, S. H. Lee, and S. P. Meyers, "Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights," *International journal of food microbiology*, vol. 74, no. 1-2, pp. 65-72, 2002.
 - [19] D. Snyman, J. Hamman, J. Kotze, J. Rollings, and A. Kotze, "The relationship between the absolute molecular weight and the degree of quaternisation of N-trimethyl chitosan chloride," *Carbohydrate polymers*, vol. 50, no. 2, pp. 145-150, 2002.
 - [20] Y. G. Zhou, Y. D. Yang, X. M. Guo, and G. R. Chen, "Effect of molecular weight and degree of deacetylation of chitosan on urea adsorption properties of copper chitosan," *Journal of applied polymer science*, vol. 89, no. 6, pp. 1520-1523, 2003.
 - [21] A. Singla and M. Chawla, "Chitosan: Some pharmaceutical and biological aspects-an update," *Journal of pharmacy and pharmacology*, vol. 53, no. 8, pp. 1047-1067, 2001.
 - [22] J. Y. Kamil, Y.-J. Jeon, and F. Shahidi, "Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*)," *Food chemistry*, vol. 79, no. 1, pp. 69-77, 2002.
 - [23] K. Kofuji, C.-J. Qian, M. Nishimura, I. Sugiyama, Y. Murata, and S. Kawashima, "Relationship between physicochemical characteristics and functional properties of chitosan," *European Polymer Journal*, vol. 41, no. 11, pp. 2784-2791, 2005.

- [24] M. Güveli, "Biyopolimer İçeren İç İç Geçmiş Ağ Yapılı Jellerin Sentezi ve Karakterizasyonu," Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2011.
- [25] H. K. No, S. H. Lee, N. Y. Park, and S. P. Meyers, "Comparison of physicochemical, binding, and antibacterial properties of chitosans prepared without and with deproteinization process," *Journal of Agricultural and food Chemistry*, vol. 51, no. 26, pp. 7659-7663, 2003.
- [26] <https://www.sigmaaldrich.com/specification-sheets/>. (accessed 14.01.2022).
- [27] M. R. Kasaai, J. Arul, and G. Charlet, "Intrinsic viscosity–molecular weight relationship for chitosan," *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, vol. 38, no. 19, pp. 2591-2598, 2000.
- [28] E. Ploydee and S. Chaiyanan, "Production of high viscosity chitosan from biologically purified chitin isolated by microbial fermentation and deproteinization," *International Journal of Polymer Science*, vol. 2014, 2014.
- [29] A. Percot, C. Viton, and A. Domard, "Optimization of chitin extraction from shrimp shells," *Biomacromolecules*, vol. 4, no. 1, pp. 12-18, 2003.
- [30] T. Wu, S. Zivanovic, F. A. Draughon, W. S. Conway, and C. E. Sams, "Physicochemical properties and bioactivity of fungal chitin and chitosan," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 53, no. 10, pp. 3888-3894, 2005.
- [31] D. K. Youn, H. K. No, and W. Prinyawiwatkul, "Physicochemical and functional properties of chitosans prepared from shells of crabs harvested in three different years," *Carbohydrate Polymers*, vol. 78, no. 1, pp. 41-45, 2009.
- [32] M. Z. Elsabee, R. E. Morsi, and A. Al-Sabagh, "Surface active properties of chitosan and its derivatives," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 74, no. 1, pp. 1-16, 2009.
- [33] I. Helander, E.-L. Nurmiaho-Lassila, R. Ahvenainen, J. Rhoades, and S. Roller, "Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria," *International journal of food microbiology*, vol. 71, no. 2-3, pp. 235-244, 2001.
- [34] S.-O. Fernandez-Kim, "Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different processing protocols," 2004.
- [35] F. Shahidi and J. Synowiecki, "Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 39, no. 8, pp. 1527-1532, 1991.
- [36] E. Khor, *Chitin: fulfilling a biomaterials promise*. Elsevier, 2014.
- [37] I. Aranaz *et al.*, "Functional characterization of chitin and chitosan," *Current chemical biology*, vol. 3, no. 2, pp. 203-230, 2009.

- [38] H. K. No, Y. I. Cho, H. R. Kim, and S. P. Meyers, "Effective deacetylation of chitin under conditions of 15 psi/121 C," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 48, no. 6, pp. 2625-2627, 2000.
- [39] H. K. No and S. P. Meyers, "Preparation and characterization of chitin and chitosan—a review," *Journal of aquatic food product technology*, vol. 4, no. 2, pp. 27-52, 1995.
- [40] C. T. L. S. G. Kumbar, and M. Deng,, "Natural and Synthetic Biomedical Polymers," in *Polymer Synthesis and Processing*: Elsevier, 2014, pp. 13-15.
- [41] G. S. Dhillon, S. Kaur, S. K. Brar, and M. Verma, "Green synthesis approach: extraction of chitosan from fungus mycelia," *Critical reviews in biotechnology*, vol. 33, no. 4, pp. 379-403, 2013.
- [42] J. Cai *et al.*, "Purification and characterization of chitin deacetylase from *Scopulariopsis brevicaulis*," *Carbohydrate polymers*, vol. 65, no. 2, pp. 211-217, 2006.
- [43] A. Martinou, D. Kafetzopoulos, and V. Bouriotis, "Chitin deacetylation by enzymatic means: monitoring of deacetylation processes," *Carbohydrate Research*, vol. 273, no. 2, pp. 235-242, 1995.
- [44] M. Elibol, "Kabuklu Katı deniz ürünleri artıklarından kitin, kitosan ve türevlerinin üretimi," *İzmir, TÜBİTAK Proje*, no. 106M241, 2008.
- [45] M. Rinaudo, "Chitin and chitosan: Properties and applications," *Progress in polymer science*, vol. 31, no. 7, pp. 603-632, 2006.
- [46] <https://www.gminsights.com/industry-analysis/chitosan-market>. (25.01.2022).
- [47] I. Aranaz *et al.*, "Chitosan: An overview of its properties and applications," *Polymers*, vol. 13, no. 19, p. 3256, 2021.
- [48] S. Islam, M. Khan, and A. N. Alam, "Production of chitin and chitosan from shrimp shell wastes," *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, vol. 14, no. 2, pp. 253-259, 2016.
- [49] R. Barbucci, *Hydrogels: Biological properties and applications*. Springer Science & Business Media, 2010.
- [50] S. EKİCİ, "Kitosan temelli hidrojellerin hazırlanması ve 5-Florourasil salımı davranışlarının incelenmesi," *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, vol. 18, no. 2, pp. 12-24, 2016.
- [51] M. Mondal, H. Ibrahim, and M. Haque, "Cellulosic hydrogels: a greener solution of sustainability," *Cellulose-based superabsorbent hydrogels*, pp. 3-35, 2019.
- [52] D. M. Aydınöğlu, "Akrilamid Esaslı Anyonik Hidrojellerin Polimer Çözeltileri İçindeki Şişme Davranışları," *Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Teknik Üniversitesi*, 2004.

