



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

**KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI**

**KİTOSAN VE MEYAN KÖKÜ BAZLI KOMPOZİT HİDROJELLERİN YAPISAL,
ANTİOKSİDAN/ANTİMİKROBİYAL ve SALINIM ÖZELLİKLERİN
ARAŞTIRILMASI ve DEĞERLENDİRMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALAA ALSHAHER

DANIŞMAN: Dr. Öğr.Üyesi Berrin SAYGI YALÇIN

**YALOVA
TEMMUZ 2025**



T.C.
YALOVA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI

KİTOSAN VE MEYAN KÖKÜ BAZLI KOMPOZİT HİDROJELLERİN YAPISAL,
ANTİOKSİDAN/ANTİMİKROBİYAL ve SALINIM ÖZELLİKLERİN ARAŞTIRILMASI
ve DEĞERLENDİRMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALAA ALSHAHER
228110008

DANIŞMAN: Dr. Öğr.Üyesi Berrin SAYGI YALÇIN

YALOVA
TEMMUZ 2025

ETİK BEYAN

Yalova Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım “Kitosan Ve Meyan Kökü Bazlı Kompozit Hidrojellerin Yapısal, Antioksidan/Antimikrobiyal Ve Salinim Özelliklerin Araştırılması Ve Değerlendirmesi” başlıklı bu tez çalışmada; 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 çalışmada 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

Alaa Alshaher





ÖNSÖZ

Bu Yüksek Lisans tez çalışması, T.C. Yalova Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kimya Mühendisliği Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Yüksek lisans eğitimim süresince, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşmaktan hiçbir zaman çekinmeyen, bilimsel yaklaşımı ve yol göstericiliği ile bu çalışmanın her aşamasında bana destek olan değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Berrin Saygı Yalçın'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

T.C. Yalova Üniversitesi Polimer Malzeme Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. Hamit ERDEMİ'ye değerli desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olan, sevgilerini ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme; her koşulda yanımda duran, verdiği maddi ve manevi destekle gücümü artıran sevgili eşim Mahmut'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecinde bilimsel katkılarını esirgemeyen, akademik gelişimime destek sağlayan tüm öğretim üyelerine şükranlarımı sunarım. Bilimsel bilgiye katkı sunabilmeyi hedeflediğim bu sürecin sonunda, edindiğim kazanımların gelecekteki çalışmalarım için bir temel oluşturmasını diliyorum.

Temmuz, 2025

Alaa ALSHAHER



İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	i
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
ÖZET.....	xv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1 Çalışmanın Amacı	2
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Hidrojeller ve Hidrojellerin Özellikler	5
2.2. Hidrojellerin Sınıflandırılması.....	6
2.2.1. Hazırlama yöntemine göre hidrojeller	6
2.2.2. İçerdikleri yan gruplarına göre hidrojeller	7
2.2.3. Fiziksel yapılarına göre hidrojeller	8
2.2.4. Çapraz bağlanmasına göre hidrojeller	8
2.2.5. Kaynaklarına Göre Hidrojeller	9
2.2.6. Su absorplama yeteneklerine göre hidrojeller	9
2.2.7. Kimyasal kararlılıklarına göre hidrojeller.....	9
2.2.8. Dış ortam koşullarına göre hidrojeller	10
2.3. Hidrojellerin Uygulama Alanları.....	10
2.3.1. Biyomedikal alanlarda	10
2.3.2. Yara iyileştirme uygulamaları	11
2.3.3. Doku mühendisliğindeki uygulamalar	11
2.3.4. Yumuşak kontakt lensler	12
2.3.5. Kozmetik endüstrisinde	12
2.3.6. Boyaların ve ağır metal iyonlarının giderilmesinde.....	12
2.3.7. Gıda Ambalajı ve paketleme alanında	13
2.4. Hidrojellerin Üretim Yöntemleri	13
2.4.1. Fiziksel Çapraz Bağlanma	14
2.4.2. Kimyasal çapraz bağlanma	15
2.5. Polisakkarit Hidrojeller	16



2.5.1. Kitosan hidrojel	17
2.5.6. Meyan kökü hidrojel	19
2.6. Kitosan ve Meyan Kökü Birleşim Hidrojelleri	20
2.7. Dondurarak Kurutma Yöntemi	22
3 MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1. Kullanılan Kimyasallar	25
3.2. Kullanılan Cihazlar	26
3.3. Yöntem	28
3.3.1. Meyan kökü polisakkaritlerin sentezi	28
3.3.2 Kitosan/meyan kökü hidrojellerinin hazırlanması için ön denemeler	29
3.3.2. Optimum kitosan, meyan kökü konsantrasyonu ve oranının belirlenmesi	31
3.4. Hidrojellerin Karakterizasyonu	32
3.4.1. Su absorplama kapasitesi deneyleri	32
3.4.2. Yoğunluk	33
3.4.3. Taramalı elektron mikroskopu (SEM)	33
3.4.4. Termogravimetrik analiz (TGA)	33
3.4.5. FTIR	34
3.4.6. İn vitro bozunma	34
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	35
4.1. Meyan Kökü Polisakkaritlerin Ekstraksiyonu	35
4.2. Optimum pH ve Sıcaklığın Belirlenmesi	41
4.2.1 Optimum sıcaklık ve pH denemeleri için su absorplama kapasiteleri	41
4.2.2 Optimum sıcaklık ve pH denemeleri için hidrojellerin in-vitro bozunma denemeleri ve yoğunluk analizleri	44
4.2.3 Optimum sıcaklık ve pH denemeleri için hidrojellerin FT-IR, TGA ve SEM analizleri	46
4.3. Kitosan Meyan Kökü Hidrojel Sentezinde Optimum Parametrelerin Belirlenmesi	50
4.3.1 Kitosan Meyan Kökü Hidrojellerin hidrojellerin in-vitro bozunma denemeleri ve yoğunluk analizleri	59
4.3.2 Kitosan meyan kökü hidrojellerin TGA, SEM ve FTIR sonuçları	61
4.3.4 Kitosan Meyan Kökü Hidrojellerin antibakteriyal analizleri	64
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	73



SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

KISALTMALAR

CS	: Kitosan
FD	: Dondurarak kurutma
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GP	: Meyan kökü
IPN	: İç içe girmiş polimerik yapılar
PBS	: Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	: Termogravimetrik Analiz



TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 4.1. % verim için kullanılan her bir parametrenin gerçek ve kodlanmış değerleri.	35
Tablo 4.2. Box-Bhenken dizayn ile elde edilmiş deney planı ve cevapların deneysel ve tahmini değerleri.....	36
Tablo 4.3. % verim değerleri için model uygunluk analizi verileri.....	37
Tablo 4.4 % verim için ANOVA analizi	39
Tablo 4.5. % verim için optimizasyon standartları ve optimum parametreler	41
Tablo 4.6. Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sentezlenen hibrit hidrojellerin sentezleme parametreleri ve su absorplama kapasiteleri.	42
Tablo 4.7. Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sentezlenen hibrit hidrojellerin yoğunluk ve farklı sürelerdeki invitro bozunma denemeleri.....	44
Tablo 4.8. CS/GP hibrit hidrojellerin % su basorplama kapasitesi için her bir parametrenin gerçek ve kodlanmış değerleri.....	51
Tablo 4.9 Box-Bhenken dizayn ile elde edilmiş deney planı ve cevapların deneysel ve tahmini değerleri.....	52
Tablo 4.10. % su absorplama kapasitesi için model uygunluk analizi verileri.	53
Tablo 4.11 % su absorplama kapasitesi için ANOVA analizi.....	54
Tablo 4.12. Farklı CS/GP konsantrasyonu ve oranı ile sentezlenen hidrojellerin şişme davranışını.	57
Tablo 4.13. Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sentezlenen hibrit hidrojellerin yoğunluk ve farklı sürelerdeki invitro bozunma denemeleri.....	60



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. Meyan kökü polisakkaritlerinin ekstraksiyon yöntemi.....	29
Şekil 3.2. CS/GP hibrit hidrojellerinin sentezleme yöntemi	30
Şekil 3.3. Sentezlenen hidrojellerin her adımda şekli. (a) NaOH ve CaCl ₂ çözeltilerine daldırma işleminden sonra elde edilen hidrojel yapı (b) Dondurularak kurutmadan önceki hidrojel yapı (c) karakterizasyondan önce silindirik peletlere bölünmüş yapı.....	31
Şekil 4.1. Üç boyutlu cevap yüzey grafikleri. (a) katı faz/su (g/ml) ve etanol hacmi (ml) (b) etanol konsantrasyonu (%) ve katı faz/su (g/ml) (c) etanol hacmi (ml) ve etanol konsantrasyonu (%)’nun % verim üzerindeki etkisini gösteren üç boyutlu cevap yüzey grafikleri.	40
Şekil 4.2 Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sentezlenen kitosan–meyan kökü hibrit hidrojellerinin 24 saatlik su emme davranışı.....	43
Şekil 4.3. Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sentezlenen kitosan–meyan kökü hibrit hidrojellerinin 24 saatlik su emme davranışı.....	45
Şekil 4.4. Kitosan (CS), ekstrakt edilen (GP) ve birinci aşamada sentezlenen 4, 8 ve 3 numunelerin FTIR sonuçları.	47
Şekil 4.5. Kitosan (CS), ekstrakt edilen (GP) ve birinci aşamada sentezlenen 4, 8 ve 3 numunelerin TGA sonuçları.	48
Şekil 4.6. Kitosan (CS), ekstrakt edilen (GP) ve birinci aşamada sentezlenen 4, 8 ve 3 numunelerin SEM sonuçları.	49
Şekil 4.7. Üç boyutlu cevap yüzey grafikleri.	56
Şekil 4.8. İkinci aşamada entezlenen hidrojellerin zamanla su absroblama kapasitesi.....	58
Şekil 4.9. İkinci aşamada sentezlenen hidrojellerin İn-Vitro analizlerin grafikleri.	61
Şekil 4.10. İkinci aşamada sentzlenen hidrojellerin TGA sonuçları.....	62
Şekil 4.11. İkinci aşamada sentezlenen hidrojellerin FTIR sonuçları.....	63
Şekil 4.12. İkinci aşamada sentezlenen hidrojellerin SEM görüntüleri.....	64
Şekil 4.13. İkinci aşamada sentezlenen hidrojellerin Antibakteriyel testleri	65



KİTOSAN VE MEYAN KÖKÜ BAZLI KOMPOZİT HİDROJELLERİN YAPISAL, ANTİOKSİDAN/ANTİMİKROBİYAL ve SALINIM ÖZELLİKLERİN ARAŞTIRILMASI ve DEĞERLENDİRMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, doğal polisakkaritler olan kitosan ve meyan kökü polisakkaritinden elde edilen hibrit hidrojellerin sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Özellikle bergamot yağı katkısı ile zenginleştirilen bu yapılar, fonksiyonel özellikleriyle biyomedikal, gıda ve kozmetik alanlarında potansiyel uygulamalara sahiptir. Çalışma kapsamında, başlangıç maddesi oranı, pH ve sıcaklık gibi parametrelerin hidrojel özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Elde edilen hibrit hidrojellerin yapısal ve fonksiyonel karakterizasyonu FTIR, SEM, TGA analizleri ile değerlendirilmiş; şişme oranı, in vitro bozunma, sitotoksitesite, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri analiz edilmiştir. Ayrıca, film yapılarının mekanik ve fiziksel özellikleri incelenmiştir. Sonuçlar, kitosan ve meyan kökü polisakkaritinin birlikte kullanımıyla elde edilen hibrit yapıların, stabilite ve biyofonksiyonellik açısından önemli avantajlar sağladığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Kitosan, Meyan Kökü, Hibrit Hidrojel, Bergamot Yağı.



INVESTIGATION AND EVALUATION OF STRUCTURAL, ANTIOXIDANT/ANTIMICROBIAL AND RELEASE PROPERTIES OF CHITOSAN AND LICORICE BASED COMPOSITE HYDROGELS

ABSTRACT

In this study, hybrid hydrogels were synthesized and characterized using chitosan and licorice root polysaccharides, which are natural biopolymers. Enriched with bergamot oil, these hydrogels exhibit functional properties that suggest potential applications in biomedical, food, and cosmetic fields. The effects of initial material concentration, pH, and temperature on hydrogel formation were investigated. Structural and functional characterization of the synthesized hydrogels was performed using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM), and Thermogravimetric Analysis (TGA). Swelling behavior, in vitro degradation, cytotoxicity, antioxidant, and antimicrobial properties were also evaluated. Additionally, the mechanical and physical properties of the hydrogel films, such as tensile strength and elongation at break, were analyzed. The results indicate that combining chitosan and licorice root polysaccharides produces stable hybrid structures with enhanced biofunctional characteristics.

Keywords: Chitosan, Licorice Root, Hybrid Hydrogel, Bergamot Oil.



1. GİRİŞ

Son zamanlarda doğal kaynaklı biyopolimerlerin elde edilmesi ve çeşitli alanlarda kullanılması, gıda, ilaç ve kozmetik gibi endüstrilerde öne çıkan araştırma konularından biri haline gelmiştir. Özellikle doğal bileşenlerden sentezlenen yapıların düşük yan etki profiline sahip olması, bu malzemelere olan ilgiyi gün geçtikçe artırmaktadır [1]. Biyopolimer temelli hidrojel ve film yapılarının GRAS (Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen) sınıfında yer alması, bu yapıların FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından gıda, ilaç ve kozmetik sektörlerinde potansiyel kullanım alanlarının detaylı bir şekilde araştırılmasına neden olmuştur.

Hidrojeller, kütlelerinin en az %20'si kadar su absorplayabilen, çapraz bağlarla oluşturulmuş nötr veya iyonik yapıda hidrofilik üç boyutlu (3D) hidrofilik polimer temelli akıllı malzemelerdir. Bu 3D yapı, kimyasal, iyonik, hidrojen bağları ve Van der Waals kuvvetleri gibi fiziksel etkileşimlerle meydana gelmektedir. Hidrojellerin su tutma özellikleri; sentezde kullanılan hammaddenin kimyasal yapısı ve içerdiği fonksiyonel gruplar (amin, amid, hidroksil, sülfat vb.) ile doğrudan ilişkilidir. Su ile temas ettiklerinde çözünmeden yüksek miktarda su emme yeteneğine sahip olan bu yapılar, gıda teknolojisinden tıbbi uygulamalara, farmasötik ürünlerden biyoteknolojik araştırmalara kadar çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Hidrojeller hem doğal hem de sentetik polimerlerden sentezlenebilmekte olup bunlar arasında, selüloz, nişasta, kitosan (CS), aljinat ve karragenan gibi polisakkarit zincirleri, biyouyumlulukları, biyolojik olarak parçalanabilirlikleri ve kararlı, üç boyutlu ağlar oluşturma yetenekleri nedeniyle en yaygın kullanılanlardır. Bu doğal polimerler son yıllarda farklı alanlarda büyük ilgi görmektedir. Özellikle doğal polimerler, toksik olmayan kökenleri sayesinde sentetik polimerlere kıyasla biyomedikal, farmasötik ve çevresel uygulamalarda daha çok tercih edilmektedir [1]. Son yıllarda kontak lensler, kozmetik ürünler, membran sistemleri, yapay organlar ve kontrollü ilaç salım sistemleri gibi birçok alanda bu malzemeler yaygın biçimde kullanılmaktadır [2].

Meyan kökü polisakkaritleri, Glycyrrhiza glabra bitkisinin köklerinden elde edilen uzun zincirli doğal bir polimerdir. Bu polimer antibakteriyel, antiviral, antitümör ve antioksidan etkilerinin yanı sıra karaciğer ve böbrek koruyucu özellikleri sayesinde; gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde farklı uygulamalarda sıklıkla değerlendirilmektedir.

CS, selülozdan sonra doğada en fazla bulunan doğal bir polisakkarittir. Biyobozunur ve biyouyumlu yapısı sayesinde su arıtımı, gıda ambalajları ve ilaç taşıma sistemleri gibi çok çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu doğal polisakkaritlerin her biri ile elde edilen hidrojel, tek başlarına dahi oldukça başarılı sonuçlar verebilmektedir. Ancak, literatürde CS ve meyan kökü polisakkaritinin birlikte kullanıldığı hibrit hidrojel sistemlerine nadiren rastlanmaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada bergamot yağı içeren CS/meyan kökü bazlı hibrit hidrojellerin sentezlenmesi ve detaylı karakterizasyonlarının yapılması amaçlanmıştır. Araştırma kapsamında, farklı bileşimlerde hazırlanmış olan hidrojellerde başlangıç maddesi miktarı, pH ve sıcaklık gibi parametrelerin etkisi incelenmiştir. Elde edilen hibrit hidrojel; FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi), SEM (Taramalı Elektron Mikroskopu), TGA (Termogravimetrik Analiz), şişme davranışı, in vitro bozunma, ve antimikrobiyal aktiviteler açısından değerlendirilmiştir.

1.1 Çalışmanın Amacı

Bu tezin amacı, bireysel olarak kullanıldıklarında bazı kararsızlık sorunları gösteren ancak sahip oldukları üstün biyolojik ve fizikokimyasal özellikler sayesinde dikkat çeken meyan kökü ve CS gibi doğal polisakkaritlerin, birbirlerinin zayıf yönlerini dengeleyerek üstün bir etki oluşturduğu, daha kararlı ve fonksiyonel bir hidrojel yapısı geliştirmektir. Çalışmada, bu iki bileşiğin kombinasyonu yoluyla sentezlenecek yeni nesil hidrojellerin hem taşıyıcılık kapasiteleri hem de yapısal kararlılıkları açısından iyileştirilmesi hedeflenmiştir. Sentezlenen bu hibrit hidrojellerin, gıda güvenliği, kozmetik formülasyonlar ve farmasötik uygulamalarda kullanılabilecek, biyouyumluluğu yüksek ve kontrollü salım özelliklerine sahip etkili taşıyıcı sistemler olarak değerlendirilebilirliği kapsamlı bir şekilde incelenecek; yapısal, termal, morfolojik ve fonksiyonel karakterizasyonları çeşitli analitik yöntemlerle gerçekleştirilecektir. Bu sayede, doğal kaynaklı, sürdürülebilir ve çok yönlü kullanıma uygun bir hidrojel platformu geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

CS ve meyan kökü ekstresi gibi doğal polimerlerden elde edilen hidrojel, biyobozunurlukları ve biyouyumlulukları sebebiyle gıda, kozmetik ve tıbbi uygulamalardaki potansiyelleri sayesinde giderek artan bir ilgi görmektedir. Ancak bu iki bileşik tek başına kullanıldığında bazı sınırlamalara sahiptir; CS mekanik olarak zayıf ve pH'a duyarlı olabilirken, meyan kökü yapısal kararlılık açısından yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle, son çalışmalar bu iki materyalin kombinasyonu ile daha güçlü ve işlevsel hibrit hidrojellerin sentezine odaklanmıştır. Bu iki polisakkarit yapıdan hidrojel sentezinde genellikle, CS hafif asidik bir çözeltide çözülerek meyan kökü polisakkariti ve/veya etken bileşenleriyle karıştırılır. Bu işlemi takiben doğal ya da sentetik çapraz bağlayıcılar kullanılarak jel oluşturulur ve ısı işlem veya dondurma-çözme döngüsüyle yapısal güçlendirme sağlanır. Bu hidrojel FTIR ve SEM gibi yöntemlerle

kimyasal yapı ve morfolojik özellikler açısından karakterize edilir. Genellikle elde edilen hidrojeller yüksek elastikiyet, su tutma kapasitesi ve kontrollü salım gibi gelişmiş özellikler sergiler. Mevcut çalışmalar çoğunlukla yara iyileşmesi ve antimikrobiyal etkiler üzerine yoğunlaşmış olsa da bu iki bileşiğin birlikte hem biyolojik aktivite hem de uzun vadeli yapısal bütünlük sağlayacak şekilde optimize edildiği çalışmalar sınırlıdır. Bu bağlamda, bu projede CS ve meyan kökünün tamamlayıcı özelliklerinden yararlanarak daha kararlı, çok işlevli ve sürdürülebilir bir hidrojel geliştirilerek çeşitli alanlarda kullanılabilecek yenilikçi bir çözüm sunarak; çevre dostu malzeme geliştirme alanına bilimsel bir katkı sağlayacaktır.





2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hidrojeller ve Hidrojellerin Özellikler

Hidrojeller, yüksek miktarda suyu bünyesinde tutabilen ve üç boyutlu yapısıyla dikkat çeken özel polimer sistemleridir. Genellikle doğal veya sentetik polimerlerden elde edilen bu yapılar, esnek, yumuşak ve gözenekli bir dokuya sahiptir. Jellerden farkı, çok daha fazla su emme kapasitesine sahip olmalarıdır. Kullanıldıkları polimer türüne ve üretim yöntemine göre mekanik dayanıklılıkları, şişme özellikleri ve biyolojik uyumlulukları değişebilmektedir. Bu nedenle hidrojeller; ilaç salımı, yara iyileştirme, gıda katkıları ve kozmetik ürünlerde taşıyıcı sistem olarak geniş bir kullanım alanı bulmaktadır [1].

Hidrojellerin en önemli üç özelliği, su depolama yeteneği, biyolojik olarak parçalanabilirliği ve biyouyumluluğudur. Hidrojellerin yapısında bulunan polar hidrofilik gruplar su ile temasa geçtiklerinde öncelikle su ile birleşirler ve ardından su molekülleri ile bağ oluştururlar. Sonuç olarak ağ genişleyerek su molekülleri ile etkileşime girebilen hidrofobik grupları açığa çıkarmaktadır [3].

Ağ zincirlerinin sonsuz seyrilmeye doğru ozmotik hareketi nedeniyle, hidrojel ağı suyu emmeye devam ederek, kovalent veya fiziksel çapraz bağlar oluşturmaktadır. Bu sayede ek şişmeye karşı çıkarak, elastik bir ağ geri çekme kuvvetine neden olarak yapının dağılmasını engellemektedir. Bu geri çekme kuvveti ile hidrojel denge şişme seviyesine ulaşır ve bu seviye minimum kuru ağırlığının %20'si maksimum binlerce katına kadar ulaşabilmektedir. Hidrojin yapısına ve bileşimine bağlı olarak, ağ zinciri ve çapraz bağlar şişme sırasında bozulması durumunda hidrojin parçalanması ve çözünmesi gerçekleşmektedir [2].

Biyouyumluluk, çevreye veya ortama herhangi bir tehlikeli yan ürün vermeden bozulabilirlik anlamına gelmektedir. Son yıllarda doğal polimerlerle sentezlenen hidrojeller bu özelliği önemli ölçüde karşılamaktadır [4].

Diğer önemli bir özellik hidrojellerin gözenekliliğidir. Bu gözenekler sentez sırasında sentez yöntemine bağlı olarak veya başlangıç malzemesinin yapısında halihazırda mevcut olan küçük boşluklar olarak meydana gelmektedir. Bu gözeneklerin ortalama boyutu, gözeneklerin boyut dağılımı ve gözenek ara bağlantıları gibi parametreler, hidrojellerin birçok özelliğini etkilemektedir. Hidrojel polimer ağının bileşimi ve çapraz bağ yoğunluğu gözeneklilik üzerinde en büyük etkiye sahiptir [5].

2.2. Hidrojellerin Sınıflandırılması

Polimerik hidrojeller, sahip oldukları yapısal ve kimyasal özelliklere bağlı olarak farklı sınıflandırma kriterlerine göre sekiz ana gruba ayrılmaktadır. Bu sınıflandırmalar; hazırlama yöntemleri, iyonik özellikleri, fiziksel yapıları ve çapraz bağlanma düzeyleri gibi birçok faktöre dayanmaktadır. Bununla birlikte, birçok hidrojel birden fazla sınıfa aynı anda dahil olabilmektedir. Bu çok yönlü sınıflandırma, hidrojellerin fonksiyonel özelliklerinin ve kullanım alanlarının daha iyi anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Aşağıda, hidrojellerin sınıflandırıldığı başlıca gruplar yer almaktadır:

- I) *Hazırlama yöntemine göre:* Sentez sürecinde uygulanan kimyasal ve fiziksel işlemlere göre sınıflandırmadır.
- II) *İçerdikleri yan gruplara göre:* Polimer zincirlerinde bulunan fonksiyonel grupların türüne göre sınıflandırmadır.
- III) *Fiziksel yapılarına göre:* Amorf, kristalin ya da yarı kristalin gibi fiziksel yapı farklılıklarına göre sınıflandırmadır.
- IV) *Çapraz bağlanma durumlarına göre:* Fiziksel (zayıf bağlar) ya da kimyasal (kovalent bağlar) çapraz bağların varlığına göre sınıflandırılmasıdır.
- V) *Kaynaklarına göre:* Doğal (CS, jelatin gibi) veya sentetik (poliakrilamid, polivinil alkol gibi) polimerlerden türetilmesine göre sınıflandırılmasıdır.
- VI) *Su absorplama yeteneklerine göre:* Su tutma kapasiteleri ve şişme davranışları temel alınarak sınıflandırılmasıdır.
- VII) *Kimyasal kararlılıklarına göre:* Çevresel faktörlere (pH, sıcaklık, enzimler vs.) karşı gösterdikleri dayanıklılığa göre sınıflandırmadır.
- VIII) *Dış Ortam Koşullarına Göre:* Hidrojeller çevresel koşullara (pH, sıcaklık, enzimler vs.) karşı verebileceği yanıt veya hacimsel değişimlere göre değerlendirerek sınıflandırılmasıdır.

Bu sekiz temel gruplandırma, polimerik hidrojellerin tasarımı, uygulanabilirliği ve fonksiyonel performansının belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

2.2.1. Hazırlama yöntemine göre hidrojeller

Hazırlama yöntemlerine göre hidrojeller homopolimer, kopolimer, çoklu polimer ve IPN hidrojeller olmak üzere 4 başlık altında incelenmektedir.

- I. *Homopolimer hidrojel*: bir tip hidrofilik monomer diziden oluşmaktadır. Homopolimer hidrojel, tek bir monomerden yapılmış çapraz bağlı polimer ağıdır. Polietilen glikol, aljinat, CS ve ulvan gibi polimerik yapıda çeşitli başlangıç modeller kullanılarak sentezlenmektedir. Homopolimer hidrojel genellikle adsorpsiyon, ilaç ve biyomedikal alanda kullanılmaktadır.
- II. *Kopolimer hidrojel*: Kopolimer hidrojel, biri hidrofilik olan iki tip monomerin birlikte kullanılması ile sentezlenmektedir. Başlangıç maddelerinin çeşitli oranlarda kullanılarak, polimerizasyon veya çapraz bağlanma yoluyla kimyasal olarak sentezlenebilirler. Örnek olarak karboksimetilselüloz ve CS başlangıç maddeleri kullanılarak elde edilen hidrojel verilebilir.
- III. *Çoklu polimer hidrojel*: Üç veya daha fazla monomerin polimerizasyonu ve çapraz bağlanma reaksiyonları ile oluşan hidrojeldir [4].
- IV. *IPN (interpenetrating networks) hidrojel*: Polimerlerin arasında herhangi bir kimyasal bağ bulunmayan, iç içe geçmiş iki polimer ağından oluşur. Birinci polimerin ağı doğrusal, ikinci polimerin ağı ise çapraz olarak bağlıdır. Birinci polimerin ağı ikinci polimerin ağına yayılır. Bu tip hidrojelere örnek olarak akrilamid/akrilik asit hidrojel verilebilir [4].

2.2.2. İçerdikleri yan gruplarına göre hidrojel

İçerdikleri yan gruplarına göre hidrojel nötral, iyonik, anyonik, katyonik ve poliamfolitik hidrojel olmak üzere 5 başlık altında incelenmektedir.

- I. *Nötral (iyonik olmayan) hidrojel*: zincirinde yüklü grup bulundurmeyen hidrojel nötr hidrojel denir.
- II. *İyonik hidrojel*: İyonik hidrojel katyonik veya anyonik olabilir. Pozitif yüklü gruplara (örneğin aminler ve sülfonik asit) sahip olan hidrojel katyonik, negatif yüklü gruplara (karboksilik asit, sülfonik asit) sahip olan hidrojel anyonik hidrojel denilmektedir. Her iki tip polimer de farklı pH değerlerinde farklı etki ve şişme değeri gösterebilmektedir [4].
- III. *Anyonik (negatif yüklü) hidrojel*: negatif yüklü monomerler veya anyonik ve nötr monomerler anyonik hidrojel oluşturur. Bulundukları çevrenin pH'ı, nasıl davranacaklarını etkiler ve genelde yüksek pH'ta şişmede bir artış gösterir. Anyonik

hidrojel üretimi genellikle Akrilik asit, krotonik asit ve itakonik asit gibi monomerlerin kullanımını içermektedir [2].

- IV. *Katyonik (pozitif yüklü) hidrojeller*: katyonik monomerler, pozitif yüklü bazik homopolimerler ya da katyonik ve nötr monomerlerin birlikte oluşturduğu kopolimerinden oluşurlar. Katyonik hidrojeller düşük pH'ta şişmede bir artış göstermektedir. Aminoetil metakrilat monomerlerinden yapılan hidrojellerin bu sınıfa bir örnektir [2].
- V. *Poliamfolitik hidrojeller*: ya da amfolitik hidrojeller, izoelektrik noktada dengelenen aynı polimer zinciri üzerinde pozitif ve negatif yük taşıyan hidrojellerdir [4].

2.2.3. Fiziksel yapılarına göre hidrojeller

Fiziksel yapılarına göre hidrojeller 2 ana sınıfa ayırarak incelenmektedir. Bunlar amorf hidrojeller ve yarı kristalin hidrojellerdir.

- I. *Amorf hidrojeller*: Amorf hidrojellerde polimerik ağ, kristal olmayan, rastgele düzenlenmiş makromoleküler zincirler içermektedir.
- II. *Yarı- kristalin hidrojeller*: organize makromoleküler zincirlerin yoğun bölgelerine sahip, amorf ve kristal, iki fazlardan oluşan karmaşık bir yapıya sahip olan hidrojellerdir [4].

2.2.4. Çapraz bağlanmasına göre hidrojeller

Çapraz bağlanma durumlarına göre hidrojeller fiziksel ve kimyasal olarak çapraz bağlanan hidrojeller olmak üzere iki sınıfta incelenmektedir.

- I. *Fiziksel çapraz bağlanan hidrojeller*: Ağlar, ikincil kuvvetlerin etkisiyle iyonik veya hidrojen bağı gibi kuvvetlerle birbirine bağlandığında "fiziksel" hidrojeller olarak adlandırılırlar. Tüm bu etkileşimler tersine çevrilebilir ve fiziksel stres altında bozulabilirler.
- II. *Kimyasal çapraz bağlanan hidrojeller*: Kalıcı ve kimyasal bağlarla oluşan hidrojeller kimyasal hidrojeller olarak adlandırılmaktadır. Kovalent olarak çapraz bağlı ağlardan oluşmaktadır, bu bağlarda hidrojen bağlarından daha güçlü ve karardır. Yüksek büyüme veya şişme dengesine ulaşırlar, bu denge polimer-su etkileşimi parametresine ve çapraz bağ yoğunluğuna bağlıdır [6].

2.2.5. Kaynaklarına Göre Hidrojeller

Hidrojeller hem doğal hem de sentetik kaynakları kullanarak elde edilmektedir [6].

- I. *Doğal hidrojeller:* doğal polisakkaritlerden ve doğal monomerlerden oluşan hidrojellerdir.
- II. *Sentetik hidrojeller:* yapay olarak üretilmiş veya doğal kaynaklı “olmayan polimerler ve monomerleri kullanarak elde edilen hidrojellerdir.

2.2.6. Su absorplama yeteneklerine göre hidrojeller

Hidrojenlerin farklı özellikleri nedeniyle değişen oranlarda suyu absorplayabilmektedir. Hidrojeller, su absorplama yeteneklerine göre 4 sınıf altında incelenmektedir ve bunlar düşük, orta, yüksek ve süper-absorbant hidrojellerdir [6].

- I. *Düşük şişme dereceli hidrojeller:* kütlelerinin %20-50’si kadar su absorplayabilen hidrojellerdir.
- II. *Orta şişme dereceli hidrojeller:* kütlelerinin %50-90’ına kadar su absorplayabilen hidrojellerdir.
- III. *Yüksek şişme dereceli hidrojeller:* kütlelerinin %90-99,5’ine kadar su absorplayabilen hidrojellerdir.
- IV. *Süper-absorbant hidrojeller:* kütlelerinin %99’undan fazla su absorplayabilen hidrojellerdir.

2.2.7. Kimyasal kararlılıklarına göre hidrojeller

Hidrojellerin farklı kararlılık özelliklerine göre, çevreye, doğaya ve bulunduğu koşullara nasıl etki gösterdiğine bağlı olarak 2 grup altında sınıflandırılmaktadır. Bunlar biyobozunur ve biyobozunur olmayan hidrojeller olarak isimlendirilmektedir [2].

- I. *Biyobozunur hidrojeller:* biyoyumluğu yüksek olan, çevreye zarar vermeden bozulan ya da basit çevre koşullarında bozulabilen hidrojellerdir.
- II. *Biobozunur olmayan hidrojeller:* biyoyumluğu düşük olan, çevrede bozulursa çevreye zarar verebilen ya da çevre koşullarıyla bozulmayan hidrojellerdir.

2.2.8. Dış ortam koşullarına göre hidrojeller

Hidrojeller, çevresel koşullara yanıt verebilecek şekilde özel olarak tasarlanabilir ve bulundukları ortamın fiziksel veya kimyasal özelliklerine bağlı olarak hacimsel değişimlere uğrayabilmekteler. Sıcaklık, ışık, elektrik ve manyetik alanlar, ses dalgaları gibi fiziksel uyarıcıların yanı sıra; pH seviyesi, iyonik yoğunluk, çözücü türü ve belirli moleküllerin varlığı gibi kimyasal uyarıcılara da tepki verebilmektedir [7].