- [53] P. Hermans, "Colloid science, vol. II," *Ed. Kruyt, HR, Elsevier Publishing Company, Inc., Amsterdam*, p. 483, 1949.
- [54] A. S. Hoffman, "Hydrogels for biomedical applications," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 64, pp. 18-23, 2012.
- [55] V. K. Thakur, M. K. Thakur, and S. I. Voicu, "Polymer Gels," 2018.
- [56] S. Mondal, S. Das, and A. K. Nandi, "A review on recent advances in polymer and peptide hydrogels," *Soft Matter*, vol. 16, no. 6, pp. 1404-1454, 2020.
- [57] P. S. Malpure, S. S. Patil, Y. M. More, and P. P. Nikam, "A review on-hydrogel," *Am J PharmTech Res*, vol. 8, no. 3, pp. 42-60, 2018.
- [58] S. Yadav and J. Madan, "Hydrogels: A review," *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, vol. 11, no. 6, 2020.
- [59] C. S. Brazel and N. A. Peppas, "Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers," *Polymer*, vol. 40, no. 12, pp. 3383-3398, 1999.
- [60] T. Iizawa, H. Taketa, M. Maruta, T. Ishido, T. Gotoh, and S. Sakohara, "Synthesis of porous poly (N-isopropylacrylamide) gel beads by sedimentation polymerization and their morphology," *Journal of applied polymer science*, vol. 104, no. 2, pp. 842-850, 2007.
- [61] H. Park, K. Park, and W. S. Shalaby, *Biodegradable hydrogels for drug delivery*. CRC Press, 1993.
- [62] S. Swami, "Radiation Synthesis of polymeric hydrogels for swellingcontrolled drug release studies, Doctor Of Philosophy, University Of Western Sydney," *New South Wales, Australia*, pp. 120-149, 2004.
- [63] S. Garg, A. Garg, and R. Vishwavidyalaya, "Hydrogel: Classification, properties, preparation and technical features," *Asian J. Biomater. Res*, vol. 2, no. 6, pp. 163-170, 2016.
- [64] Z. Maolin, L. Jun, Y. Min, and H. Hongfei, "The swelling behavior of radiation prepared semi-interpenetrating polymer networks composed of polyNIPAAm and hydrophilic polymers," *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 58, no. 4, pp. 397-400, 2000.
- [65] L. Pescosolido *et al.*, "In situ forming IPN hydrogels of calcium alginate and dextran-HEMA for biomedical applications," *Acta biomaterialia*, vol. 7, no. 4, pp. 1627-1633, 2011.
- [66] S. K. Vakkalanka, C. S. Brazel, and N. A. Peppas, "Temperature-and pH-sensitive terpolymers for modulated delivery of streptokinase," *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, vol. 8, no. 2, pp. 119-129, 1997.

- [67] S. Brahima, "pH ve Sıcaklığa Duyarlı Hidrojellerin Sentezlenmesi ve İlaç Salım Davranışlarının Modellenmesi," Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İnönü Üniversitesi 2016.
- [68] P. B. Mohite and S. Adhav, "A hydrogels: Methods of preparation and applications," *Int. J. Adv. Pharm*, vol. 6, no. 3, pp. 79-85, 2017.
- [69] J. Ostroha, M. Pong, A. Lowman, and N. Dan, "Controlling the collapse/swelling transition in charged hydrogels," *Biomaterials*, vol. 25, no. 18, pp. 4345-4353, 2004.
- [70] K. Varaprasad, G. M. Raghavendra, T. Jayaramudu, M. M. Yallapu, and R. Sadiku, "A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 79, pp. 958-971, 2017.
- [71] N. Reddy, R. Reddy, and Q. Jiang, "Crosslinking biopolymers for biomedical applications," *Trends in biotechnology*, vol. 33, no. 6, pp. 362-369, 2015.
- [72] F. Ahmadi, Z. Oveisi, S. M. Samani, and Z. Amoozgar, "Chitosan based hydrogels: characteristics and pharmaceutical applications," *Research in pharmaceutical sciences*, vol. 10, no. 1, p. 1, 2015.
- [73] Z. Chen, M. Zhao, K. Liu, Y. Wan, X. Li, and G. Feng, "Novel chitosan hydrogel formed by ethylene glycol chitosan, 1, 6-diisocyanatohexan and polyethylene glycol-400 for tissue engineering scaffold: in vitro and in vivo evaluation," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 25, no. 8, pp. 1903-1913, 2014.
- [74] K. Kaminski, K. Zazakowny, K. Szczubiałka, and M. Nowakowska, "pH-sensitive genipin-cross-linked chitosan microspheres for heparin removal," *Biomacromolecules*, vol. 9, no. 11, pp. 3127-3132, 2008.
- [75] O. A. Monteiro Jr and C. Airoidi, "Some studies of crosslinking chitosan-glutaraldehyde interaction in a homogeneous system," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 26, no. 2-3, pp. 119-128, 1999.
- [76] R. A. Muzzarelli, M. El Mehtedi, C. Bottegoni, A. Aquili, and A. Gigante, "Genipin-crosslinked chitosan gels and scaffolds for tissue engineering and regeneration of cartilage and bone," *Marine drugs*, vol. 13, no. 12, pp. 7314-7338, 2015.
- [77] N. Vasylieva *et al.*, "Covalent enzyme immobilization by poly (ethylene glycol) diglycidyl ether (PEGDE) for microelectrode biosensor preparation," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 26, no. 10, pp. 3993-4000, 2011.
- [78] E. Assaad, M. Maire, and S. Lerouge, "Injectable thermosensitive chitosan hydrogels with controlled gelation kinetics and enhanced mechanical resistance," *Carbohydrate polymers*, vol. 130, pp. 87-96, 2015.