- I. *Ph'a duyarlı hidrojeller:* Hidrojellerin polimer zincirlerine asidik veya bazik fonksiyonel grupların entegre edilmesiyle sentezlenmektedir. Polielektrolit yapıya sahip bu hidrojeller, pH değişimine bağlı olarak şişme-büzülme davranışı göstermektedirler. Bunun yanı sıra, iyonlaşma derecesi hidrofilik-hidrofobik dengeyi ve fiziksel özellikleri etkilemektedir. Bu nedenle, özellikle mide-bağırsak sisteminde ilaç salımı gibi biyomedikal uygulamalarda önemli bir potansiyele sahiptir [7].
- II. *Isıya duyarlı hidrojeller:* Isıya duyarlı hidrojeller, belirli bir sıcaklık eşiğinde hacim değişimi gösteren polimerlerdir. Kritik çözünme sıcaklığı (CST) noktasında polimer-su etkileşimi değişir; CST'nin altında suyu emerken, üzerinde büzülerek hacmini küçültür. Bu özellikleri sayesinde, kontrollü ilaç salımı ve biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır [7].

2.3. Hidrojellerin Uygulama Alanları

İlk kez 1894 yılında kullanılmaya başlanan hidrojeller, o zamandan beri biyomedikal uygulamalar da dahil olmak üzere çeşitli sektörlerde kullanılmaktadır. 1936 yılından günümüze birçok alan hidrojellerden yararlanmaktadır.

Hidrojeller, ayırma teknolojisi, ilaç salınımı, bahçecilik, biyomedikal ve farmasötik uygulamalar dahil olmak üzere çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır [4]. Aşağıdaki bölümde hidrojellerin çeşitli uygulama alanlarından bahsedilmiştir.

2.3.1. Biyomedikal alanlarda

Ağırlıklı olarak doku mühendisliği, farmasötik ve biyomedikal alanlarda birçok sentetik ve doğal polimerlerin hidrojelleri, yüksek su emme kapasiteleri, gözenekli ve yumuşak yapıları, kimyasal ve fiziksel özellikleri taklit edebilme yetenekleri ve biyouyumlulukları nedeniyle kullanılmaktadırlar [8]. Yara pansumanlarında, ilaç salınımının yanı sıra, dişçilik malzemeleri, implantlar, enjekte edilebilir polimerik sistemler, yapay ve hibrit tıp organlarında günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır [8]. İlaç taşıyıcı sistemlerde hidrojeller şişme davranışları ve gözenekli

yapıları sebebiyle, ilacın çözünürlüğünü artırarak ve ilacın parçalanmasını ve toksisitesini sınırlayarak ilaç salınım hızını olumlu yönde etkilemektedir [9].

2.3.2. Yara iyileştirme uygulamaları

Yara pansumanı, yaraları tedavi etmek için kullanılan önemli bir farmasötik üründür. Bez ve pamuk yünü gibi geleneksel yara pansumanlarının bazı dezavantajları bulunmaktadır. Örneğin, korumasız ve enfeksiyon riski büyük olan yaranın zayıf bir bariyer ile kapatılması yaranın enfeksiyon riskini arttırmaktadır [10].

Çözümlerden biri, geleneksel pansumanın yerine geliştirilmiş hidrojel pansumanların kullanılmasıdır. Günümüzde, hidrojel bazlı yara örtüleri, yara iyileşmesi için umut verici, akıllı malzeme olarak sayılmaktadır [11].

Geleneksel malzemelerle karşılaştırıldığında, hidrojel pansumanlar ağrıyı hafifletebilir, yaraları nemli tutabilir, bakterileri engelleyebilir veya öldürebilir, böylelikle yara iyileşmesini hızlandırabilirler. Ayrıca ilaç yüklü hidrojeller, diyabetik ayak ülserleri ve diğer kronik ülserler gibi dirençli yaraların tedavisinde yeni yollar açmış, hayvan yara örtüleri de hayvansal yaralarda etkileyici iyileşme göstererek, umut verici ve klinik potansiyelli bir çözüm olarak ortaya koyulmuştur [10].

Hidrojellerin yenilikçi bir uygulamasına örnek olarak, cerrahi ve yara bakımı amaçları için tasarlanmış olan Janus hidrojelleridir. Bu hidrojeller çift işlevli bir yapıya sahiptir. Bir taraf ıslak dokulara güçlü bir şekilde yapışarak nemli biyolojik ortamlarda hızlı ve kararlı bir bağlanma sağlarken, diğer taraf istenmeyen doku yapışmasını önlemektedir. Yapışkan yüzey, dokuyla kimyasal ve hidrojen bağları oluşturarak hemostazı ve yara kapanmasını desteklerken, yapışkan olmayan katman bir hidrasyon bariyeri oluşturarak ameliyat sonrası yapışıklıklara karşı koymaktadır. Bu kapsamda Janus hidrojelleri biyouyumluluk, biyolojik parçalanabilirlik ve mekanik stabiliteyi korurken ameliyattan sonra abdominal yapışıklıkları önlemede büyük bir etki göstermektedir [12].

2.3.3. Doku mühendisliğindeki uygulamalar

Hidrojeller doku mühendisliğinde, özellikle in-vivo doku rejenerasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Hastanın kendi hücrelerinin, doğal hücre dışı matris görevi gören polimerle birleştirilmesi, hücre çoğalmasını ve doku yeniden büyümesini teşvik eder. Büyüme faktörleri ve metabolitlerden oluşan psödo-hücre dışı matris gibi hidrojeller, doku yapısını düzenler ve kaybolan veya hasar gören doğal dokunun yenilenmesine yardımcı olmaktadır [5].

2.3.4. Yumuşak kontakt lensler

Oküler yüzeyin genel eğrilğine uyum sağlama yetenekleri ve atmosferik oksijenin korneaya ulaşmasına izin verme kapasiteleri nedeniyle, yumuşak kontakt lensler hidrojellerin en sık kullanılan uygulamalarından biridir.

Su içeriğini artırmak ve mekanik özelliklerini iyileştirmek için son zamanlarda bir dizi hidrojel kontakt lens malzemesi geliştirilmiştir. Bu maddeler yüksek oksijen geçirgenliğine sahiptir ve göz kapağının kuvvetine dayanabilmektedir [4].

2.3.5. Kozmetik endüstrisinde

Hidrojellerin kozmetik endüstrisine sunduğu ürünlerin amacı ve çeşitliliği son yıllarda artarak çoğalmaktadır. Bunun nedeni ise, tıbbi cihazlar, ilaçlar veya biyomoleküller için prosedürlerin ve onay almanın çok uzun zaman alması, kozmetik ürünleri onaylamak için daha az zaman gerekmesidir.

Böylelikle kozmetik sektöründe pazara yeni ürün sunmak daha kolaydır. Kozmetik onayda en önemli faktör Birincil Tahriş İndeksi (PII)'dir. Bu alanda kullanılan doğal hidrojeller, hücre kültürü ve diğer biyomedikal uygulamalarda kullanılabilmeleri nedeniyle en düşük PII indeksine sahip olduğu kabul edilir.

Şirketler, nispeten düşük bir yatırım karşılığında "güzellik maskeleri" gibi hidrojellere dayalı yeni kozmetik ürünleri piyasaya sürebilmektedir. Kırışıklıkları tedavi etmek ve cildi aydınlatmak için iyi bilinen arbutin, adenosin ve niasinamid gibi kozmetik ilaçların salınması için (PMAA-ko-EGMA) adı verilen pH'ın duyarlı bir hidrojel malzeme geliştirilmiştir. Hidrojellerin geçirgenliği, pH değişikliklerine duyarlı olarak tasarlanabilmektedir. Hidrojeller genellikle pH 4.0'te farmasötikleri ve ilaç etken maddelerini matris içinde tutarken; cilt ile temas ettiğinde ya da pH 6 ve üzerinde geçirgenliği artmakta ve matrisindeki ilaçları salınmaktadır [5].

2.3.6. Boyaların ve ağır metal iyonlarının giderilmesinde

Hidrojeller şişme kapasitelerinden dolayı boyalar ve biyomoleküller gibi suda çözünebilen kirleticiler için etkili adsorbanlar olarak da kullanabilen umut vaat eden malzemelerdir. Endüstriyel proseslerden kaynaklanan atık ve sulardaki ağır metal kirliliği, halk sağlığı ve ekolojik sistemler için önemli tehditler oluşturmaktadır [13].

Bu sebeple ağır metal iyonlarının su kaynaklarından uzaklaştırılması bilimsel ve pratik açıdan büyük önem taşımaktadır. Ağır metal toksisitesini sulu ortamdan uzaklaştırmak için genellikle sentetik çapraz bağlı poliakrilat hidrojel kullanılmaktadır. Karboksil, sülfonik ve nitrojen gruplarına sahip hidrojel gibi hidrojel adsorbanları, ağır metallerin uzaklaştırılmasında, boyaların geri kazanılmasında ve atık sulardan toksik bileşenlerin uzaklaştırılmasında da kullanılmaktadır. Yüzeylerinde hem katyonik hem de anyonik yük bulunan hidrojellerin, yüksek miktarda metilen mavisi absorplayarak mükemmel boya adsorban malzemeleri olduğu bulunmuştur. Ağır metal iyonlarını sulu ortamdan uzaklaştırmak için CS, aljinat, nişasta ve selüloz türevli biyopolimer bazlı hidrojel günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır [13].

2.3.7. Gıda Ambalajı ve paketleme alanında

Gıda ambalajında biyopolimerlerin çevresel faydalarından yararlanmak için dünya çapındaki araştırma ekipleri ve işletmeler çevre dostu ambalaj çözümleri üzerinde yoğun çalışmalar yapmaktadır. Biyokütleden, mikroorganizmalardan ve klasik kimyasal sentezlerden türetilen biyopolimerler kullanılarak gıda ambalajlama uygulamalarına yönelik yeni yapılar geliştirilmiştir.

Ancak yüksek fiyatları, zayıf suya dayanıklılıkları ve düşük mukavemetleri nedeniyle biyopolimerler her zaman ve koşulda kullanılmamaktadır. Hidrojeller, istenen özelliklere sahip etkili biyopolimerlerle oluşturarak yeni ambalaj malzemeleri geliştirilebilir. Bu hidrojellerin sahip olabileceği özellikler, biyopolimerlerin özelliklerine benzer olabilir ve aynı etkiler gösterebilir [14]. Yüksek molekül ağırlıklı esnek proteinler, biyopolimer konformasyonundaki değişikliklere uyum sağlayabildiğinden, protein-polisakkarit çiftleri oluşturmak ambalajlama alanında en uygun olanlardır. Hidrojeller, daha iyi paketleme, antibakteriyel paketleme, ürün durumunun izlenmesi, artırılmış raf ömrü ve oksidasyona karşı koruma için kullanılabileceklerinden dolayı gıda paketleme için büyük umut vaat etmektedir [15].

2.4. Hidrojellerin Üretim Yöntemleri

Hidrojeller, çözelti dökümü, çözelti karıştırma, toplu polimerizasyon, serbest radikal polimerizasyon, radyasyon yöntemleri ve iç içe geçen ağ (IPN) oluşumu gibi çeşitli teknikler kullanılarak fiziksel, kimyasal veya hibrit bağlama mekanizmalarıyla sentezlenebilmektedir [12]. Hidrojeller genellikle hidrofilik polimerlerin kimyasal ve/veya fiziksel çapraz bağlanmasıyla oluşturulur. Hidrojinin ortaya çıkan fizikokimyasal özellikleri (şişme davranışı, mekanik mukavemet ve gözeneklilik gibi) çapraz bağlama türü (kimyasal veya fiziksel) ve

polimer ağındaki çapraz bağların yoğunluğundan büyük ölçüde etkilenir. Ek olarak, polimerlerin moleküler ağırlığı ve kimyasal bileşimi gibi faktörler hidrojinin genel yapısını ve performansını belirlemede kritik bir rol oynamaktadır [16].

Hidrojeller, toplu, çözelti veya süspansiyon polimerizasyonu gibi çeşitli polimerizasyon teknikleri kullanılarak doğal veya sentetik polimerlerden yapılan üç boyutlu polimer ağlarıdır ve bu ağlar fiziksel veya kimyasal çapraz bağlama yoluyla oluşturulabilmektedir. Fiziksel çapraz bağlama, kimyasal maddelere ihtiyaç duyulmadan hidrojen bağı, stereo-kompleksleşme veya kendi kendine birleşmeye dayanır. Öte yandan kimyasal çapraz bağlama, polimer zincirleri arasında kovalent bağlar oluşturan çapraz bağlama maddelerinin kullanımını içerir ve daha iyi mekanik mukavemete sahip hidrojeller ile sonuçlanmaktadır [17].

2.4.1. Fiziksel Çapraz Bağlanma

Bu yöntemle sentezlenen hidrojelleri, hidrojen bağı, iyonik veya hidrofobik etkileşimler gibi geri dönüşümlü, kovalent olmayan etkileşimler yoluyla oluşan hidrojellerdir. Kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojellerin aksine, jel oluşumu için kimyasal maddelere ihtiyaç duymazlar, bu da özellikle biyomedikal uygulamalar için üretilmelerini daha kolay ve güvenli hale getirmektedir. Yapıları pH, sıcaklık ve iyonik güç gibi çevresel koşullara duyarlıdır ve bu da tepki olarak şişmelerine, büzölmelerine veya çözünmelerine olanak tanır. Biyouyumluluk ve tepki verme özelliğine sahip olmalarına rağmen, fiziksel hidrojeller genellikle kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojelleri kıyasla daha düşük mekanik mukavemete ve kararlılığa sahiptir [18].

2.4.1.1. Polimer Çözeltisinin ısıtılması ve soğutulması

Kolojen veya karajenanın gibi polimerlerin sıcak çözeltileri soğutulduğunda fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojeller oluşabilmektedir. Burada Jel oluşumu, heliks oluşumu, helikslerin birleşmesi ve bağlantı bölgelerinin oluşması nedeniyle meydana gelmektedir. Tuzların eklenmesiyle (K^+ veya Na^+ gibi) sıcak çözeltisinde oluşan heliksler sülfonik gruplar (SO_3^-) arasındaki itmeyi azaltarak daha kolay birbirine yapışır ve kararlı hidrojeller oluşturur. Bazı durumlarda, hidrojel, blok kopolimerizasyonuna neden olan polimer çözeltilerinin ısıtılmasıyla da elde edilebilmektedir [3].

2.4.1.2 İyonik çapraz bağlama yöntemi

İyonik çapraz bağlama, kalsiyum (Ca^{2+}) gibi iki veya üç değerlikli iyonlar ekleyerek hidrojeller oluşturmak için yaygın bir yöntemdir. Bu yöntemde, bir polielektrolit çözeltisinin zıt yüklü iki veya üç değerlikli bir iyonla jel haline getirilmesi ile hidrojeller oluşturur [13].

2.4.1.3. Kompleks yığılması

Bu tür fiziksel çapraz bağlanma hidrojel, bir polianyonun bir polikasyonla karıştırılmasıyla Kompleks Yığılması veya Kompleks Koaservat uğrayarak oluşturulan hidrojellerdir. Bu yöntemin temel prensibi, zıt yüklü polimer zincirlerin birbirine yapışması ve kompleks bir şekilde iç içe yığılmasıdır. Kullanılan çözeltilerin konsantrasyonuna ve pH'ına bağlı olarak çözünür çözünmez kompleksler oluşturabilmektedirler [3].

2.4.1.4. Termal olgunlaştırma (Isı etkisi ile kümelenme)

Termal olgunlaşma (ısı kaynaklı agregasyon veya kümelenme), özellikle akasya zambkı gibi doğal polimerlere dayalı hidrojellerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu işlemde, ısıya maruz kalma, polimerin protein içeren bölgelerinin açılmasına ve agregatlaşmasına neden olur ve bu da moleküler ağırlıkta bir artışa yol açar. Bu değişim, iyileştirilmiş mekanik mukavemete ve daha fazla su tutma kapasitesine sahip kararlı bir hidrojel ağının oluşumunu artırır. Yöntem, proteinlerin ve polisakkaritlerin bir arada bulunduğu sistemlerde özellikle etkilidir çünkü ısı altında etkileşimleri daha sağlam jel yapılarının gelişimini destekler [3].

2.4.1.5. Dondurarak çözme

Dondurarak çözme işlemi, polimer ağının içinde mikrokristalin bölgelerin olduğu bir polimer çözeltisinin tekrar tekrar dondurulmasını ve çözülmesini içermektedir. Bu kristalin bölgeleri, jel yapısını stabilize ederek fiziksel çapraz bağlama noktaları görevini görür. Bu teknik, birkaç dondurarak çözme döngüsünden sonra güçlü, elastik hidrojel oluşturabilen polivinil alkol (PVA) ve ksantan zambkı gibi polimerler için özellikle etkilidir [3].