- [79] S. K. Gulrez, S. Al-Assaf, and G. O. Phillips, "Hydrogels: methods of preparation, characterisation and applications," *Progress in molecular and environmental bioengineering-from analysis and modeling to technology applications*, vol. 117150, 2011.
- [80] Y. Jing and P. Wu, "Study on the thermoresponsive two phase transition processes of hydroxypropyl cellulose concentrated aqueous solution: from a microscopic perspective," *Cellulose*, vol. 20, no. 1, pp. 67-81, 2013.
- [81] S. C. Joshi, "Sol-gel behavior of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) in ionic media including drug release," *Materials*, vol. 4, no. 10, pp. 1861-1905, 2011.
- [82] A. Sionkowska, B. Kaczmarek, M. Gnatowska, and J. Kowalonek, "The influence of UV-irradiation on chitosan modified by the tannic acid addition," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 148, pp. 333-339, 2015.
- [83] Z. Shi, X. Gao, M. W. Ullah, S. Li, Q. Wang, and G. Yang, "Electroconductive natural polymer-based hydrogels," *Biomaterials*, vol. 111, pp. 40-54, 2016.
- [84] W. Zhao, X. Jin, Y. Cong, Y. Liu, and J. Fu, "Degradable natural polymer hydrogels for articular cartilage tissue engineering," *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 88, no. 3, pp. 327-339, 2013.
- [85] J.-W. Rhim and P. K. Ng, "Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications," *Critical reviews in food science and nutrition*, vol. 47, no. 4, pp. 411-433, 2007.
- [86] Q. Chai, Y. Jiao, and X. Yu, "Hydrogels for biomedical applications: their characteristics and the mechanisms behind them," *Gels*, vol. 3, no. 1, p. 6, 2017.
- [87] A. A. Shah, F. Hasan, A. Hameed, and S. Ahmed, "Biological degradation of plastics: a comprehensive review," *Biotechnology advances*, vol. 26, no. 3, pp. 246-265, 2008.
- [88] I. Gibas and H. Janik, "Synthetic polymer hydrogels for biomedical applications," *Chem. Chem. Technol*, vol. 4, no. 4, pp. 297-298, 2010.
- [89] W. A. Laftah, S. Hashim, and A. N. Ibrahim, "Polymer hydrogels: A review," *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, vol. 50, no. 14, pp. 1475-1486, 2011.
- [90] S. Sezer, "PEG ile Stabilize Edilmiş Kollajen-Kitosan Hidrojellerin Biyomalzeme Olarak Geliştirilmesi," Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü Ankara Üniversitesi, Ankara, 2011.
- [91] C.-C. Lin and A. T. Metters, "Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 58, no. 12-13, pp. 1379-1408, 2006.

- [92] N. A. Peppas, P. Bures, W. Leobandung, and H. Ichikawa, "Hydrogels in pharmaceutical formulations," *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, vol. 50, no. 1, pp. 27-46, 2000.
- [93] D. Aydınoglu, "Polimerik Jeller Ders Notları," Polimer Malzeme Mühendisliği Yüksek Lisans Programı, Yalova Üniversitesi, 2020.
- [94] X. Tong, J. Zheng, Y. Lu, Z. Zhang, and H. Cheng, "Swelling and mechanical behaviors of carbon nanotube/poly (vinyl alcohol) hybrid hydrogels," *Materials Letters*, vol. 61, no. 8-9, pp. 1704-1706, 2007.
- [95] B. Zavan, R. Cortivo, and G. Abatangelo, "Hydrogels and tissue engineering," in *Hydrogels*: Springer, 2009, pp. 1-8.
- [96] A. M. Hawkins, *Biodegradable hydrogels and nanocomposite polymers: synthesis and characterization for biomedical applications*. University of Kentucky, 2012.
- [97] K. Leja and G. Lewandowicz, "Polymer biodegradation and biodegradable polymers-a review," *Polish Journal of Environmental Studies*, vol. 19, no. 2, 2010.
- [98] Z. Özbaş and G. Gürdağ, "Synthesis and Characterization of 5-Fluorouracil-Loaded Glutaraldehyde Crosslinked Chitosan Hydrogels," *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, vol. 20, no. 3, pp. 460-467, 2016.
- [99] J. Berger, M. Reist, J. M. Mayer, O. Felt, N. Peppas, and R. Gurny, "Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications," *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, vol. 57, no. 1, pp. 19-34, 2004.
- [100] Y. Zhou *et al.*, "Photopolymerized water-soluble maleilated chitosan/methacrylated poly (vinyl alcohol) hydrogels as potential tissue engineering scaffolds," *International journal of biological macromolecules*, vol. 106, pp. 227-233, 2018.
- [101] X. Yang, J.-C. Kim, and H. Jin Seo, "Hydrogel of β -cyclodextrin-grafted polyethyleneimine: pH-sensitive release," *Journal of dispersion science and technology*, vol. 33, no. 8, pp. 1233-1239, 2012.
- [102] E. M. Ahmed, "Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review," *Journal of advanced research*, vol. 6, no. 2, pp. 105-121, 2015.
- [103] R. Shanks and I. M. Pardo, "Cellulose solubility, gelation, and absorbency compared with designed synthetic polymers," in *Cellulose-based superabsorbent hydrogels* (no. 2): Springer International Publishing, 2018, pp. 1-26.
- [104] D. Aydınoglu, "Investigation of pH-dependent swelling behavior and kinetic parameters of novel poly (acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels with spirulina," *e-Polymers*, vol. 15, no. 2, pp. 81-93, 2015.

- [105] K. V. R. Reddy, M. Nagabhushanam, and E. R. Naik, "Swellable hydrogels and cross linking Agents-Their role in drug delivery system," *Research Journal of Pharmacy and Technology*, vol. 10, no. 3, pp. 937-943, 2017.
- [106] S. Bajpai, M. Bajpai, and L. Sharma, "Investigation of water uptake behavior of superabsorbent polymers composed of N-Vinyl-2-pyrrolidone and partially neutralized acrylic acid," *Journal of Macromolecular Science Part A: Pure and Applied Chemistry*, vol. 43, no. 9, pp. 1323-1337, 2006.
- [107] A. Onaciu, R. A. Munteanu, A. I. Moldovan, C. S. Moldovan, and I. Berindan-Neagoe, "Hydrogels based drug delivery synthesis, characterization and administration," *Pharmaceutics*, vol. 11, no. 9, p. 432, 2019.
- [108] N. Baek, K. Park, J. H. Park, and Y. H. Bae, "Control of the swelling rate of superporous hydrogels," *Journal of bioactive and compatible polymers*, vol. 16, no. 1, pp. 47-57, 2001.
- [109] A. Jastram, T. Lindner, C. Luebbert, G. Sadowski, and U. Kragl, "Swelling and Diffusion in Polymerized Ionic Liquids-Based Hydrogels," *Polymers*, vol. 13, no. 11, p. 1834, 2021.
- [110] H. Schott, "Swelling kinetics of polymers," *Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics*, vol. 31, no. 1, pp. 1-9, 1992.
- [111] O. Akakuru and B. Isiuku, "Chitosan hydrogels and their glutaraldehyde-crosslinked counterparts as potential drug release and tissue engineering systems-synthesis, characterization, swelling kinetics and mechanism," *J. Phys. Chem. Biophys*, vol. 7, no. 3, pp. 1-7, 2017.
- [112] S. Nangia, D. Katyal, and S. G. Warkar, "Kinetics, absorption and diffusion mechanism of crosslinked Chitosan Hydrogels," *Indian Journal of Engineering and Materials Sciences (IJEMS)*, vol. 28, no. 4, pp. 374-384, 2021.
- [113] D. Saraydın, E. Karadag, Y. Işıkver, N. Şahiner, and O. Güven, "The influence of preparation methods on the swelling and network properties of acrylamide hydrogels with crosslinkers," *Journal of Macromolecular Science, Part A*, vol. 41, no. 4, pp. 419-431, 2004.
- [114] M. Ünal, "Kitosan Esaslı Yeni Doğal Hidrojellerin Sentezi ve İlaç Salınım Sistemi Uygulamalarında Kullanımı," Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yalova Üniversitesi, Yalova, 2016.
- [115] O. Wichterle and D. Lim, "Hydrophilic gels for biological use," *Nature*, vol. 185, no. 4706, pp. 117-118, 1960.
- [116] J. Davis, *Smart bandage technologies: design and application*. Academic Press, 2016.
- [117] P. C. F. K. Edwards H, Kaim K, Francis M.,, "Wound Dressing Guide ", I. o. H. a. B. Innovation, Ed., ed, 2020.