2.4.1.6. Hidrojen bağları

Hidrojen bağlı hidrojel, karboksil grupları içeren polimerler içeren sulu çözeltilerin pH'ını düşürerek hidrojen bağları oluşturarak jelleşen hidrojellerdir [3].

2.4.2. Kimyasal çapraz bağlanma

Kimyasal çapraz bağlama, monomerleri polimere aşlamayı veya polimer zincirlerini bağlamak için çapraz bağlama ajanları kullanmayı içermektedir.

Bu yöntemde çapraz bağlayıcılar, polimer zincirleri arasında kovalent bağlar oluşturmak için polimerlerdeki fonksiyonel gruplarla (hidroksil (OH), karboksil (COOH) ve amin (NH₂) grupları gibi) reaksiyona giren ve kararlı, çapraz bağlı bir ağ yapısına sahip hidrojel elde

edilmektedir. Kimyasal olarak çapraz bağlı, kalıcı hidrojeller üretmek için çeşitli yöntemler mevcuttur; bunlar arasında bir monomerin başka bir katı polimer matrisi içinde polimerize olduğu iç içe geçen polimer ağları (IPN'ler) ve hidroliz veya oksidasyon yoluyla polar hidrofilik grupları dahil etmeyi ve ardından kovalent çapraz bağlamayı içeren hidrofobik etkileşimler bulunmaktadır [3].

2.4.2.1. Kimyasal çapraz bağlayıcılar

Burada çapraz bağlayıcılar, çeşitli doğal ve sentetik polimerlerden kimyasal çapraz bağlı hidrojel ağları oluşturmak için kullanılır. Bu teknik, kararlı çapraz bağlı yapılar oluşturmak için polimer zincirleri arasına yeni moleküller dahil edilmesine dayanmaktadır. Örneğin, mısır nişastası ve polivinil alkolün glutaraldehit ile çapraz bağlanmasıyla hazırlanan hidrojeller, iyileştirici faktörler sağlayabilen yapay deri olarak potansiyel uygulamalara sahiptir [3].

2.4.2.2. Aşılama

Aşılama, önceden oluşturulmuş bir polimerin zinciri üzerine yerleştirilmiş bir monomerin polimerleşmesine dayanmaktadır. Bu, polimer zincirleri kimyasallar veya yüksek enerjili radyasyon kullanılarak aktive edildikten sonra gerçekleşir. Daha sonra aktive edilen zincirler, dallar ve sonunda zincirler arasında çapraz bağlantılar oluşturan monomerleri bağlayarak büyüyerek yüksek kararlılığına sahip hidrojelleri oluşturmaktadır [3].

Aşılamanın iki türü vardır: Birincisi kimyasal reaktiflerin kullanıldığı aşılama, ikincisi ise gama veya elektron ışınları gibi yüksek enerjili radyasyonların kullanıldığı aşılama. Kimyasal aşılama, ana polimer zincirinin bir kimyasal reaktif kullanılarak aktive edilmesi ile başlamaktadır. Örneğin, N-vinil-2-pirolidon kullanılarak akrilik asitle aşılansız nişasta yaygın bir durumdur. Bu şekilde yapılan hidrojeller pH'a bağlı olarak şişerler ve ilaç salınımı için ideal özelliklere sahiptirler. Işıma ile aşılama ise, gama ışınları veya elektron ışınları gibi yüksek enerjili radyasyon kullanılarak yapılmaktadır [3].

Bu çalışmada, CaCl_2 ve NaOH çapraz bağlayıcı madde yardımıyla fiziksel çapraz bağlama yöntemi kullanılarak hidrojeller sentezlemeye yönelik çalışmalar yapılmıştır.

2.5. Polisakkarit Hidrojeller

Polisakkaritler, çok çeşitli yapısal özelliklere sahip, doğal olarak oluşan, doğal kaynakları kullanarak elde edilen polimerlerin ayırt edici bir sınıfıdır. Polisakkaritler olağanüstü biyolojik özelliklerinden dolayı yenilenebilir biyomateryaller olarak kullanılabilir. Glikosidik bağlarla tutulan tekrarlanan monomerik birimlerin oluşturduğu uzun zincirli karbonhidrat

moleküllerinden oluşurlar. Farklı fizyolojik ve biyolojik özellikler taşımaktadır ve çeşitli uygulamalar için çok çeşitli yararlı uygulamalar sunmaktadır. Polisakkaritler genel olarak hayvanlardan, bitkilerden ve mikroorganizmalardan elde edilebilmektedirler.

OH, CONH₂, SO₃, NH₂ ve COOH gibi çeşitli fonksiyonel gruplara sahip uzun monosakkarit zincirlerinden oluşan polimerik karbonhidrat molekülleri, bu biyopolimerleri oluşturmaktadır. Günümüzde, selüloz, nişasta, kitin, CS, karragenan, aljinatlar, dekstran, pullulan ve pektin gibi doğal olarak bulunan polisakkaritler endüstriyel, tıbbi, farmasötik ve doku mühendisliği uygulamaları için kapsamlı olarak araştırılmaktadır.

Sentetik olarak geliştirilmiş biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen polimer hidrojel­ler biyomedikal uygulamalar için faydalı olmasına rağmen, polisakkaritler bol bulunabilirlikleri, toksik olmamaları, iyi biyoyumluluk ve biyolojik olarak parçalanabilirlikleri, modifikasyon ve hazırlama kolaylığı, düşük maliyetleri, yenilenebilir olma özellikleri ve fiziko-kimyasal özellikleri nedeniyle bu tür polimerlere olan ilgi her geçen gün artmaktadır [18]. Ayrıca çok işlevlidirler ve bu nedenle hidrojellerin hazırlanması için uygundur [19].

Bazı polisakkarit hidrojellerin kullanımı çok yaygın olup, mutfaklarımıza kadar girmiş bulunmaktadır. Mutfakta en yaygın kullanılan hidrojel­ler ise: Sodyum Aljinat, Ksantan Sakızı ve Akasya Sakızı'dır [4].

Polisakkaritlere, çapraz bağlama için fonksiyonel parçalar eklenebilmekte ve fiziksel ve kimyasal modifikasyon ile suda daha çözünür hale getirilebilmektedirler. Matris esnekliği nedeniyle polisakkarit kompozitler, hidrojellerin mekanik özelliklerini veya işlenebilirliğini geliştirebilirler. Polisakkarit bazlı hidrojel­ler, olağanüstü çapraz bağlanma noktasına ve bileşim ayarlanabilirliğine sahiptir; bu da onların kendi kendini iyileştirme, üstün güç, dikkate değer esneklik ve gelişmiş iyonik iletkenlik sunmalarına olanak sağlamaktadır [20].

Günümüzde sıkça kullanılan polisakkarit hidrojel­lere örnek aljinat, ulvan ve CS'dır. Bu polisakkaritler ile ilgili literatürde çeşitli alanlarda yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır.

Bu bölümde, çalışmada kullanılmak üzere seçilen kitosan ve meyan kökü polisakkaritlerin yapısal özellikleri, uygulama alanları ve üretim yöntemleri kapsamlı bir şekilde açıklanacaktır.

2.5.1. Kitosan hidrojel­ler

CS, kitinin alkali ortamda destilasyonun sonucundan elde edilen, lineer, $\beta(1-4)$ bağlı N-asetil-D- glukozamin ünitelerinden oluşan katyonik bir polisakkarittir. CS bol bulunurluğu,

biyoyumlu ve biyobozunur olması gibi birçok özelliği sayesinde yara iyileştirme, yapı iskeleti oluşturma ve ilaç salım sistemleri gibi geniş bir kullanım alanına sahiptir [21].

Kendiliğinden çapraz bağlanan CS hidrojel, zincirlerindeki metal iyonları ile $-OH$ ve $-NH_2$ grupları arasındaki koordinasyon kompleksleri oluşturarak, çoklu uyaranlara duyarlılığı arttıran hidrojellerin hazırlanması için uygun yapıdadır. CS bazlı hidrojel, tıbbi uygulamalar için toksik etki yaratmadan veya katkı maddelerine ihtiyaç duymadan kendi kendine çapraz bağlanabilmektedir. Nötralizasyon sırasında Van der Waals etkileşimleri ve hidrojen bağları tarafından indüklenen mikrokristalin fiziksel çapraz bağlanma nedeniyle NaOH veya NH_4OH gibi güçlü bazlarla pH'nın artmasıyla ($> 6,3$) hidrojel oluşturulabilmektedir [16]. Bu tez kapsamında Kitosanın kullanımının ana sebebi, doğal, biyoyumlu ve biyobozunur yapısının yanı sıra hidrojel matrisine hem yapısal dayanıklılık hem de işlevsel özellikler kazandırmasıdır.

Daha önce belirtildiği gibi, kitosan içerdiği amino grupları sayesinde antibakteriyel özellik gösterirken, diğer polisakkaritlerle kolaylıkla çapraz bağlar oluşturarak hidrojin mekanik özelliklerini güçlendirmektedir. Bu üstün özellikleri sayesinde, kitosanın hibrit hidrojel yapısına entegre edilmesi geliştirilen hidrojellerin işlevsel performansını ve tedavi edici potansiyelini artıracakı öngörülmektedir.

2.5.1.1. CS hidrojellerin kullanım alanları

CS hidrojel çevre, biyoteknoloji, ilaç ve gıda işleme endüstrileri gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Özellikle CS bazlı polimerler, kirletici maddeleri sulu çözeltilerden temizlemek için rutin olarak kullanılmaktadır ve sentetik iyon değişim reçineleri ve aktif karbonlar gibi geleneksel absorbanlara göre yüksek avantajlara sahip temizleme görevi görmektedirler [4].

Bunun yanı sıra bu hidrojel, seçici salım mekanizmaları ve biyokimyasal özellikleri nedeniyle deri altı, oral, oküler ve trans dermal uygulamalarda da yaygın olarak kullanılmaktadır. CS hidrojel, özellikle kırık, kemik ve sinir dokularının gelişiminde büyüme faktörü iyileştirmesinde potansiyel rol oynamaktadırlar. CS hidrojel bazlı ilaç salınımı için başka bir kullanım kemoterapotik alanıdır. Pek çok etkili anti-kanser ilacı oldukça toksik olduğundan ancak kanser hücrelerine karşı zayıf spesifik olduğundan kanser yönetiminde özellikle önemlidir.

Kemoterapotiklerin lokalize dağıtımı, yeni biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin ortaya çıkışıyla sistemik toksisiteyi azaltmanın bir yöntemi olarak ortaya çıkmıştır. Mikroküreler, mikrokapsüller veya jel sistemleri gibi geleneksel DDS'ler tipik olarak malzeme yükleme

kapasitesini sınırlayan pasif absorpsiyonla yüklenmektedir. CS bazlı hidrojel sistemleri bu alanda öne çıkmaktadır ve kontrollü kemoterapötik dağıtım için kullanılabilir [22].

Biyoyumluluğu, yüksek yük yoğunluğu, toksik olmaması ve mukoadesyonu nedeniyle CS farmasötik ve kozmetik uygulamalar için büyük bir potansiyele sahiptir. Tıbbi, atık su arıtımında, biyomembranlarda, hidrojel oluşumunda ve kozmetikte kullanılmaktadır. CS kozmetikte rimel, saç kremi, saç köpüğü ve vücut kremleri için kullanılmaktadır. İyi bir antimikrobiyal özelliğe, düşük dış vücut reaktivitesine ve çeşitli geometri ve formlara sahiptir. Olumlu jelleşme özelliği sayesinde morfojenik faktörler ve farmasötik ajanlar kontrollü bir şekilde yapısından salınabilmektedir [23].

Kişisel Bakım Ürünleri kategorisinde karboksimetil heksanoil CS ve Chitosonic® Asidi yeni kozmetik bileşenler olarak onaylanmıştır; bu da kişisel bakım ve kozmetik sektöründeki araştırmaların yeni aktif bileşenler oluşturmaya odaklandığını göstermektedir. Bazı makalelerde CS'nin kozmetikte bir dağıtım sistemi olarak kullanılabileceğini öne sürmesine rağmen, CS ve türevlerinin kozmetik formülasyonlarda önemli aktif bileşenler olma potansiyeline sahip olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır [11]. Bunun sebebi CS'nin vücutta kolajen üretimini arttırdığına yönelik birçok çalışma bulunmasıdır.

2.5.6. Meyan kökü hidrojeller

Meyan kökü polisakkaritleri, meyan kökü bitkisinin (*Glycyrrhiza glabra*) köklerinden ekstrakt edilen karmaşık karbonhidrat molekülleridir. Eski dönemlerden bu yana, 30'dan fazla türe sahip bir bitki olan meyan kökü, eski Mısır, Roma, Yunanistan, Doğu Çin ve Batı'da ilaç olarak kullanılmıştır. Az sayıda yan etkileri olan meyan kökü, mevcut tedavilere göre daha doğal ve ulaşılabilir bir alternatif olarak görülmektedir [24].

GPS, glikoz, galaktoz ve mannoz gibi çeşitli monosakaritlerden oluşmaktadır ve antitümör, antibakteriyel, antiviral, antioksidan ve karaciğer ve böbrek koruması gibi çeşitli özelliklerinden dolayı farklı kullanımlara sahiptir [21]. Meyan kökü bitkisinin polisakkaritlerinin (GP) izolasyonu, bitkiden sıcak su ekstraksiyonu, enzimatik hidroliz veya etanol ekstraksiyon gibi yöntemle sentezlenmektedir [24].

Meyan kökü bitkisinin içerdiği 18 β -glycyrrhetinic asit, sahip olduğu antiinflamatuvar ve antimikrobiyal özellikler sayesinde dermatoloji ve kozmetik alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Atopik dermatit, akne ve güneş yanığına bağlı cilt tahrişleri gibi durumların tedavisinde etkilidir. Ayrıca, cilt tarafından genellikle iyi tolere edilir ve alerjik reaksiyon riski

oldukça düşüktür. Meyan kökü özütü ve polisakkaritlerinin temel kullanım sebeplerinden biri, glycyrrhetic asit gibi bu tür etkili bileşenleri içermesidir [25]. Diğer sebepler arasında ise kolay ekstrakte edilebilmesi, pratik kullanım sunması ve yaygın bulunabilirliği yer almakta olup, bu özellikler meyan kökünü kozmetik ve birçok farklı alanda ticari olarak cazip hale getirmektedir [26].

2.5.6.1. Meyan kökü hidrojenlerin kullanım alanları

Meyan kökü polisakkaritleri, biyopolimerler alanında uygulamalar bulmuştur. Meyan kökü polisakkaritleri, gıda ürünlerinde veya cilt bakım ürünlerinde bileşen olarak doğal koyulaştırıcılar, dengeleyiciler, emülgatörler veya film oluşturucu maddeler olarak kullanılabilir. Biyouyumlulukları ve biyolojik olarak parçalanabilirlikleri, onları çeşitli uygulamalar için çekici kılmaktadır [27].

Doğal bileşikler ve bitki özleri kozmetik ürünlerin performansını artırma potansiyeline sahip olduğu için kozmetik alanda kullanımı son yıllarda artmaktadır. 30'dan fazla türü bulunan Glycyrrhiza cinsi, fonksiyonel gıda ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kozmetik formülasyonlardaki potansiyelleri son zamanlarda daha fazla ilgi çekmektedir. Beyazlatma özelliklerinden dolayı meyan kökü ekstraktları kozmetik ürünlerde kullanılmaktadır. Bu ekstraktların biyolojik etkilerinden özel flavonoid sınıfı metabolitler sorumludur. Meyan kökünün kimyasal bileşimi ve özellikleri nedeniyle, yaşlanma karşıtı, cilt foto koruyucu, saç bakımı ve cilt için sivilce karşıtı gibi birçok kozmesötik ürünleri üretilmesinde odak noktası haline gelmiştir [28].

Dahası meyan kökü bileşikleri herpes ve hepatit B ve C gibi virüslere karşı güçlü antiviral aktivite göstermektedir. Viral replikasyonu önleyerek ve karaciğerdeki hormon metabolizmasını etkileyerek çalışabilmektedir. Ek olarak, meyan kökü steroid hormonlarına benzer anti-inflamatuar etkilere sahiptir. Zararlı molekülleri nötralize ederek ve hastalık koşullarında karaciğer fonksiyonunu iyileştirerek iltihabı teşvik eden enzimleri azaltabilmekte ve karaciğer hücrelerini koruyabilmektedir [28].

2.6. Kitosan ve Meyan Kökü Birleşim Hidrojelleri

Önceki bölümlerde de belirtildiği gibi, ayrı ayrı CS ve GP polisakkaritleri kullanılarak özgün ve işlevsel hibrit hidrojeller elde edilebildiği literatürde bir çok kez ispatlanmıştır. Ancak, her malzemedeki olduğu gibi bu iki polisakkaritin bireysel olarak bazı kısıtlamaları mevcuttur. Örneğin, CS, bakteriyostat olarak uygulanmasını sınırlandıran en önemli özelliği olan suda

2.6. Uçucu yağlar ve Hidrojeller

Uçucu yağların hidrojellere entegre edilmesi, doğal biyoaktif özelliklere sahip gelişmiş malzemeler geliştirmek için umut vadeden bir strateji sunmaktadır. Bu kombinasyon, her iki bileşenin benzersiz faydalarından yararlanır; hidrojeller yukardaki bölümlerde açıklandığı gibi biyouyumluluk, kontrollü salınım ve yüksek gözeneklilik sağlarken, uçucu yağlar güçlü antibakteriyel, anti-inflamatuar ve antioksidan etkilere katkıda bulunmaktadır.

Uçucu yağları hidrojellerin içine kapsüllemek, stabiliteyi artırır, uçuculuklarını azaltır ve sürdürülebilir biyolojik aktivitelerini iyileştirir, bu da onları biyomedikal cihazlar, yara pansumanları, diş tedavileri, kozmetikler, aktif gıda ambalajları ve hatta kültürel mirasın korunması gibi çeşitli uygulamalar için oldukça uygun hale getirmektedir [31].

Bergamot yağı ise, Citrus bergamia bitkisinden elde edilen bir uçucu yağdır ve esas olarak limonen, linalil asetat ve anti-inflamatuar, antioksidan ve analjezik özelliklere sahip linaloolden oluşur. Bergamot uçucu yağı cilt bariyerini aşarak daha iyi bir iltihap tedavisi sunar. Barbosa ve arkadaşları (2023), uçucu yağların aktif bileşenlerin ciltten geçişini ne ölçüde etkilediğini değerlendirdikleri çalışmada topikal veya transdermal uygulamalar için etkili formülasyonlar geliştirmeyi başarmışlardır [32].

Bu çalışmada hidrojeller içerisine bergamot yağı katkılanması, sadece terapötik fayda sağlamak amacıyla değil, aynı zamanda hedeflenen uygulamalarda formülasyonun fonksiyonel özelliklerini artırmak amacıyla tercih edilmiştir. Bergamot yağı, ciltle temas eden sistemlerde emilimi hızlandırma ve lokal etkiyi güçlendirme potansiyeline sahiptir. Ayrıca taşıdığı doğal ve hoş koku profili sayesinde kozmetik ürünlerde kullanıcı memnuniyetini artıran bir unsur olarak öne çıkmaktadır. İçerdiği aromatik bileşenler, ürünün genel etkinliğini desteklerken aynı zamanda duyuusal deneyimi de zenginleştireceği düşünülmektedir. Bu yönleriyle bergamot yağı, hem biyolojik etkiyi hem de kullanıcı deneyimini optimize eden stratejik bir bileşen olarak çalışmaya özgünlük katmaktadır.

2.7. Dondurarak Kurutma Yöntemi

Dondurarak kurutma yöntemi, sentezlenen hidrojellerin hem yapısal hem de işlevsel özelliklerini geliştirmek için kullanılmaktadır. Düşük sıcaklık ve basınç altında, suyun süblimleşme yoluyla uzaklaştırılması; hidrojellerin gözenekli yapısı, yüksek su emilimi, oksijen geçirgenliği ve etkin madde yükleme/desorpsiyon kapasitesi gibi önemli işlevlerin korunmasında büyük bir rol oynar.

Ayrıca bu yöntem, hidrojellerin jel fraksiyonunu yükselterek, termal ve mekanik dayanıklılığını artırmaktadır. Ek olarak, dondurarak kurutulmuş hidrojeller yüksek biyouyumluluk sergileyerek yara iyileşmesi, doku yenilenmesi ve ilaç salımı gibi alanlarda etkili kullanım potansiyeli sunmaktadır [33].

Kacper ve arkadaşları (2024) tarafından yapılan çalışmada, dondurarak kurutma yönteminin nanotaşıyıcı-ilaç sistemleri ile birlikte kullanıldığında sodyum aljinat ve poli (vinil alkol) bazlı hidrojellerin yapısal ve işlevsel özelliklerini büyük bir şekilde iyileştirdiğini göstermektedir. Bu yöntem sayesinde biyouyumluluk özelliğini korunurken ısıya dayanıklılık ve pH'a duyarlı şişme kapasitesi arttığını gözlemlenmiştir. Ayrıca, ilaç salımının hem ortam pH'ına hem de hidrojinin yapısındaki bağlanma yoğunluğuna bağlı olarak kontrollü ve sürekli gerçekleştiği tespit edilmiştir [33].

Butylina ve arkadaşları (2016) tarafından [34] yoğunluklarda poli(vinil alkol) içeren hidrojelleri dondurarak kurutma yöntemiyle sentezlenmiştir. Bu çalışmadan dondurarak kurutma yönteminin, hidrojellerin hem yapısal hem de fonksiyonel özelliklerini iyileştiren etkili bir teknik olduğu ve doku iskelesi mühendisliği, hücre kültürü ve kontrollü ilaç salımı gibi biyomedikal uygulamalarda büyük potansiyel taşıdığı anlaşılmaktadır [34].

Autissier ve arkadaşları (2010), polisakkarit bazlı biyouyumlu hidrojel iskeletlerinin üretimi için yeni bir dondurarak kurutma/çapraz bağlama kombinasyon tekniği geliştirilmiştir. Bu yöntemde, pullulan ve dekstran gibi doğal biyopolimerler, sodyum trimetafosfat ile dondurarak kurutma süreci sırasında başarılı bir şekilde çapraz bağlanabilmiştir. Ayrıca, dondurarak kurutma basıncının gözenek boyutu ve porozite üzerinde doğrudan etkili olduğunu belirlenmiştir. Özellikle düşük basınçta kurutulan örneklerde, daha büyük gözenekli (yaklaşık 243 µm çapında) ve yüksek poroziteli (%68) yapılar oluşmuş; bu da mezenkimal kök hücrelerin yapı içine daha derinlemesine nüfuz etmesine olanak tanımıştır [35].

Dondurarak kurutma yönteminin olumlu etkileri yalnızca sentezlenen hidrojellerle sınırlı kalmayıp, aynı zamanda ekstrakte edilen polisakkaritlerin yapısal bütünlüğünü koruma, biyolojik aktivitelerini artırma ve antioksidan kapasitelerini güçlendirme açısından da önemli bir rol oynamaktadır [36].

Liu ve arkadaşları (2020), dondurarak kurutma yöntemi ile Lentinula edodes'ten elde edilen polisakkaritlerin, yapılarının daha iyi korunduğunu, biyolojik aktivitelerinin arttığını ve böylelikle bu polisakkarit yapıların kalitesinin olumlu yönde etkilendiğini açıklamıştır.

Sıcak hava kurutmasına kıyasla, dondurarak kurutulmuş polisakkaritlerin daha fazla glikoz, antioksidan ve bağışıklık güçlendirici özelliklere sahip olduğunu ve bunun sonucunda sağlık etkileriyle bağlantılı olan daha yüksek seviyelerde faydalı β -glukan yapıları içerdiğini belirtmişlerdir. Genel olarak, dondurarak kurutma, polisakkaritlerin işlevsel ve yapısal bütünlüğünü daha etkili bir şekilde koruduğu tespit edilmiştir [37]

Fan ve arkadaşları (2012), *Ganoderma lucidum* mantarından elde edilen polisakkaritlerin antioksidan özelliklerini farklı kurutma yöntemleri üzerinden değerlendirmiştir. Sıcak hava, vakum ve vakumla dondurarak kurutma tekniklerinin karşılaştırıldığı bu çalışmada, özellikle dondurarak kurutulan numunenin serbest radikal temizleme kapasitesinin ve indirgeme gücünün diğer yöntemlere kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek olduğunu ortaya konmuştur. Bu bulgu, dondurarak kurutma yönteminin yalnızca bir kurutma işlemi olmanın ötesinde, polisakkaritlerin biyolojik aktivitelerini artırmada da oldukça etkili bir yöntem olduğunu bir kez daha gözler önüne sermektedir [36].

Geleneksel hidrojeller, kimyasal olarak çapraz bağlandıktan sonra hava ile kurutulur. Ancak bu yöntem, yapının sertleşmesine ve bazı istenmeyen özelliklerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Bu çalışmada dondurarak kurutma hem çapraz bağlama hem de kurutma işlemini aynı anda gerçekleştiren çok amaçlı bir yöntem olarak değerlendirilmiştir. Böylece hem hidrojinin genel kararlılığı artırılmakta hem de hava ile kurutmanın neden olabileceği sertleşme gibi olumsuz etkiler en aza indirilmektedir. Bu yaklaşım, daha esnek, dayanıklı ve farklı uygulamalara daha uygun hidrojeller geliştirme açısından önemli bir adım sunmaktadır.

3 MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Etanol (C_2H_5OH), Kalsiyum klorür ($CaCl_2$), Sodyum hidroksit ($NaOH$) ve Amonyak (NH_3) TEKKİM Kimya SAN. TİC. LTD. ŞTİ. (Bursa, Türkiye) tarafından tedarik edilmiştir. Bergamot yağı Furkan Ltd. Şti. (İstanbul, Türkiye) tarafından tedarik edildi. pH 7,4 olan fosfat tamponlu salin (PBS) Gündüz Kimya'dan (İstanbul, Türkiye) satın alınmıştır. CS ADAGA'dan (Antalya, Türkiye) satın alınmıştır ve Meyan kökü Yalova ilindeki yerel bir bitki uzmanından temin edilmiştir, Asetik asit ($C_6H_8O_7$) Sigma-Aldrich tarafından tedarik edilmiştir.

1. Saf Su:

Distile (saf) su; meyan kökü polisakkaritlerinin sentezlenmesi, çözeltilerin hazırlanması ve hidrojellerin yatırılması gibi çeşitli aşamalarda kullanılmıştır. Laboratuvarımızda, bu amaçlar için gerekli olan saf su, distilasyon cihazı ile üretilmiştir.

2. Kalsiyum klorür ($CaCl_2$):

1M Kalsiyum klorür ($CaCl_2$) çözeltisi tasarlanan hidrojellerin dondurarak kurutma işleminden önce yapısal stabiliteyi artırmak amacıyla kullanılmıştır.

3. Sodyum hidroksit ($NaOH$):

$NaOH$, reaksiyon ortamının pH'ını ayarlamak ve bazı monomerlerin çözünürlüğünü artırmak amacıyla kullanılmış; ayrıca ortamın bazik hale getirilmesinde de tercih edilmiştir. 1M'lık çözelti halinde kullanılmıştır.

4. Amonyak (NH_3):

Amonyak, reaksiyon ortamının pH'ını yükseltmek amacıyla tasarlanan hidrojellerin hazırlanma sürecinde kullanılmıştır.

5. Asetik Asit (CH_3COOH):

Asetik asit, CS çözeltisinin hazırlanmasında çözücü ajan olarak kullanılmıştır [38].

6. Fosfat Tamponlu Salin (PBS):

pH 7,4 fosfat tamponlu salin (PBS), sentezlenen hidrojellerin su tutma kapasitesi testlerinde ortam çözeltisi olarak kullanılmıştır.

7. Bergamot Yağı:

Bergamot yağı, sentezlenen hidrojellere fonksiyonel özellikler kazandırmak amacıyla kullanılmıştır. Hidrojellerin yapısal ve terapötik özelliklerini destekleyen bergamot yağı, laboratuvarımızda ticari safiyette temin edilmiştir.

8. Etanol (C_2H_5OH):

Etanol (C_2H_5OH), meyan kökü ön yıkamasında ve polisakkaritlerin çöktürülmesinde kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Cihazlar

1. Damıtma Cihazı (Saf Su Üretimi)

Laboratuvar çalışmaları sırasında ihtiyaç duyulan saf (distile) su, Miprolap marka Distile Su Cihazı 380 Volt, 8 Litre Kapasiteli, 16 Litre Depolu MDS 8 D kullanılarak üretilmiştir. Elde edilen saf su; meyan kökü atıklarının suda çözünebilen kirliliklerden arındırılmasında, meyan kökü polisakkaritlerinden hidrojel hazırlanmasında ve çeşitli çözeltilerin hazırlanmasında çözücü ve yıkama maddesi olarak kullanılmıştır.

2. Etüv (Kurutma Fırını)

Meyan kökü atıkları ve hidrojellerin kurutulmasında kullanılan etüv, numunelerin sabit ağırlığa ulaşmasını sağlamak amacıyla 50 °C’de çalıştırılmıştır. Bu sayede nem oranı minimize edilerek sonraki işlemler için standart bir başlangıç sağlanmıştır. Kurutma işlemi, Memmert marka UN55 model etüv kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3. Desikatör

Kurutulmuş meyan kökü örneklerinin ortam neminden etkilenmeden muhafaza edilmesi için desikatör kullanılmıştır. Böylece nem alma kaynaklı yapısal değişimlerin önüne geçilmiştir.

4. Öğütücü (Mikser veya Değirmen)

Meyan kökün polisakkarit homojen toz haline getirilmek amacıyla öğütücü cihaz ile işlenmiştir. Meyan kökün toz formu, meyan kökü polisakkaritlerinden hidrojel hazırlanmasında kritik öneme sahiptir.

5. Otoklav

Polisakkarit ekstraksiyonunda, meyan kökü süspansiyonunun 120 °C’de 40 dakika boyunca otoklavlanması işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem, ısı ve basınç yardımıyla polisakkaritlerin

hücre yapısından serbest bırakılmasını sağlamıştır. Otoklavlama işlemi, Biobase marka Dikey Tip 30 Litre otoklav kullanılarak yapılmıştır

6. Santrifüj

Ekstraksiyon sonrası süspansiyon, çözünmeyen bileşenlerden ayırtırmak amacıyla, 10 dakika boyunca 10.000 g kuvvetinde ve 4 °C’de santrifüjlenmiştir. Ayrıca etanol çöktürme sonrası oluşan meyan kökü polisakkaritleri çöktürmeleri, 9000 rpm’de 5 dakika santrifüjlenerek ayrılmıştır. Santrifüjleme işlemleri, Nüve marka NF 800R model santrifüj cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

7. Dondurucu (-20 °C)

Etanol ile çöktürülen polisakkarit fraksiyonları, çökme işlemini tamamlaması için -20 °C sıcaklıkta dondurucuda 48 saat boyunca bekletilmiştir. Bu adım, dondurarak kurutma işlemine hazırlık niteliği taşımaktadır. Ayrıca Dondurarak Kurutucu (Freeze Dryer) cihazına konulacak sentezlenen hidrojenlerin dondurulması amacıyla kullanılmıştır.

8. Dondurarak Kurutucu (Freeze Dryer)

Ekstraksiyon sonrası meyan kökü polisakkaritlerin yapısal bütünlüğünün korunması ve gözenekli bir yapı elde edilmesi amacıyla freeze-dry (dondurarak kurutma) işlemi ile vakum altında sublimasyon yoluyla kurutularak kurtarılmıştır. Bu cihazla aynı zamanda sentezlenen hidrojenlerin dondurarak kurutulması amacıyla kullanılmıştır. Dondurarak kurutma işlemleri, Labconco marka FreeZone cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

9. Isıtıcı Manyetik Karıştırıcı

Hidrojenlerin sentezi sırasında kullanılan CS, GP ve diğer bileşenlerin homojen şekilde karıştırılması amacıyla ısıtıcı manyetik karıştırıcı kullanılmıştır. Ayrıca hidrojenlerin sentezleme süresince sıcaklık kontrolü sağlanarak süreç optimize edilmiştir. Karıştırma ve sıcaklık kontrolü işlemleri, IKA marka RET Basic model ısıtıcı manyetik karıştırıcı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

10. Analitik Terazisi

Polisakkaritlerin ve diğer kimyasalların hassas tartımları Shimadzu marka ATX224 model analitik terazi ile gerçekleştirilmiştir. Bu cihaz, 0,0001 g (0,1 mg) hassasiyet ve 220 g kapasiteye sahiptir.

11. Homojenizatör

Katı-sıvı fazdaki örneklerin parçalanarak homojen bir karışım elde edilmesi amacıyla homojenizatör cihazı kullanılmıştır. Özellikle meyan kökün polisakkaritlerini sulu ortamda tam anlamıyla süspansiyon haline gelmesi amacıyla bu cihazdan faydalanılmıştır.