- [118] E. A. Kamoun, E.-R. S. Kenawy, and X. Chen, "A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings," *Journal of advanced research*, vol. 8, no. 3, pp. 217-233, 2017.
- [119] Y. C. Lai and L. J. Baccei, "Novel polyurethane hydrogels for biomedical applications," *Journal of applied polymer science*, vol. 42, no. 12, pp. 3173-3179, 1991.
- [120] S. Bashir, Y. Y. Teo, S. Naeem, S. Ramesh, and K. Ramesh, "pH responsive N-succinyl chitosan/Poly (acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels and in vitro release of 5-fluorouracil," *PloS one*, vol. 12, no. 7, p. e0179250, 2017.
- [121] B. Mishra, M. Upadhyay, S. Reddy Adena, B. Vasant, and M. Muthu, "Hydrogels: an introduction to a controlled drug delivery device, synthesis and application in drug delivery and tissue engineering," *Austin J Biomed Eng*, vol. 4, no. 1, pp. 1037-1049, 2017.
- [122] E. Caló and V. V. Khutoryanskiy, "Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products," *European polymer journal*, vol. 65, pp. 252-267, 2015.
- [123] A. W. Lloyd, R. G. Faragher, and S. P. Denyer, "Ocular biomaterials and implants," *Biomaterials*, vol. 22, no. 8, pp. 769-785, 2001.
- [124] U. L. Osuagwu and K. C. Ogbuehi, "UV-vis light transmittance through tinted contact lenses and the effect of color on values," *Contact Lens and Anterior Eye*, vol. 37, no. 3, pp. 136-143, 2014.
- [125] M. Passos *et al.*, "pHEMA hydrogels," *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 125, no. 1, pp. 361-368, 2016.
- [126] J. L. Drury and D. J. Mooney, "Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications," *Biomaterials*, vol. 24, no. 24, pp. 4337-4351, 2003.
- [127] J. A. Hunt, R. Chen, T. van Veen, and N. Bryan, "Hydrogels for tissue engineering and regenerative medicine," *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 2, no. 33, pp. 5319-5338, 2014.
- [128] Y. Zhao, S. Song, X. Ren, J. Zhang, Q. Lin, and Y. Zhao, "Supramolecular Adhesive Hydrogels for Tissue Engineering Applications," *Chemical Reviews*, vol. 122, no. 6, pp. 5604-5640, 2022.
- [129] A. Kumar, "Hydrogel scaffolds for tissue engineering," Patent Appl. U.S. Patent No. 8,883,503, 2014.
- [130] C. Blanchard, S. Timmons, and R. Smith, "Keratin-based Hydrogel for Biomedical Applications and Method of Production," Patent Appl. US Patent 6,379,690 B2, 2002.
- [131] A. Singh, P. K. Sharma, V. K. Garg, and G. Garg, "Hydrogels: a review," *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, vol. 4, no. 2, pp. 97-105, 2010.

- [132] F. L. Buchholz and A. T. Graham, "Modern superabsorbent polymer technology," *John! Wiley & Sons, Inc, 605 Third Ave, New York, NY 10016, USA, 1998*. 279, 1998.
- [133] S. Kiatkamjornwong, "Superabsorbent polymers and superabsorbent polymer composites," *ScienceAsia*, vol. 33, no. 1, pp. 39-43, 2007.
- [134] L. Altomare *et al.*, "Biopolymer-based strategies in the design of smart medical devices and artificial organs," *The International Journal of Artificial Organs*, vol. 41, no. 6, pp. 337-359, 2018.
- [135] D. F. Stamatialis *et al.*, "Medical applications of membranes: Drug delivery, artificial organs and tissue engineering," *Journal of Membrane Science*, vol. 308, no. 1-2, pp. 1-34, 2008.
- [136] T. Roseman and N. Carderelli, "Monolithic polymer devices, Control," *Release Tech*, vol. 11, pp. 46-49, 2001.
- [137] P. Ariano *et al.*, "Polymeric materials as artificial muscles: an overview," *Journal of applied biomaterials & functional materials*, vol. 13, no. 1, pp. 1-9, 2015.
- [138] Y. Liang, *Functional Polymer-polymer Composites by Nano/meso-fiber Encapsulation: Applications in Drug Delivery Systems and Polymer Toughening* (no. 08). 2010.
- [139] P. Bhattacharjee and M. Ahearne, "Significance of crosslinking approaches in the development of next generation hydrogels for corneal tissue engineering," *Pharmaceutics*, vol. 13, no. 3, p. 319, 2021.
- [140] X. Chen, B. Martin, T. Neubauer, R. Linhardt, J. Dordick, and D. Rethwisch, "Enzymatic and chemoenzymatic approaches to synthesis of sugar-based polymer and hydrogels," *Carbohydrate polymers*, vol. 28, no. 1, pp. 15-21, 1995.
- [141] F. Bierbrauer, "Hydrogel drug delivery: diffusion models," 2005.
- [142] Y. Qiu and K. Park, "Environment-sensitive hydrogels for drug delivery," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 53, no. 3, pp. 321-339, 2001.
- [143] A. K. Saxena, "Synthetic biodegradable hydrogel (PleuraSeal) sealant for sealing of lung tissue after thoracoscopic resection," *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, vol. 139, no. 2, pp. 496-497, 2010.
- [144] A. Katip, "Arıtılmış Atıksuların Yeniden Kullanım Alanlarının Değerlendirilmesi," *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, vol. 7, no. 2, pp. 541-557, 2018.
- [145] D. Saraydin, E. Karadağ, and O. Güven, "Adsorptions of some heavy metal ions in aqueous solutions by acrylamide/maleic acid hydrogels," *Separation science and technology*, vol. 30, no. 17, pp. 3287-3298, 1995.