3.3. Yöntem

Bu çalışmada yöntem ve deneysel çalışmaları birkaç adımda gerçekleştirilmiştir. Birinci adımda meyan kökü polisakkaritlerinin ekstraksiyon metodunun optimize edilerek en yüksek polisakkarit verimi elde edilebilmesi için Box-Bhenken dizayn (CYY) yöntemi kullanarak planlaması yapılmıştır. İkinci aşamada hidrojel sentezinde parametre sayısını azaltmak amacıyla hibrit hidrojelleri farklı pH ve sıcaklık değerlerinde hidrojeller sentezlenerek absorblama deneyleri ve karaktirazasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Böylelikle hibrit hidrojel sentezi için optimum pH ve sıcaklık değerleri belirlenmiştir. Üçüncü aşamada daha önce belirlenmiş olan optimum pH ve sıcaklık değerinde farklı CS ve Meyan kökü konsantrasyonlarında ve farklı CS/meyan kökü oranında hibrit hidrojeller sentezlenmiştir. Bu aşamada optimum parametrelerin belirlenmesi amacıyla yine Box-Bhenken deneysel tasarım yöntemi kullanılmıştır. Son aşama olan 4. Aşamada ise elde edilen hibrit hidrojellerin karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

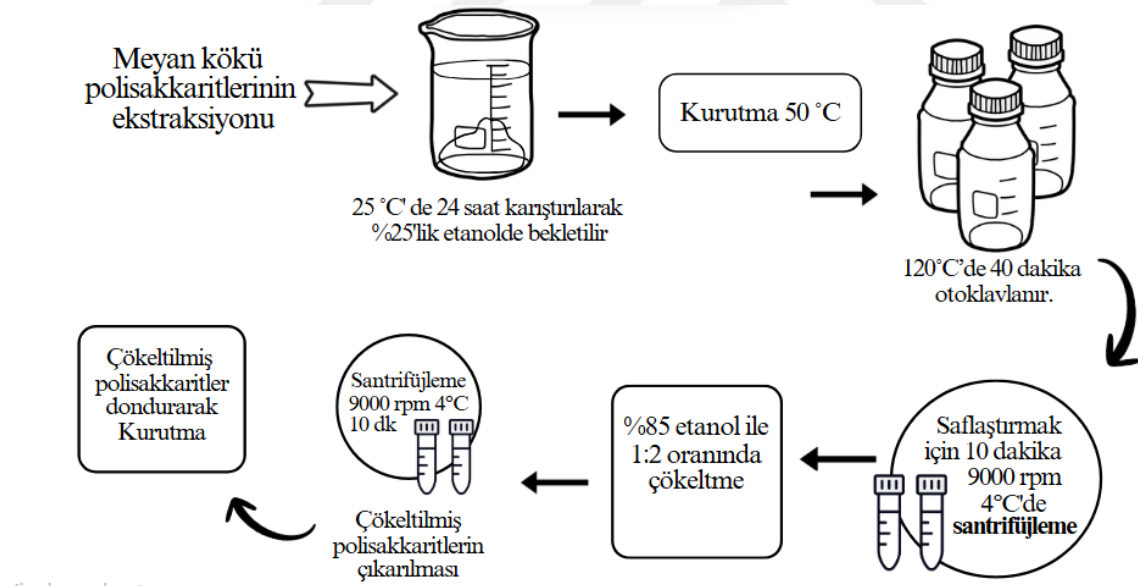
3.3.1. Meyan kökü polisakkaritlerin sentezi

Meyan kökü, suda çözünen şekerler (glukoz, sakaroz, mannitol %5-15), nişasta (%25-30), glisirizin (%10-16), aminler (asparagin, betain, kolin) ve steroller (stigmasterol, β -sitosterol) gibi bileşiklerden oluşmaktadır [39]. Bu amaçla meyan kökünden polisakkarit ekstraksiyonu çözücü olarak su kullanılarak Moussa ve ark. (2023) tarafından açıklanan yöntemle gerçekleştirilmiştir [40]. Ekstraksiyon verimini optimize etmek amacıyla Box-Behnken deneysel tasarım yöntemi kullanılarak en uygun işlem koşulları belirlenmiştir.

Bu kapsamda öncelikle gıda sınıfı meyan kökü yerel bir aktardan temin edildikten sonra kirliliklerden arındırılmak amacıyla damıtılmış suyla yıkanmıştır. Ardından yapısında bulunan pigmentleri ve diğer safsızlıkların giderilmesi amacıyla 24 saat boyunca %25'lik etanol (1gr meyan köküne 20ml etanol olacak şekilde) çözeltisinde bekletilmiştir. Bu işlem sonunda süzülerek katı faz ve sıvı faz birbirinden ayrılmış ve katı faz sabit bir ağırlığa ulaşana kadar 50 °C'de etüvde kurutulmuştur.

Kurutulan meyan kökü biyokütlesi Box-Bhenken tasarımı (Tablo 4.2) ile elde edilen deney planı doğrultusunda farklı oranlarda (1/10-1/20) suda süspanse edilmiştir ve 120°C'de 40 dakika boyunca otoklavlanmıştır. Otoklavlanmış numune odasıcaklığına ulaştıktan sonra 9000 rpm'de ve 4 °C'de 10 dakika boyunca santrifüjlenerek sıvı kısım ayrılmıştır. Santrifüj sonrası elde edilen sıvı fazın üzerine yine deney planı doğrultusunda farklı hacimlerde (1/1-1/3) ve farklı konsantrasyonlarda (%75-95) etanol çözeltisi eklenerek polisakkarit yapı çökeltilmiştir. Tam çökelmenin sağlanması amacıyla elde edilen çözelti 48 saat boyunca -20°C'de bekletilmiştir. 48 saat sonunda elde edilen çözelti 9000 rpm ve 4°C'de 10 dakika boyunca santrifüj edilerek polisakkarit yapının ayırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen polisakkarit 48 saat boyunca dondurularak kurutulmuş ve bir sonraki kullanıma kadar bir desikatörde tutulmuştur.

Çıkarılan Meyan polisakkarit tozunun yapısal ve işlevsel özellikleri Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Termogravimetrik Analiz (TGA) testleri ile karakterize edilmiştir. Meyan kökü polisakkaritlerinin elde edilmesine ait şematik gösterim Şekil 3.1'de verilmiştir.



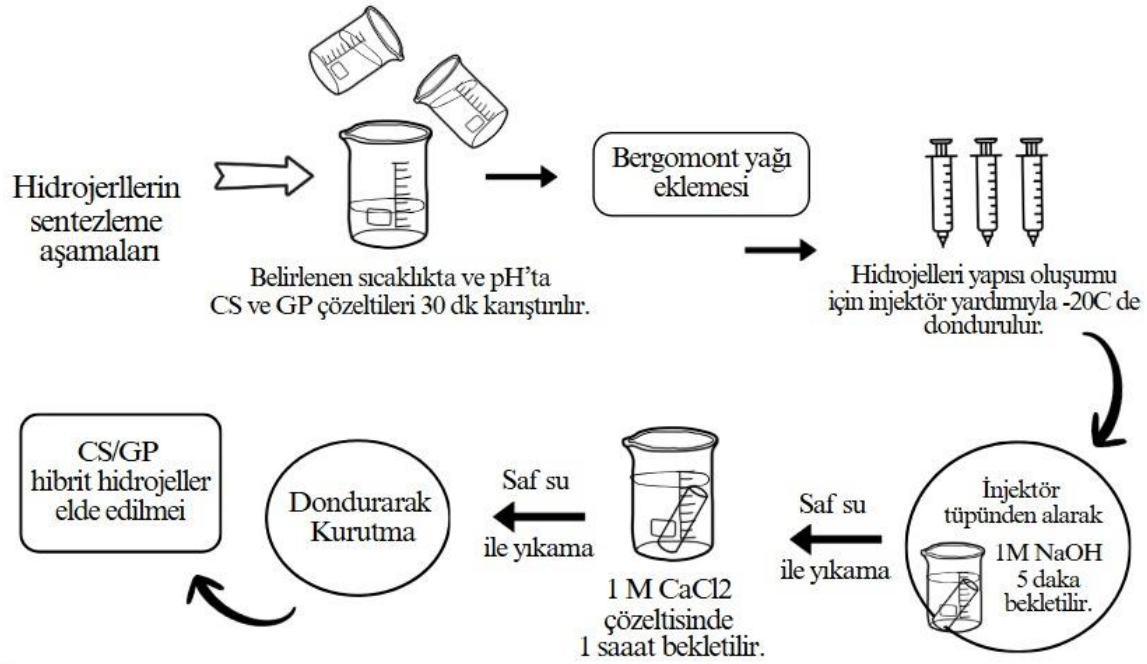
Şekil 3.1. Meyan kökü polisakkaritlerinin ekstraksiyon yöntemi

3.3.2 Kitosan/meyan kökü hidrojenlerinin hazırlanması için ön denemeler

CS ve GP polisakkaritlerinden oluşan hibrit hidrojenlerin sentezi için parametre sayısını en aza indirmek amacıyla öncelikle farklı pH ve sıcaklık değerlerinde hibrit hidrojen sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda öncelikle CS ağırlıkça %4 oranında %1,5 asetik asit çözeltisi içerisinde çözündürülerek oda sıcaklığında mekanik bir karıştırıcı ile homojen ve berrak bir

çözelti elde edilene kadar karıştırılmıştır. Daha sonra, GP ağırlıkça %12,5 oranında damıtılmış suya eklenerek GP çözeltisi hazırlanmıştır ve oda sıcaklığında mekanik bir karıştırıcı ile 30 dakika boyunca karıştırılmıştır [41].

Son olarak, her iki karışım farklı sıcaklıklarda (40-50-60 °C) ve farklı pH'ta (5-7-9) 1:1 oranında karıştırılmıştır. Elde edilen karışım oda sıcaklığına getirilerek üzerine %5 oranında bergamot yağı eklenerek 10 dk boyunca tekrar manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Optimum pH ve sıcaklığın belirlenmesi amacıyla 9 farklı hibrit hidrojel hazırlanmıştır. GP ve CS çözeltilerinin oranı ağırlıkça 1:1'dir ve 9 numune boyunca sabit tutulmuştur. Elde edilen tüm çözeltilerin pH'ı 5 ve altında olduğu için yüksek pH değerleri için pH, amonyak çözeltisi kullanılarak ayarlanmıştır. pH ayarında NaOH kullanılmaması sebebi CS ile reaksiyona girerek jel yapının bozulmasına sebep olmasıdır.

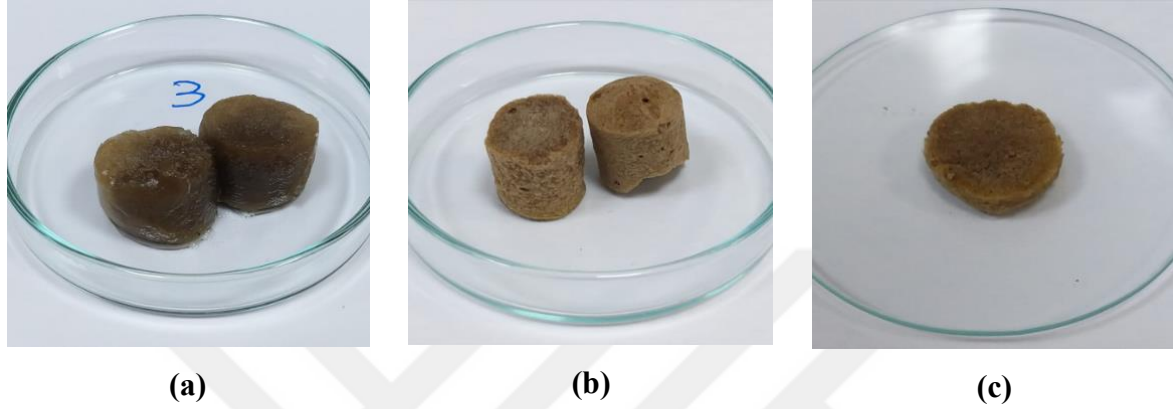


Şekil 3.2. CS/GP hibrit hidrojellerinin sentezleme yöntemi

Bir sonraki aşamada elde edilen bergamot yağı eklenmiş hibrit hidrojeller şırıngalara doldurulup ve hidrojel yapısı oluşana kadar -20 C sıcaklıkta tutulmuştur [10].

Ardından hidrojelleri stabilize etmek, yapısını güçlendirmek ve bazı çapraz bağlama reaksiyonlarını tamamlamak amacıyla 5 dakika boyunca sodyum hidroksit çözeltisi (1M NaOH) içine daldırılmıştır [40].

NaOH çözeltisinden alınan hidrojel, saf su ile yıkanarak kalsiyum klorür CaCl_2 (1 M) çözeltisinde bir saat bekletilmiştir. Kalsiyum klorür kullanmanın sebebi ise, çoğu hidrojel iyonik olarak çapraz bağlamak için en sık kullanılan maddelerden biri olmasıdır [16]. Kalsiyum klorür çözeltisinden alınan hidrojel, daha sonra damıtılmış suyla yıkanıp yüksek bir gözeneklilik elde etmek için dondurularak kurutulmuştur. Deneyel çalışmalar sırasında elde edilen hidrojellerin sentez aşamasındaki görüntüleri Şekil 3.3’de verilmiştir.



Şekil 3.3. Sentezlenen hidrojellerin her adımda şekli. (a) NaOH ve CaCl_2 çözeltilerine daldırma işleminden sonra elde edilen hidrojel yapı (b) Dondurularak kurutmadan önceki hidrojel yapı (c) karakterizasyondan önce silindirik peletlere bölünmüş yapı.

Denemeler sonunda elde edilen hibrit hidrojellere su absorplama kapasitesi denemeleri yapılarak optimum su absorplama kapasitesine sahip (yüksek su absorplama kapasitesi ve dağılma özellikleri) sentez pH ve sıcaklık parametreleri belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen en yüksek, orta ve düşük kapasiteye sahip 3 hidrojel SEM, FTIR ve TGA analizleri yapılarak karakterize edilmiştir. Bu ön bulgulara dayanarak, belirlenen optimum sentez koşulları (pH ve sıcaklık) altında değişen Kitosan ve Meyan Kökü konsantrasyonları ve farklı meyan kökü/kitosan oranları kullanılarak Dizayn Expert programı yardımıyla Box-Bhenken dizayn yöntemi kullanılarak elde edilen deney planı doğrultusunda 17 farklı hidrojel örneği hazırlanmıştır.

3.3.2. Optimum kitosan, meyan kökü konsantrasyonu ve oranının belirlenmesi

Bu aşamada optimum CS konsantrasyonu, GP konsantrasyonu ve CS/GP oranının belirlenmesi amacıyla Dizayn Expert programı yardımıyla Box-Bhenken deneysel tasarım yöntemi kullanılarak deney planı (Tablo 4.9) hazırlanmıştır. Bu kapsamda öncelikle Tablo 4.8’de verilmiş olan farklı konsantrasyonlarda CS ve GP stok çözeltisi hazırlanmıştır. CS çözeltisi ağırlıkça %3–5 oranlarında olacak şekilde, %1,5’luk asetik asit çözeltisi içerisinde

çözündürülerek homojen ve berrak bir çözelti elde edilinceye kadar mekanik karıştırıcı yardımıyla karıştırılmıştır. GP ise polisakkaritler ise ağırlıkça %10–15 oranında olacak şekilde su içerisinde çözündürülmesi amacıyla oda sıcaklığında yaklaşık 30 dakika boyunca mekanik karıştırıcı yardımıyla homojen bir çözelti elde edilene kadar karıştırılmıştır [41]. Elde edilen CS ve GP çözeltileri, Tablo 4.9 kapsamındaki oranlarda daha önce belirlenmiş olan pH değerinde ve sıcaklıkta karıştırılmıştır. Elde edilen karışım oda sıcaklığına getirilerek içerisinde %5 oranında bergamot yağı eklenerek enjektör yardımıyla şekillendirilmiş ve hidrojel yapısı oluşana dek -20°C’de 48 saat bekletilmiştir [10].

Bu deney palni doğrultusunda farklı CS, GP konsantrasyonlarında ve CS/GP oranlarında 17 adet deneme yapılmıştır. Hidrojelleri stabilize etmek için ön deneme çalışmalarındaki gibi dondurulmuş hidrojeller önce sodyum hidroksit çözeltisine daldırılarak 5 dakika boyunca bekletilmiş sonra saf su ile yıkanarak kalsiyum klorür CaCl_2 çözeltisinde bir saat bekletilmiştir. 1 saat sonunda elde edilen jeller saf suyla yıkanıp dondurularak kurutma aşamasından önce -20°C 24 saat boyunca bekletildikten sonra dondurak kurutma cihazı yardımıyla kurutulmuştur. Daha sonra, elde edilen her bir hidrojin su tutma kapasitesi analizleri gerçekleştirilerek optimum çalışma şartları belirlenmiştir. Elde edilen verilerden en yüksek, orta ve düşük su tutma kapasitesine sahip hidrojeller SEM, TGA, FTIR ve antibakteriyel analizler yapılarak karakterize edilmiştir.

3.4. Hidrojellerin Karakterizasyonu

3.4.1. Su absorplama kapasitesi deneyleri

Sentezlenen hidrojellerin su absorplama kapasitesi deneyleri, 25°C’de PBS tampon (pH 7.4) çözeltisinde gerçekleştirilmiştir [10]. Şişme oranları (S), gravimetrik yöntemle belirlenmiştir. Bu kapsamda dondurularak kurutulmuş hidrojeller eşit hacimlerde silindirik peletlere kesilmiş ve 0,0001 g hassasiyetle kuru olarak tartılmıştır, ardından 25°C’de tuzlu su (PBS, pH 7.4) çözeltisine yerleştirilerek bir şişme deneyleri gerçekleştirilmiştir.

Şişme denemeleri hidrojellerin belirli bir süre sonunda ağırlıklarındaki değişim hesaplanarak belirlenmiş olup bu 10. dakikadan itibaren 24 saate kadar farklı sürelerde hidrojellerin su absorplama kapasiteleri

$$SR (\%) = \frac{(m_0 - m_t)}{m_0} \times 100\% \quad (3.1)$$

Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanmıştır. Bu denklemde, S şişme oranıdır; M_0 ve M_t , sırasıyla t_0 anındaki kuru hidrojin ve t anındaki şişmiş hidrojin kütleleridir [10].

3.4.2. Yoğunluk

Hidrojel numunelerinin boyutları, 0,001 mm hassasiyete sahip Mitutoyo 293-821 (Japonya) marka dijital kumpasla ölçülerek hacim hesaplanmıştır. Ardından numunelerin kütleleri hassas terazide ölçüldükten sonra, yoğunluk değeri Eşitlik 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır. Burada m hidrojin kuru ağırlığı, v silindirik hidrojellerin hacmini ifade etmektedir.

$$\rho = \frac{m}{v} \quad (3.2)$$

3.4.3. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Bursa Teknik Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü bünyesinde, hizmet alımı şeklinde, sentezlenen hidrojellerden en yüksek, orta ve düşük su absorplama kapasitesine sahip hidrojelere SEM analizi uygulanmıştır. SEM analizinin uygulanma amacı hazırlanan hidrojellerin yüzey morfolojisini ayrıntılı biçimde incelemektir. Buradaki temel amaç hidrojel yapılarında gözenek dağılımı, yüzey düzgünlüğü ve mikroskobik düzeydeki yapısal bütünlük, malzemenin hem fiziksel dayanımı hem de etki mekanizması üzerinde doğrudan belirleyicidir. SEM ile elde edilen görüntüler sayesinde, kitosan ve meyan kökü polisakkaritinin farklı oranlarda bir araya geldiğinde oluşturduğu mikro yapıların homojenliği ve yağ fazının matrise nasıl entegre olduğu değerlendirilebilmiştir.

3.4.4. Termogravimetrik analiz (TGA)

Hidrojel numunelerinin sıcaklık değişimine karşı kütle değişiminin ölçülmesi Yalova Üniversitesi YUMERLAB bünyesinde hizmet alımı olarak gerçekleştirilmiştir. Analiz 20 ml/dak akış hızına sahip azot gazı ile gerçekleştirilmiştir. Hidrojeller yaklaşık 10 mg'lık parçalar halinde alüminyum kaplara yerleştirilecek ve 10 °C/dak ısıtma hızıyla 20-900 °C arasındaki sıcaklıklarda test edilmiştir.

Hidrojelere TGA analizi uygulanmasının başlıca sebebi hidrojellerin termal kararlılığının ve ısıya karşı dayanım profillerinin belirlenebilmesidir. Biyopolimer temelli sistemlerde hidrojel formülasyonunun bozunmaya başladığı sıcaklık ve ısı karşısında nasıl bir kütle kaybı gösterdiği kritik önem arz etmektedir. TGA analizinden elde edilen veriler sentezlenmiş olan hidrojel yapıların sıcaklıkla etkileşimini yorumlamaya olanak sunarak, ürünün depolama koşulları ve uygulama alanlarına dair öngörü sunmaktadır.

3.4.5. FTIR

Yapılan denemeler sonucunda en yüksek, orta ve düşük su absorplama kapasitesine sahip hidrojenlerin FT-IR spektrumları 4500–400 cm dalga boyu aralığında Nicolet IS 10 FT-IR spektrofotometreleri kullanılarak kaydedilmiştir. FT-IR analizleri Yalova Üniversitesi YUMERLAB bünyesinde hizmet alımı olarak gerçekleştirilmiştir. FT-IR analizi, hidrojenlerin yapısında yer alan fonksiyonel grupların belirlenmesi ve bu fonksiyonel grupların birbirleri ile olan kimyasal etkileşimlerini belirlemek için gerçekleştirilmiştir. Bu sayede CS, GP arasında oluşabilecek hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler yorumlanabilecek ve aynı zamanda bergamot yağı ile polimer matrisi arasındaki uyum belirlenebilecektir.

3.4.6. İn vitro bozunma

İn vitro bozunma testi kapsamında öncelikle 1mm yüksekliğinde silindirik hidrojel numuneleri hazırlanmıştır ve hazırlanan silindirik hidrojenler 25°C'de küçük beherlerde 7,4 pH değerinde 50 mL PBS çözeltisine daldırılmıştır. Daha sonra, önceden belirlenmiş zaman noktalarında (7 gün, 14 gün) PBS ortamından çıkarılmış, yüzeylerindeki fazla suyu gidermek için kağıtla kurutulmuş ve örnekler hemen tartılmıştır. Örneklerin bozunma oranları Eşitlik (3.3) yardımıyla hesaplanmıştır:

$$DR (\%) = \frac{(m_0 - m_t)}{m_0} \times 100 \quad (3.3)$$

Eşitlik (3.3)'te DR (%) bozunma yüzdesini, m_0 örneklerin PBS çözeltisinde bozunmadan önce tamamen şişmiş ağırlıklarını ve m_t ise değişken inkübasyon periyotlarından sonra hidrojenin ağırlığıdır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Meyan Kökü Polisakkaritlerin Ekstraksiyonu

Bu çalışmada Meyan Kökünden meyan kökü polisakkariti ekstraksiyonunu optimize etmek amacıyla Box-Bhenken dizayn (BBD) tasarım yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. BBD'nin geleneksel deneysel tasarımlara göre başlıca avantajları deney sayısının azaltılarak zaman, maliyet ve kaynak tasarrufu sağlamasıdır. Bu çalışmada ekstraksiyon denemeleri için Katı faz/su oranı (g/ml), Etanol hacmi (ml), Etanol konsantrasyonu (%) gibi parametreler GP ekstraksiyon verimi (%)’ni optimize etmek için kullanılmıştır.

Veriler hem lineer hemde ikinci dereceden etkilerin değerlendirilmesine olanak tanıyan kuadratik bir denklemle modellenmiştir. Deneysel tasarım Dizayn Expert 11.0.5.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Deneysel planda kullanılan proses değişkenlerinin kodlanmış ve gerçek değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. % verim için kullanılan her bir parametrenin gerçek ve kodlanmış değerleri.

Bağımsız Değişkenler	Sembol	Seviyeler		
		-1	0	1
Katı Faz/su (g/ml)	A	10	15	20
Etanol Hacmi (ml/ml)	B	1/1	2/1	3/1
Etanol konsantrasyonu (%)	C	75	85	95

Tablo 4.2, hem kodlanmış hem de gerçek proses değişkenlerini içeren deneysel tasarım matrisini sunmaktadır. Ayrıca, ekstraksiyon prosesi sonucunda elde edilen % ekstraksiyon veriminin deneysel ve tahmini değerlerini ayrıntılı olarak belirtmektedir.

Deneysel tasarım, her biri üç farklı seviyede değerlendirilen üç bağımsız proses değişkenini ve beş merkezi noktada tekrar denemelerini içeren toplamda 17 deneysel çalışma ile sonuçlanmaktadır. Ekstraksiyon işlemi sonrasında elde edilen cevap (deneysel %verim) değerleri Eşitlik 4.1 kapsamında hesaplanmıştır:

$$\%verim = \frac{C_i}{C_0} \times 100 \quad (4.1)$$

Burada, C_i , ekstraksiyon sonunda elde edilen kütleyi (g), ve C_0 , ekstraksiyon başlangıcında katı kütle miktarını (g) temsil etmektedir.

Tablo 4.2. Box-Bhenken dizayn ile elde edilmiş deney planı ve cevapların deneysel ve tahmini değerleri

Kodlanmış Değerler				Gerçek Değerler			Cevap (% verim)	
Run	A	B	C	Katı/ sıvı (g/ml) A	Ethanol Volume B	Ethanol (%) C	Deneysel Değerler	Tahmini Değerler
1	0	-1	-1	15	1	75	3,32	3,29
2	0	0	0	15	2	85	3,33	3,35
3	1	-1	0	20	1	85	3,78	3,77
4	-1	0	1	10	2	95	2,75	2,71
5	0	1	1	15	3	95	3,12	3,15
6	0	0	0	15	2	85	3,34	3,35
7	-1	1	0	10	3	85	2,86	2,87
8	0	1	-1	15	3	75	3,27	3,26
9	0	0	0	15	2	85	3,35	3,35
10	0	-1	1	15	1	95	3,13	3,14
11	0	0	0	15	2	85	3,38	3,35
12	-1	0	-1	10	2	75	3,03	3,03
13	1	0	1	20	2	95	3,8	3,80
14	1	0	-1	20	2	75	3,71	3,74
15	1	1	0	20	3	85	3,85	3,82
16	-1	-1	0	10	1	85	2,91	2,94
17	0	0	0	15	2	85	3,36	3,35

Tablo 4.2’de % verimin tahmin edilen değerleri, ikinci dereceden etkileşimleri dikkate alan matematiksel bir model aracılığıyla elde edilmiştir.

$$y = X_0 + X_1A + X_2B + X_3C + X_4AB + X_5AC + X_6BC + X_7A^2 + X_8B^2 + X_9C^2 \quad (4.2)$$

Bu bağlamda, y tahmin edilen yanıtı temsil ederken, X₀ y-kesitini belirtmektedir. X₁, X₂ ve X₃ katsayıları doğrusal regresyon ile ilişkilidir; X₄, X₅ ve X₆ ise iki değişken arasındaki etkileşim katsayılarıdır. Ayrıca, X₇, X₈ ve X₉ katsayıları kuadratik (ikinci dereceden) değerlere karşılık gelmektedir. A, B ve C ise bağımsız değişkenlerin kodlanmış değerlerini temsil etmektedir.

Eşitlik (4.2)’den açıkça görüldüğü gibi hem deneysel hem de tahmin edilen değerler arasındaki yakın uyum, modelin iyi bir öngörü doğruluğuna sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca elde edilmiş olan veriler arasında, en yüksek verim 16. çalışmada gözlemlenmiş olup, 20 g/mL katı-sıvı oranı, çözelti hacminin 2 katı oranında etanol hacmi ve %85 etanol konsantrasyonu koşullarında polisakkarit verimi 3,82 g/g olarak elde edilmiştir. Buna karşılık, en düşük verim 4. çalışmada kaydedilmiş (2,75 g/g) tir. Sonuç olarak düşük katı-sıvı oranlarında çalışmanın verimi önemli derecede düşürdüğü tespit edilmiştir.

% Ekstraksiyon verimi için regresyon analizi, bağımsız değişkenler ile cevap amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu analizde lineer, kuadratik, kübik ve 2FI modellerinin karşılaştırmalı bir değerlendirmesi yapılmıştır. Bu modellerin yeterliliği; uyumsuzluk testi, düzeltilmiş R-kare ve tahmini R-kare değerleri olmak üzere üç kriter kullanılarak değerlendirilmiştir. Tablo 4.3 lineer, kuadratik, kübik ve 2FI modellerine göre % verim için model uyum testi sonuçlarını sunmaktadır.

Tablo 4.3. % verim değerleri için model uygunluk analizi verileri.

Kaynak	Sıralı p- değeri	Uyumsuzlu p-değeri	Düzeltilmiş R ²	Tahmini R ²	Remarks
% verim					
Lineer	< 0.0001	0,0026	0,9287	0,8841	
2FI	0,1748	0,0032	0,9423	0,8372	
Kuadratik	0,0011	0,0735	0,9906	0,9463	Önerilen
Kübik	0,0735		0,9966		

Tablo 4.3'ten açıkça görüldüğü gibi % verim için en uygun modelin kuadratik model olduğu tespit edilmiştir. Modelin güvenilirliğini, yüksek düzeltilmiş R² değeri (0,9906) ve tahmini R² değeri (0,9463) desteklemektedir. Ayrıca kuadratik modelin p-değeri de (0,0011) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$); temel parametrelerin yanı sıra kuadratik terimlerinde ekstraksiyon verimi üzerinde etkilerinin olduğunu o ortaya koymaktadır.

Tabloda kübik modelin R² değeri (0,9966) kuadratik modele göre daha yüksek olmasına rağmen p- değerinin istatistiksel olarak anlamlı olmaması ($p = 0,0735$) nedeniyle tercih edilmemiştir. Ayrıca, doğrusal ve 2FI modelleri bazı açılardan istatistiksel olarak anlamlı olsalar da daha düşük R² değerine sahip olmalarından kaynaklı tercih edilmemişlerdir.

% verim cevabını tahmin etmek için **kuadratik** modele ait kodlanmış faktör ve gerçek faktör değerleri kullanılarak elde edilen regresyon denklemleri Eşitlik (4.3) ve (4.4)'te sırasıyla verilmiştir. % verim için cevabın teorik değerleri (tahmin edilen değer veya model denklemleri kullanılarak matematiksel olarak hesaplanan cevap değeri) bu model denklemleri kullanılarak tahmin edilebilmektedir.

$$\% \text{ verim} = +3,35 + 0,4488A - 0,0050B - 0,0662C + 0,03AB + 0,0925AC + 0,01BC + 0,0552A^2 - 0,0573B^2 - 0,0847C^2 \quad (4.3)$$

$$\% \text{ verim} = -0,5673 - 0,1458A + 0,049B + 0,1077C + 0,006AB + 0,01850AC + 0,001BC + 0,0022A^2 - 0,05725B^2 - 0,0008C^2 \quad (4.4)$$

Eşitlik (4.3) ve (4.4)'te A, B ve C, sırasıyla Katı faz/su (g/ml), etanol hacmi (ml) ve etanol konsantrasyonu (%) temsil etmektedir. AB, AC ve BC gibi denklem terimleri iki bağımsız değişkenin etkileşimini sembolize etmektedir, örneğin AB, katı faz/ su oranı ve etanol hacminin etkileşimini ifade etmektedir. Diğer denklem terimleri, A^2 , B^2 ve C^2 , bağımsız değişkenlerin kare etkisini sembolize etmektedir. Parametre katsayılarının negatif işareti bağımsız değişkenlerdeki artışla cevapta azalma olduğunu, pozitif işareti ise bağımsız değişkenlerdeki artışla cevapta artış olduğunu göstermektedir. Eşitlik (4.3) ve (4.4)'ten açıkça görüldüğü gibi, % verim üzerinde sadece bağımsız değişkenlerin değil, bağımsız değişkenlerin hem etkileşimleri hem de kareleri çok önemli bir etkiye sahiptirler.

ANOVA analizi en yüksek verim için optimum proses parametrelerinin (katı faz/su, etanol hacmi, etanol konsantrasyonu) ve bunun yanı sıra proses parametreleri içinde en etkili parametre(lerin) belirlenmesi için yapılmıştır. ANOVA analizinde deneysel veriler %95 güven seviyesi ile regresyon modelinin uygunluğunu anlamak için analiz edilmiş olup bu analiz yöntemi deneysel sonuçların ortalamasının önemli ölçüde farklı olup olmadığını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır.

Deneysel sonuçların doğruluğunu daha güvenli bir şekilde tanımlamak amacıyla % verim değeri için ANOVA analizi ile deneysel verilerin p-değeri, Fischer testi, R-kare değeri ve Lack of fit testleri incelenmiştir. ANOVA analizinde, yüksek F değerine ve düşük p değerine sahip bir modelin anlamlı olduğu kabul edilirken, en düşük p değeri regresyon denklemindeki en etkili parametreyi göstermektedir.

Bu çalışmada, cevap ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkinin araştırılması amacıyla Box-Bhenken dizayn yöntemi ile kuadratik model için ANOVA gerçekleştirilmiştir. % verim için ANOVA sonucu Tablo 4.4'te özetlenmiştir. % verim için ANOVA tablosundan açıkça görülebileceği gibi, modelin p-değeri 0,0001'den küçüktür ve bu nedenle düşük p değeri modelin anlamlı olduğunu göstermektedir.

Ayrıca %verim için modelin F-değeri, 187,87 olarak hesaplanmıştır. % verim için modeldeki çok düşük p değeri, nispeten yüksek F değeri ve R-kare değeri, kuadratik modelin anlamlı olduğunu ve yanıt ile bağımsız değişkenler arasında iyi bir ilişki olduğunu göstermektedir.