- [146] L. Liu, Q. Gao, X. Lu, and H. Zhou, "In situ forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration," *asian journal of pharmaceutical sciences*, vol. 11, no. 6, pp. 673-683, 2016.
- [147] F. Croisier and C. Jérôme, "Chitosan-based biomaterials for tissue engineering," *European polymer journal*, vol. 49, no. 4, pp. 780-792, 2013.
- [148] H. Hamed, S. Moradi, S. M. Hudson, and A. E. Tonelli, "Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: A review," *Carbohydrate polymers*, vol. 199, pp. 445-460, 2018.
- [149] A. Mitra, C. H. Lee, and K. Cheng, *Advanced drug delivery*. John Wiley & Sons, 2013.
- [150] J. Fu, F. Yang, and Z. Guo, "The chitosan hydrogels: From structure to function," *New Journal of Chemistry*, vol. 42, no. 21, pp. 17162-17180, 2018.
- [151] L. Gao *et al.*, "Evaluation of genipin-crosslinked chitosan hydrogels as a potential carrier for silver sulfadiazine nanocrystals," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 148, pp. 343-353, 2016.
- [152] M. J. Moura, M. M. Figueiredo, and M. H. Gil, "Rheological study of genipin cross-linked chitosan hydrogels," *Biomacromolecules*, vol. 8, no. 12, pp. 3823-3829, 2007.
- [153] Z. Bagher *et al.*, "Wound healing with alginate/chitosan hydrogel containing hesperidin in rat model," *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 55, p. 101379, 2020.
- [154] M. Ruiz, A. M. Sastre, and E. Guibal, "Palladium sorption on glutaraldehyde-crosslinked chitosan," *Reactive and functional polymers*, vol. 45, no. 3, pp. 155-173, 2000.
- [155] M. Şahiner, S. Sagbas, A. Turan, H. Erdugan, and N. Şahiner, "Yara kaplama malzemesi olarak kollajen esaslı hidrojel filmleri," *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, vol. 4, no. 2, pp. 103-116, 2018.
- [156] K. C. Gupta and F. H. Jabrail, "Glutaraldehyde and glyoxal cross-linked chitosan microspheres for controlled delivery of centchroman," *Carbohydrate research*, vol. 341, no. 6, pp. 744-756, 2006.
- [157] J. M. Mayer and D. L. Kaplan, "Method of forming a crosslinked chitosan polymer and product thereof," ed: Google Patents, 1991.
- [158] L. Gao *et al.*, "Effects of genipin cross-linking of chitosan hydrogels on cellular adhesion and viability," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 117, pp. 398-405, 2014.
- [159] A. De Angelis, D. Capitani, and V. Crescenzi, "Synthesis and ¹³C CP-MAS NMR characterization of a new chitosan-based polymeric network," *Macromolecules*, vol. 31, no. 5, pp. 1595-1601, 1998.

- [160] S. Sakai, Y. Yamada, T. Zenke, and K. Kawakami, "Novel chitosan derivative soluble at neutral pH and in-situ gellable via peroxidase-catalyzed enzymatic reaction," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 19, no. 2, pp. 230-235, 2009.
- [161] K. V. H. Prashanth and R. N. Tharanathan, "Crosslinked chitosan—preparation and characterization," *Carbohydrate research*, vol. 341, no. 1, pp. 169-173, 2006.
- [162] K. Ravishankar and R. Dhamodharan, "Advances in chitosan-based hydrogels: Evolution from covalently crosslinked systems to ionotropically crosslinked superabsorbents," *Reactive and Functional Polymers*, vol. 149, p. 104517, 2020.
- [163] Çetinkaya E., "Hidrojeller ve Uygulama Alanları," *İ. K. Dergisi*, Ed., 2015.
- [164] X. Zou, X. Zhao, L. Ye, Q. Wang, and H. Li, "Preparation and drug release behavior of pH-responsive bovine serum albumin-loaded chitosan microspheres," *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 21, pp. 1389-1397, 2015.
- [165] S. Rojas-Lema *et al.*, "Microencapsulation of copper (II) sulfate in ionically cross-linked chitosan by spray drying for the development of irreversible moisture indicators in paper packaging," *Polymers*, vol. 12, no. 9, p. 2039, 2020.
- [166] N. E. Sedyakina, N. B. Feldman, S. V. Lutsenko, and G. V. Avramenko, "Fabrication and drug release behavior of ionically cross-linked chitosan microspheres," *Mendeleev Communications*, vol. 28, no. 6, pp. 598-600, 2018.
- [167] B. Xu, X. Zhang, S. Gan, J. Zhao, and J. Rong, "Dual ionically cross-linked hydrogels with ultra-tough, stable, and self-healing properties," *Journal of Materials Science*, vol. 54, no. 22, pp. 14218-14232, 2019.
- [168] B. Nasri-Nasrabadi, A. Kaynak, C. Wong, P. Heidarian, K. Badii, and A. Z. Kouzani, "Uniform micellization: the key to enhanced mechanical strength and swelling efficiency of chitosan hydrogel," *Fibers and Polymers*, vol. 20, no. 1, pp. 11-18, 2019.
- [169] T. Jóźwiak and U. Filipkowska, "Sorption kinetics and isotherm studies of a Reactive Black 5 dye on chitosan hydrogel beads modified with various ionic and covalent cross-linking agents," *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 8, no. 2, p. 103564, 2020.
- [170] T. Nimal, G. Baranwal, M. Bavva, R. Biswas, and R. Jayakumar, "Anti-staphylococcal activity of injectable nano tigecycline/chitosan-PRP composite hydrogel using *Drosophila melanogaster* model for infectious wounds," *ACS applied materials & interfaces*, vol. 8, no. 34, pp. 22074-22083, 2016.
- [171] D. Archana, B. K. Singh, J. Dutta, and P. Dutta, "In vivo evaluation of chitosan–PVP–titanium dioxide nanocomposite as wound dressing material," *Carbohydrate polymers*, vol. 95, no. 1, pp. 530-539, 2013.

- [172] M. S. Gowtham Golla, Subramanian K. S, Santhanakrishnan V. P.,. (2019) The Green Synthesis of Chitosan Based Super Absorbent Polymer to Enhance Water Holdnig Capacity of Soil. *International Journal of Agricultural Science and Research*.
- [173] D. Singh *et al.*, "Development of chitosan-based dry powder inhalation system of cisplatin for lung cancer," *Indian journal of pharmaceutical sciences*, vol. 74, no. 6, p. 521, 2012.
- [174] T. Mitra, G. Sailakshmi, A. Gnanamani, and A. Mandal, "Studies on cross-linking of succinic acid with chitosan/collagen," *Materials Research*, vol. 16, pp. 755-765, 2013.
- [175] A. Anitha *et al.*, "Synthesis, characterization, cytotoxicity and antibacterial studies of chitosan, O-carboxymethyl and N, O-carboxymethyl chitosan nanoparticles," *Carbohydrate polymers*, vol. 78, no. 4, pp. 672-677, 2009.
- [176] P. Ghosh *et al.*, "Covalent cross-links in polyampholytic chitosan fibers enhances bone regeneration in a rabbit model," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 125, pp. 160-169, 2015.
- [177] S. Supper, N. Anton, N. Seidel, M. Riemenschnitter, C. Schoch, and T. Vandamme, "Rheological study of chitosan/polyol-phosphate systems: Influence of the polyol part on the thermo-induced gelation mechanism," *Langmuir*, vol. 29, no. 32, pp. 10229-10237, 2013.
- [178] G. He, H. Zheng, and F. Xiong, "Preparation and swelling behavior of physically crosslinked hydrogels composed of poly (vinyl alcohol) and chitosan," *Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed.*, vol. 23, no. 6, pp. 816-820, 2008.
- [179] A. Jătariu, M. Danu, C. Peptu, G. Ioanid, C. Ibanescu, and M. Popa, "Ionically and covalently cross-linked hydrogels based on gelatin and chitosan," *Soft materials*, vol. 11, no. 1, pp. 45-54, 2013.
- [180] S.-N. Li *et al.*, "Constructing dual ionically cross-linked poly (acrylamide-co-acrylic acid)/chitosan hydrogel materials embedded with chitosan decorated halloysite nanotubes for exceptional mechanical performance," *Composites Part B: Engineering*, vol. 194, p. 108046, 2020.
- [181] E. Ko and H. Kim, "Preparation of chitosan aerogel crosslinked in chemical and ional ways by non-acid condition for wound dressing," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 164, pp. 2177-2185, 2020.
- [182] M. J. Moura, H. Faneca, M. P. Lima, M. H. Gil, and M. M. Figueiredo, "In situ forming chitosan hydrogels prepared via ionic/covalent co-cross-linking," *Biomacromolecules*, vol. 12, no. 9, pp. 3275-3284, 2011.
- [183] J. Cao, Y. Wang, C. He, Y. Kang, and J. Zhou, "Ionically crosslinked chitosan/poly (acrylic acid) hydrogels with high strength, toughness and antifreezing capability," *Carbohydrate polymers*, vol. 242, p. 116420, 2020.

- [184] A. N. Cadinoiu, C. A. Peptu, B. Fache, J.-F. Chailan, and M. Popa, "Microparticulated systems based on chitosan and poly (vinyl alcohol) with potential ophthalmic applications," *Journal of microencapsulation*, vol. 32, no. 4, pp. 381-389, 2015.
- [185] M. Bahram, N. Mohseni, and M. Moghtader, "An introduction to hydrogels and some recent applications," in *Emerging concepts in analysis and applications of hydrogels*: IntechOpen, 2016.
- [186] <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/1602163>. (2012). *Crosslinkers Technical Handbook*, Thermo Scientific.
- [187] Y. Qiu and K. Park, "Superporous IPN hydrogels having enhanced mechanical properties," *AAPS PharmSciTech*, vol. 4, no. 4, pp. 406-412, 2003.
- [188] A. Martinez-Ruvalcaba, J. Sánchez-Díaz, F. Becerra, L. Cruz-Barba, and A. Gonzalez-Alvarez, "Swelling characterization and drug delivery kinetics of polyacrylamide-co-itaconic acid/chitosan hydrogels," *Express Polym Lett*, vol. 3, no. 1, pp. 25-32, 2009.
- [189] B. S. Rao and K. R. Murthy, "Preparation and in vitro evaluation of chitosan matrices cross-linked by formaldehyde vapors," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 26, no. 10, pp. 1085-1090, 2000.
- [190] R. S. H. Wong, M. Ashton, and K. Dodou, "Effect of crosslinking agent concentration on the properties of unmedicated hydrogels," *Pharmaceutics*, vol. 7, no. 3, pp. 305-319, 2015.
- [191] M. Collins and C. Birkinshaw, "Comparison of the effectiveness of four different crosslinking agents with hyaluronic acid hydrogel films for tissue-culture applications," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 104, no. 5, pp. 3183-3191, 2007.
- [192] S. Khan and N. M. Ranjha, "Effect of degree of cross-linking on swelling and on drug release of low viscous chitosan/poly (vinyl alcohol) hydrogels," *Polymer bulletin*, vol. 71, no. 8, pp. 2133-2158, 2014.
- [193] I. Migneault, C. Dartiguenave, M. J. Bertrand, and K. C. Waldron, "Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking," *Biotechniques*, vol. 37, no. 5, pp. 790-802, 2004.
- [194] N. Islam, I. Dmour, and M. O. Taha, "Degradability of chitosan micro/nanoparticles for pulmonary drug delivery," *Heliyon*, vol. 5, no. 5, p. e01684, 2019.
- [195] B. Ballantyne and S. L. Jordan, "Toxicological, medical and industrial hygiene aspects of glutaraldehyde with particular reference to its biocidal use in cold sterilization procedures," *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, vol. 21, no. 2, pp. 131-151, 2001.

- [196] T. Takigawa and Y. Endo, "Effects of glutaraldehyde exposure on human health," *Journal of occupational health*, vol. 48, no. 2, pp. 75-87, 2006.
- [197] G. Martínez-Mejía, N. A. Vázquez-Torres, A. Castell-Rodríguez, J. M. del Río, M. Corea, and R. Jiménez-Juárez, "Synthesis of new chitosan-glutaraldehyde scaffolds for tissue engineering using Schiff reactions," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 579, p. 123658, 2019.
- [198] M. I. Wahba, "Enhancement of the mechanical properties of chitosan," *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, vol. 31, no. 3, pp. 350-375, 2020.
- [199] A. Kamari, I. Pulford, and J. Hargreaves, "Chitosan as a potential amendment to remediate metal contaminated soil—A characterisation study," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 82, no. 1, pp. 71-80, 2011.
- [200] K. Kumari, "Swelling properties of cross linked chitosan & L-alanine semiinterpenetrating polymer network (semi-IPN)," *J. Chem. Pharm. Res*, vol. 2, pp. 892-898, 2010.
- [201] R. Kotadiya, V. Patel, H. Patel, and H. Koradiya, "Effect of cross-linking on physicochemical properties of chitosan mucoadhesive microspheres: A factorial approach," *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, vol. 3, no. 1, 2009.
- [202] M. W. Davidson and M. Abramowitz, "Optical microscopy," *Encyclopedia of imaging science and technology*, vol. 2, no. 1106-1141, p. 120, 2002.
- [203] Z. Karakoç, M. A. KETANİ, and Ş. Ketani, "Mikroskopların çalışma mekanizması ve çeşitleri," *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, no. 1, pp. 1-6, 2016.
- [204] A. Arianita, B. Amalia, W. Pudjiastuti, S. Melanie, V. Fauzia, and C. Imawan, "Effect of glutaraldehyde to the mechanical properties of chitosan/nanocellulose," in *Journal of Physics: Conference Series*, 2019, vol. 1317, no. 1, p. 012045: IOP Publishing.
- [205] D. Lee, H. Zhang, and S. Ryu, "Elastic modulus measurement of hydrogels," *Springer International Publishing: Cham, Switzerland*, pp. 1-21, 2018.
- [206] A. Vimmrová and J. Výborný, *Building materials 10: Materials and testing methods*. České vysoké učení technické, 2002.
- [207] A. Lončarević, M. Ivanković, and A. Rogina, "Lysozyme-induced degradation of chitosan: the characterisation of degraded chitosan scaffolds," *J. Tissue Repair Regen*, vol. 1, pp. 12-22, 2017.
- [208] S. B. Qasim *et al.*, "In-vitro and in-vivo degradation studies of freeze gelated porous chitosan composite scaffolds for tissue engineering applications," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 136, pp. 31-38, 2017.
- [209] Yang Rui. (2020) Polymer Degradation and Stability. in *Polymer Science and Nanotechnology*. 125-148.

- [210] F. S. Tenório, T. L. do Amaral Montanheiro, A. M. I. dos Santos, M. dos Santos Silva, A. P. Lemes, and D. B. Tada, "Chitosan hydrogel covalently crosslinked by gold nanoparticle: Eliminating the use of toxic crosslinkers," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 138, no. 6, p. 49819, 2021.
- [211] H. Sashiwa, H. Saimoto, Y. Shigemasa, R. Ogawa, and S. Tokura, "Distribution of the acetamide group in partially deacetylated chitins," *Carbohydrate Polymers*, vol. 16, no. 3, pp. 291-296, 1991.
- [212] R. Muzzarelli, "New Derivative of Chitin and Chitosan: New Development in Industrial Polysaccharides," ed: Gordan and Beach, Science Publishing, New York, 1985.
- [213] F. Al Sagheer, M. Al-Sughayer, S. Muslim, and M. Elsabee, "Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf," *Carbohydrate polymers*, vol. 77, no. 2, pp. 410-419, 2009.
- [214] R. Hejazi and M. Amiji, "Chitosan-based gastrointestinal delivery systems," *Journal of controlled release*, vol. 89, no. 2, pp. 151-165, 2003.
- [215] M. Hossain and A. Iqbal, "Production and characterization of chitosan from shrimp waste," *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, vol. 12, no. 1, pp. 153-160, 2014.
- [216] P. K. Dutta, J. Dutta, and V. Tripathi, "Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications," 2004.
- [217] M. N. R. Kumar, "A review of chitin and chitosan applications," *Reactive and functional polymers*, vol. 46, no. 1, pp. 1-27, 2000.
- [218] H. No and M. Lee, "Isolation of chitin from crab shell waste," *Journal of The Korean Society of Food and Nutrition (Korea Republic)*, 1995.
- [219] H. Y. Zhou, X. G. Chen, M. Kong, C. S. Liu, D. S. Cha, and J. F. Kennedy, "Effect of molecular weight and degree of chitosan deacetylation on the preparation and characteristics of chitosan thermosensitive hydrogel as a delivery system," *Carbohydrate polymers*, vol. 73, no. 2, pp. 265-273, 2008.
- [220] Z. Özbaş, "Uyarıya duyarlı biyopolimer jellerin sentezi, karakterizasyonu ve ilaç salımında kullanımlarının incelenmesi," Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2014.
- [221] N. Li and R. Bai, "A novel amine-shielded surface cross-linking of chitosan hydrogel beads for enhanced metal adsorption performance," *Industrial & engineering chemistry research*, vol. 44, no. 17, pp. 6692-6700, 2005.
- [222] E. Abdelrazek, I. Elashmawi, and S. Labeeb, "Chitosan filler effects on the experimental characterization, spectroscopic investigation and thermal studies of PVA/PVP blend films," *Physica B: Condensed Matter*, vol. 405, no. 8, pp. 2021-2027, 2010.

- [223] E. Budianto, S. P. Muthoharoh, and N. M. Nizardo, "Effect of crosslinking agents, pH and temperature on swelling behavior of cross-linked chitosan hydrogel," *Asian Journal of Applied Sciences*, vol. 3, no. 5, 2015.
- [224] M. R. Kasaai, "A review of several reported procedures to determine the degree of N-acetylation for chitin and chitosan using infrared spectroscopy," *Carbohydrate polymers*, vol. 71, no. 4, pp. 497-508, 2008.
- [225] P. Monvisade and P. Siriphannon, "Chitosan intercalated montmorillonite: Preparation, characterization and cationic dye adsorption," *Applied Clay Science*, vol. 42, no. 3-4, pp. 427-431, 2009.
- [226] T. Wang, M. Turhan, and S. Gunasekaran, "Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan-poly (vinyl alcohol) hydrogel," *Polymer International*, vol. 53, no. 7, pp. 911-918, 2004.
- [227] Y. Zheng and A. Wang, "Enhanced adsorption of ammonium using hydrogel composites based on chitosan and halloysite," *Journal of Macromolecular Science, Part A*, vol. 47, no. 1, pp. 33-38, 2009.
- [228] K. K. Rao, B. V. K. Naidu, M. Subha, M. Sairam, and T. Aminabhavi, "Novel chitosan-based pH-sensitive interpenetrating network microgels for the controlled release of cefadroxil," *Carbohydrate Polymers*, vol. 66, no. 3, pp. 333-344, 2006.
- [229] S. Gorgieva and V. Kokol, "Preparation, characterization, and in vitro enzymatic degradation of chitosan-gelatine hydrogel scaffolds as potential biomaterials," *Journal of biomedical materials research Part A*, vol. 100, no. 7, pp. 1655-1667, 2012.
- [230] P. Mallika, A. Himabindu, and D. Shailaja, "Modification of chitosan towards a biomaterial with improved physico-chemical properties," *Journal of applied polymer science*, vol. 101, no. 1, pp. 63-69, 2006.
- [231] B. Taşdelen, S. Erdoğan, and B. Bekar, "Radiation synthesis and characterization of chitosan/hyaluronic acid/hydroxyapatite hydrogels: drug uptake and drug delivery systems," *Materials Today: Proceedings*, vol. 5, no. 8, pp. 15990-15997, 2018.
- [232] E. Mirzaei B, A. Ramazani SA, M. Shafiee, and M. Danaei, "Studies on glutaraldehyde crosslinked chitosan hydrogel properties for drug delivery systems," *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, vol. 62, no. 11, pp. 605-611, 2013.
- [233] H. Ritonga, M. Nurdin, F. S. Rembon, L. Ramadhan, and F. Fitriana, "Preparation of Hydrogel Chitosan Co-Polyacrilamide Crosslinked Glutaraldehyde," 2019.
- [234] S. K. L. Levengood and M. Zhang, "Chitosan-based scaffolds for bone tissue engineering," *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 2, no. 21, pp. 3161-3184, 2014.

- [235] C. Spagnol, F. H. Rodrigues, A. G. Pereira, A. R. Fajardo, A. F. Rubira, and E. C. Muniz, "Superabsorbent hydrogel composite made of cellulose nanofibrils and chitosan-graft-poly (acrylic acid)," *Carbohydrate Polymers*, vol. 87, no. 3, pp. 2038-2045, 2012.
- [236] E. Erizal and I. W. Redja, "Sintesis Hidrogel Superabsorben Polietilen Oksida-Alginat dengan Teknik Radiasi Gamma dan Karakterisasinya," *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, vol. 8, no. 1, pp. 11-17, 2010.
- [237] K. Zielińska, W. Kujawski, and A. G. Chostenko, "Chitosan hydrogel membranes for pervaporative dehydration of alcohols," *Separation and purification technology*, vol. 83, pp. 114-120, 2011.
- [238] R. Silva, G. Silva, O. Coutinho, J. Mano, and R. Reis, "Preparation and characterisation in simulated body conditions of glutaraldehyde crosslinked chitosan membranes," *Journal of materials science: Materials in Medicine*, vol. 15, no. 10, pp. 1105-1112, 2004.
- [239] K. Wegrzynowska-Drzymalska *et al.*, "Crosslinking of chitosan with dialdehyde chitosan as a new approach for biomedical applications," *Materials*, vol. 13, no. 15, p. 3413, 2020.
- [240] K. C. Gupta and F. Jabrail, "Effect of molecular weight and degree of deacetylation on controlled release of isoniazid from chitosan microspheres," *Polymers for Advanced Technologies*, vol. 19, no. 5, pp. 432-441, 2008.
- [241] P. Dutta, S. Tripathi, G. Mehrotra, and J. Dutta, "Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications," *Food chemistry*, vol. 114, no. 4, pp. 1173-1182, 2009.
- [242] H. Zhang and S. H. Neau, "In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: effect of molecular weight and degree of deacetylation," *Biomaterials*, vol. 22, no. 12, pp. 1653-1658, 2001.
- [243] S. Supper, N. Anton, N. Seidel, M. Riemenschnitter, C. Curdy, and T. Vandamme, "Thermosensitive chitosan/glycerophosphate-based hydrogel and its derivatives in pharmaceutical and biomedical applications," *Expert Opinion on Drug Delivery*, vol. 11, no. 2, pp. 249-267, 2014.
- [244] D. R. Rohindra, A. V. Nand, and J. R. Khurma, "Swelling properties of chitosan hydrogels," *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences*, vol. 22, no. 1, pp. 32-35, 2004.
- [245] S. J. Kim, S. R. Shin, N. G. Kim, and S. I. Kim, "Swelling Behavior of Semi-Interpenetrating Polymer Network Hydrogels Based on Chitosan and Poly (acryl amide)," *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, vol. 42, no. 8, pp. 1073-1083, 2005.
- [246] S. Jin, F. Bian, M. Liu, S. Chen, and H. Liu, "Swelling mechanism of porous P (VP-co-MAA)/PNIPAM semi-IPN hydrogels with various pore sizes prepared by a freeze treatment," *Polymer international*, vol. 58, no. 2, pp. 142-148, 2009.

- [247] R. Barbucci, "Hydrogels: Biological properties and applications," *Springer Science & Business Media*, 2010.
- [248] J. K. Tessmar and A. M. Göpferich, "Matrices and scaffolds for protein delivery in tissue engineering," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 59, no. 4-5, pp. 274-291, 2007.
- [249] X. Shu, K. Zhu, and W. Song, "Novel pH-sensitive citrate cross-linked chitosan film for drug controlled release," *International journal of pharmaceutics*, vol. 212, no. 1, pp. 19-28, 2001.
- [250] Y. Dong, Y. Ruan, H. Wang, Y. Zhao, and D. Bi, "Studies on glass transition temperature of chitosan with four techniques," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 93, no. 4, pp. 1553-1558, 2004.
- [251] J. Ostrowska-Czubenko, M. Gierszewska, and M. Pieróg, "pH-responsive hydrogel membranes based on modified chitosan: water transport and kinetics of swelling," *Journal of Polymer Research*, vol. 22, no. 8, pp. 1-12, 2015.
- [252] E. S. Dragan, M. M. Perju, and M. V. Dinu, "Preparation and characterization of IPN composite hydrogels based on polyacrylamide and chitosan and their interaction with ionic dyes," *Carbohydrate Polymers*, vol. 88, no. 1, pp. 270-281, 2012.
- [253] G. Levita, S. De Petris, A. Marchetti, and A. Lazzeri, "Crosslink density and fracture toughness of epoxy resins," *Journal of materials science*, vol. 26, no. 9, pp. 2348-2352, 1991.
- [254] Y. Zhou, G. Ma, S. Shi, D. Yang, and J. Nie, "Photopolymerized water-soluble chitosan-based hydrogel as potential use in tissue engineering," *International journal of biological macromolecules*, vol. 48, no. 3, pp. 408-413, 2011.
- [255] H. Ferfera-Harrar, N. Aiouaz, N. Dairi, and A. S. Hadj-Hamou, "Preparation of chitosan-g-poly (acrylamide)/montmorillonite superabsorbent polymer composites: Studies on swelling, thermal, and antibacterial properties," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 131, no. 1, 2014.
- [256] S. Ramachandran, S. Nandhakumar, and M. D. Dhanaraju, "Formulation and characterization of glutaraldehyde cross-linked chitosan biodegradable microspheres loaded with famotidine," *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 10, no. 3, 2011.
- [257] M. Beppu, R. Vieira, C. Aimoli, and C. Santana, "Crosslinking of chitosan membranes using glutaraldehyde: Effect on ion permeability and water absorption," *Journal of membrane science*, vol. 301, no. 1-2, pp. 126-130, 2007.
- [258] J.-H. Lee and H.-W. Kim, "Emerging properties of hydrogels in tissue engineering," *Journal of tissue engineering*, vol. 9, p. 2041731418768285, 2018.

- [259] K. S. Anseth, C. N. Bowman, and L. Brannon-Peppas, "Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination," *Biomaterials*, vol. 17, no. 17, pp. 1647-1657, 1996.
- [260] L. Cacopardo, N. Guazzelli, R. Nossa, G. Mattei, and A. Ahluwalia, "Engineering hydrogel viscoelasticity," *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 89, pp. 162-167, 2019.
- [261] H.-J. Kong, K. Y. Lee, and D. J. Mooney, "Decoupling the dependence of rheological/mechanical properties of hydrogels from solids concentration," *Polymer*, vol. 43, no. 23, pp. 6239-6246, 2002.
- [262] K. M. Vårum, M. M. Myhr, R. J. Hjerde, and O. Smidsrød, "In vitro degradation rates of partially N-acetylated chitosans in human serum," *Carbohydrate research*, vol. 299, no. 1-2, pp. 99-101, 1997.
- [263] Q.-y. Deng, C.-r. Zhou, and B.-h. Luo, "Preparation and characterization of chitosan nanoparticles containing lysozyme," *Pharmaceutical biology*, vol. 44, no. 5, pp. 336-342, 2006.
- [264] Y. Yang, W. Hu, X. Wang, and X. Gu, "The controlling biodegradation of chitosan fibers by N-acetylation in vitro and in vivo," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 18, no. 11, pp. 2117-2121, 2007.
- [265] Y. Shigemasa, K. Saito, H. Sashiwa, and H. Saimoto, "Enzymatic degradation of chitins and partially deacetylated chitins," *International journal of biological macromolecules*, vol. 16, no. 1, pp. 43-49, 1994.



ÖZGEÇMİŞ

Yalova Üniversitesi Polimer Malzeme Mühendisliği Bölümündeki lisans eğitimini 2019 yılında tamamlamış olup Polimer Malzeme Mühendisi unvanını almaya hak kazanmıştır.

TEZDEN TÜRETİLEN YAYIN VE ESERLER

[1] KAÇOĞLU Hanife Songül, ÇELEBİ Mithat, Kimyasal Yöntem ile Farklı Molekül Ağırlıklarında Kitosan Üretimi ve Hidrojel Sentezinde Kullanımı, 8. Uluslararası Lif ve Polimer Araştırmaları Sempozyumu, 18 – 19 Haziran 2021, Eskişehir / Türkiye