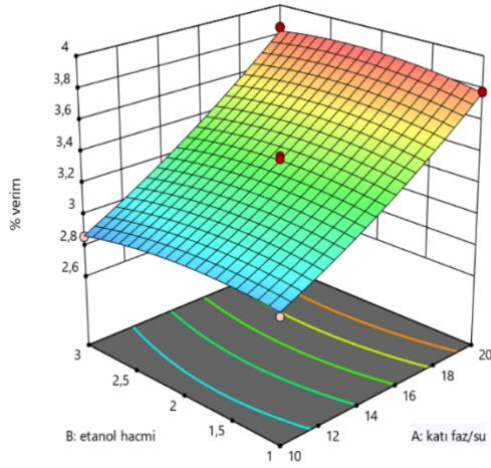
Tablo 4.4 % verim için ANOVA analizi

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F- değeri	p - değeri	
Model	1,74	9	0,1934	187,87	<0,0001	önemli
A-katı faz/su	1,61	1	1,61	1565,18	<0,0001	
B-etanol hacmi	0,0002	1	0,0002	0,1943	0,6726	
C-etanol kons	0,0351	1	0,0351	34,11	0,0006	
AB	0,0036	1	0,0036	3,50	0,1037	
AC	0,0342	1	0,0342	33,25	0,0007	
BC	0,0004	1	0,0004	0,3886	0,5528	
A ²	0,0129	1	0,0129	12,49	0,0095	
B ²	0,0138	1	0,0138	13,41	0,0081	
C ²	0,0302	1	0,0302	29,38	0,0010	
Residual	0,0072	7	0,0010			
Lack of Fit	0,0057	3	0,0019	5,16	0,0735	önemsiz
Pure Error	0,0015	4	0,0004			
Cor Total	1,75	16				

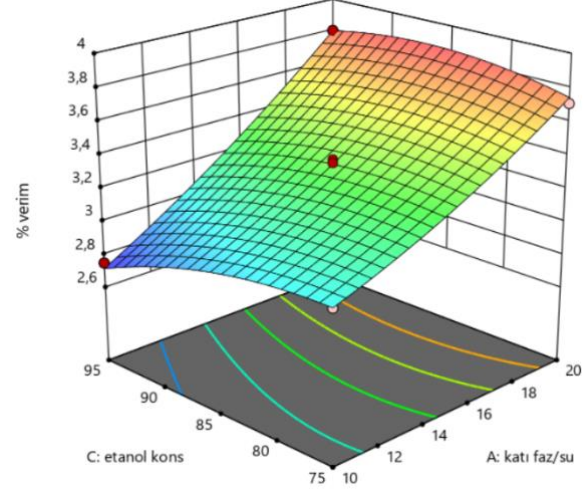
Bağımsız değişkenler ve cevap arasındaki ilişkinin araştırıldığı ANOVA analizine göre (Tablo 4.4), katı faz/su (A), % verim için en yüksek F-değerine sahiptir. Bu sonuç % verim için en etkili bağımsız değişkenin katı faz/su oranı olduğunu göstermektedir. %verim için katı faz/su oranından sonra en yüksek F-değerine etanol konsantrasyonu sahiptir ve bu sonuç etanol konsantrasyonunun % verim üzerine, etanol hacmi değişkeninden daha büyük bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Bağımsız değişkenlerin cevap üzerindeki etkisi Design Expert yazılımı ile CYY kullanılarak 3 boyutlu yüzey grafikleri ile araştırılmıştır. 3B grafiklerde, bir seferde cevap üzerine iki bağımsız değişkenin etkileri incelenmiştir. Kalan bir parametre sabit tutulmuştur çünkü ikiden fazla parametrenin etkisini aynı anda 3B grafiklerde göstermek mümkün değildir.

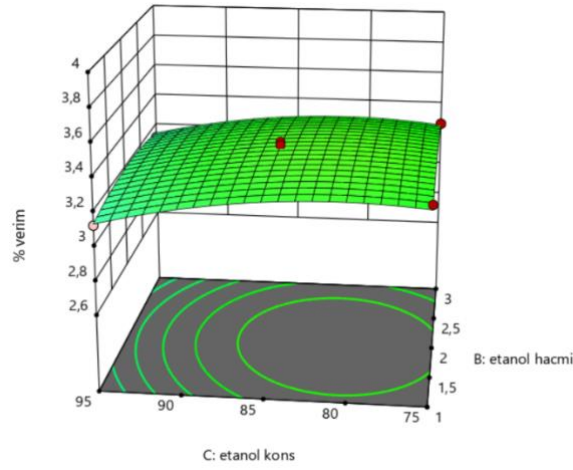
Şekil 4.1 (a), (b) ve (c), sırasıyla % verim üzerine katı faz/su oranı-etanol hacmi, etanol konsantrasyonu-katı faz/su ve etanol hacmi-etanol konsantrasyonu bağımsız değişkenlerinin sinerjik etkisi için 3B cevap yüzeyi grafiklerini temsil etmektedir.



(a)



(b)



(c)

Şekil 4.1. Üç boyutlu cevap yüzey grafikleri. (a) katı faz/su (g/ml) ve etanol hacmi (ml) (b) etanol konsantrasyonu (%) ve katı faz/su (g/ml) (c) etanol hacmi (ml) ve etanol konsantrasyonu (%)’nun % verim üzerindeki etkisini gösteren üç boyutlu cevap yüzey grafikleri.

Şekil 4.1 deki grafiklerden, % verimin, katı faz/ su oranındaki artışla önemli derecede artan bir trend gösterdiği bunun yanı sıra diğer parametreler ile önemli derecede bir değişime sahip olmadığı açıkça görülmektedir.

Sonuç olarak deney sonuçlarından % verim cevabı için optimum koşullar, % verim değerinin maksimum düzeyde olduğu ve bağımsız değişkenlerin deney aralığında olduğu Design Expert yazılımı ile belirlenmiş olup, optimizasyon standardı ve optimum bağımsız değişkenler Tablo 4.5’de verilmiştir. Tablo 4.5’de Katı faz/su oranı (g/ml), Etanol hacmi (ml), Etanol konsantrasyonu (%) için optimum proses değişkenlerinin sırasıyla 1 gr katı faza yaklaşık olarak 20 ml su, otoklavlama işlemi ardından santrifüjleme sonunda elde edilen sıvı hacminin yaklaşık

2 katı kadar etanol ilavesi ve %88 etanol konsantrasyonu olarak belirlendiği görülmektedir. Bu işlem koşullarında % verim değeri 3,851 olarak belirlenmiştir ve % verim için BBD için Design Expert (DOE) sürüm 11.0.5.0 yazılımı (stat-Ease Inc., ABD) tarafından hesaplanan arzu edirlilik derecesi 1'de olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın daha sonraki bölümlerinde hidrojel sentezlemek için gerekli olan meyan kökü polisakkaritleri bu proses şartlarında ekstrakte edilerek kullanılmıştır.

Tablo 4.5. % verim için optimizasyon standartları ve optimum parametreler

<i>Optimization Standart</i>						
Name		Amaç	Alt Sınır	Üst Sınır		
A:Katı Faz/Su		aralıkta	10	20		
B: Etanol Hacmi		aralıkta	1	3		
C:Etanol Konsantrasyonu		aralıkta	75	95		
% verim		maksimun	2,75	3,85		
<i>Optimum variables</i>						
Deney No	Katı Faz/Su (g/ml)	Etanol Hacmi (mL)	Etanol Konsantrasyonu (%)	% Verim	Desirability	
1	19,978	1,909	88,026	3,851	1,000	Seçilen

4.2. Optimum pH ve Sıcaklığın Belirlenmesi

Bu bölümde hidrojel adsorpsiyonu için parametre sayısını daha düşük sayıya indirmek için yani pH ve sıcaklık parametre sayısını sabit tutabilmek amacıyla üç farklı pH ve sıcaklık değerlerinde 9 adet numune sentezlenmiştir. Sentezlenen numunelere ait deney numarası ve deney parametreleri Tablo 4.6'de verilmiştir.

Sentezlenen bu numunelerin öncelikle su absorplama kapasiteleri, invitro bozunma analizleri ve yoğunluk analizleri gerçekleştirilerek optimum pH ve sıcaklık parametreleri belirlenmiştir. Yapılan denemeler sonucunda en yüksek, endüşük, ve orta su absorplama kapasitesine sahip hidrojel numunelerinin SEM, FT-IR ve TGA analizleri saf CS ve GP polisakkaritleri ile karşılaştırmalı olarak karakterize edilmiştir. Her bir karakterizasyon çalışmasının sonuçları aşağıda teker teker verilmiştir.

4.2.1 Optimum sıcaklık ve pH denemeleri için su absorplama kapasiteleri

Bu kapsamda farklı sıcaklık ve pH değerlerinde Tablo 4.6 kapsamında elde edilen hidrojellerin farklı sürelerde (10, 20,30, 60,180, 360, 1440 dk) su absorplama kapasiteleri belirlenmiştir. 9

adet numuneye ait su absorplama kapasitelerine ait verilerin grafikleri Şekil 4.2’de verilmiştir. Şekil 4.2 1440 dakika boyunca hidrojenlerin şişme davranışını gösterirken, Tablo 4.6’de deneysel parametrelerin yanı sıra, su absorplama kapasitesi için kullanılan hidrojenlerin başlangıç kuru ağırlığı (m_0), 60 dakika ve 24 saatteki ilgili su absorplama yüzdeleri özetlenmiştir.

Tablo 4.6. Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sentezlenen hibrit hidrojenlerin sentezleme parametreleri ve su absorplama kapasiteleri.

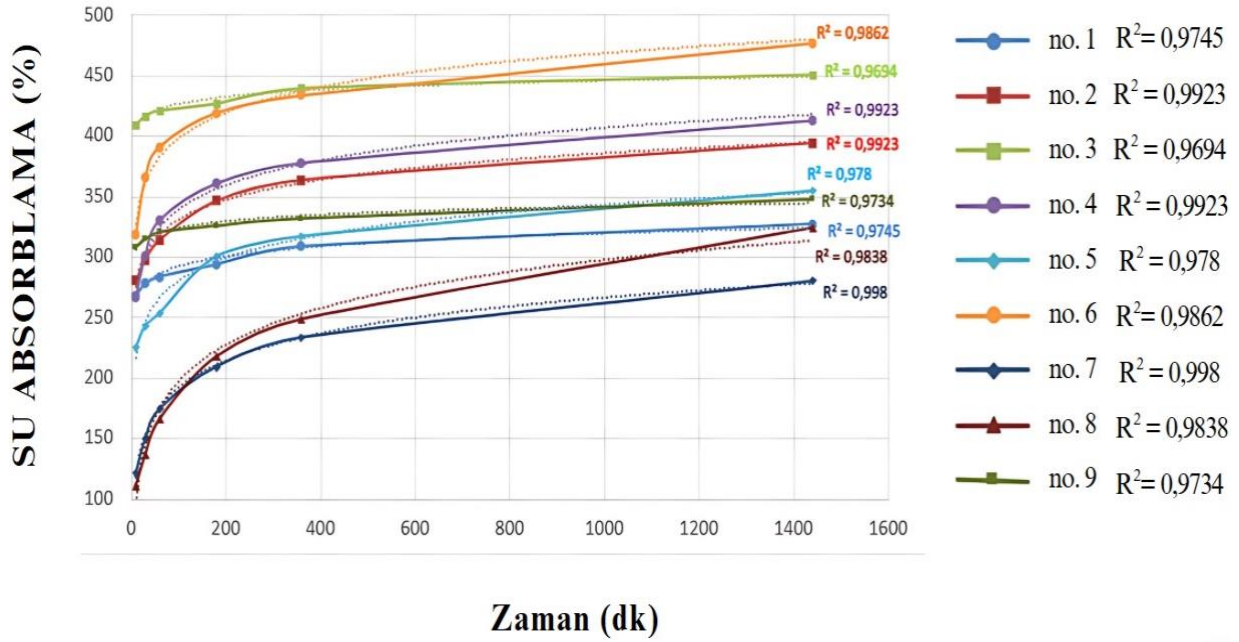
no	pH	T (C)	m_0	S % 60 min	S % 24hr	R2
1	7	40	0,3580	383	456	0,9745
2	5	40	0,4235	314	395	0,9923
3	9	40	0,4214	421	450	0,9694
4	7	50	0,2984	330	412	0,9923
5	5	50	0,4547	253	354	0,978
6	9	50	0,4317	391	478	0,9862
7	7	60	0,4132	174	279	0,998
8	5	60	0,4707	166	224	0,9838
9	9	60	0,3707	321	353	0,9734

Örneğin Tablo 4.6’de verilmiş olan 6 numaralı denemede (pH 9, 50°C) 24 saat sonunda %478 su absorplama değerine ulaşılmıştır. Ancak pH 9’da sentezlenen örneklerde hidrojel matrisi parçalar halinde dağılarak su absorplamaya devam etmiştir. Bu durum pH 9 sentezlenen numunelerin absorplama prosesi sırasında yapısal kararsızlık sergilemiş olmasının bir göstergesidir. Bunun aksine pH 5’te hazırlanan hidrojenler (2, 5 ve 8 numaralı denemeler) en düşük su absorplama performansını gösteren hidrojenlerdir.

Örneğin 8 numaralı denemede (pH 5, 60°C) elde edilen hidrojenin su absorplama kapasitesi için kullanılmış olan başlangıç kuru ağırlığı diğer başlangıç kuru ağırlıklarına kıyasla daha yüksek olmasına (0.4707 g) rağmen, 60. Dakikada sadece %166 ve 24 saatte ise %224 su absorplama %’sine ulaşmıştır. Bu durumun sebebinin asidik koşullarda kitosanın amin gruplarının artan protasyonu ve bunun sonucunda polimer yapının daha iç içe geçmiş halde oluşarak ağ genişlemesini baskılaması olduğu düşünülmektedir.

Bunun yanı sıra pH 7’de sentezlenen hidrojenler daha dengeli bir profil sunmuş, tatmin edici su absorplama kapasitesi sergileyerek, absorplama prosesi sırasında yapısal bütünlüğünü korumuştur. Bu nedenle, sonraki çalışmalar, hidrojen bütünlüğünden ödün vermeden optimal performans sağlamak amacıyla nötr pH koşullarında gerçekleştirilmiştir.

%SU ABSORBLAMA KAPASİTESİNİN ZAMANLA DEĞİŞİMİ



Şekil 4.2 Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sentezlenen kitosan–meyan kökü hibrit hidrojellerinin 24 saatlik su emme davranışı.

Hidrojel sentezine sıcaklığın etkisine baktığımızda özellikle alkali pH’ta yüksek sıcaklıklarda sentezlenmiş olan hidrojellerin su absorplama kapasitesinin yüksek olduğu görülmektedir. Örneğin, 3 (pH 9, 40°C) ve 6 (pH 9, 50°C) numaralı sentezde hidrojeller yüksek şişme göstermiş, ancak etki 50°C’de daha belirgin hale gelmiştir. Ancak, düşük pH (5) ve yüksek sıcaklık değerlerinde sentezlenen hidrojellerin su absorplama kapasitesinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Bunun yanı sıra pH 7’de 40°C’de sentezlenen hidrojel daha fazla su absorplama kapasitesine sahipken, 60°C’de hazırlanan numune ciddi oranda daha az su absorplama kapasitesine sahiptir. Bu durumun sebebinin özellikle nötr pH’ta yüksek sentez sıcaklığının, yapıyı bozarak veya gözenekliliği azaltarak su absorplama kapasitesini düşürdüğü düşünülmektedir.

Şekil 4.2’den açıkça görüldüğü gibi tüm örnekler, ilk saat içinde hızlı bir alımla başlayan ve ardından 24 saat boyunca dengeye yaklaşan daha yavaş bir faz ile karakterize edilen logaritmik bir su absorplama eğrisini takip etmektedir. Su absorplama eğrileri için R^2 değerleri (0,9694 ile 0,998 arasında) logaritmik modelle çok güçlü bir uyumu göstererek, su absorplama prosesinin farklı sentez koşulları altında tutarlı ve tekrarlanabilir olduğunu doğrulamaktadır.

4.2.2 Optimum sıcaklık ve pH denemeleri için hidrojellerin in-vitro bozunma denemeleri ve yoğunluk analizleri

In vitro bozunma çalışmaları, özellikle biyomedikal ve kozmetik uygulamalarda, hidrojin uzun vadeli performansını ve yapısal stabilitesini değerlendirmek açısından büyük önem taşımaktadır. Bu testler, hidrojel matrisinin zamanla nasıl yavaşça parçalandığını gözlemlemek amacıyla fizyolojik ortamları taklit etmektedir. Bozunma profili, materyalin biyouyumluluğu, kalış süresi ve kontrollü salım davranışı hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Bozunmayı etkileyen en kritik faktörlerden biri, hidrojel ağının yoğunluğudur.

Daha yüksek çapraz bağlanma yoğunluğuna veya sıkı polimer yapısına sahip hidrojeller, daha gevşek bir yapının su ve polimer zincirlerinin hareketliliğini sınırlandırması nedeniyle genellikle daha yavaş bozunmaktadır. Buna karşılık, gevşek çapraz bağlı veya düşük yoğunluklu hidrojeller, daha fazla sıvı geçişi ve yapısal esneklik nedeniyle genellikle daha hızlı bozulmaktadır. Ayrıca, polimer bileşimi (örneğin, kitosan, doğal polisakkaritler), pH, sıcaklık ve enzim varlığında bozunma davranışını önemli ölçüde etkilemektedir.

Bu nedenle, in vitro bozunma testleri sadece formülasyon parametrelerinin optimize edilmesine yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda biyolojik koşullardaki materyal davranışının öngörülmesini de sağlar; böylece, amaçlanan uygulama için mekanik stabilite ile biyobozunabilirlik arasında bir denge kurulmasına olanak tanımaktadır. Bu kapsamda yapılmış olan in-vitro bozunma testlerine ve yoğunluk analizlerine ait veriler Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7. Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sentezlenen hibrit hidrojellerin yoğunluk ve farklı sürelerdeki invitro bozunma denemeleri

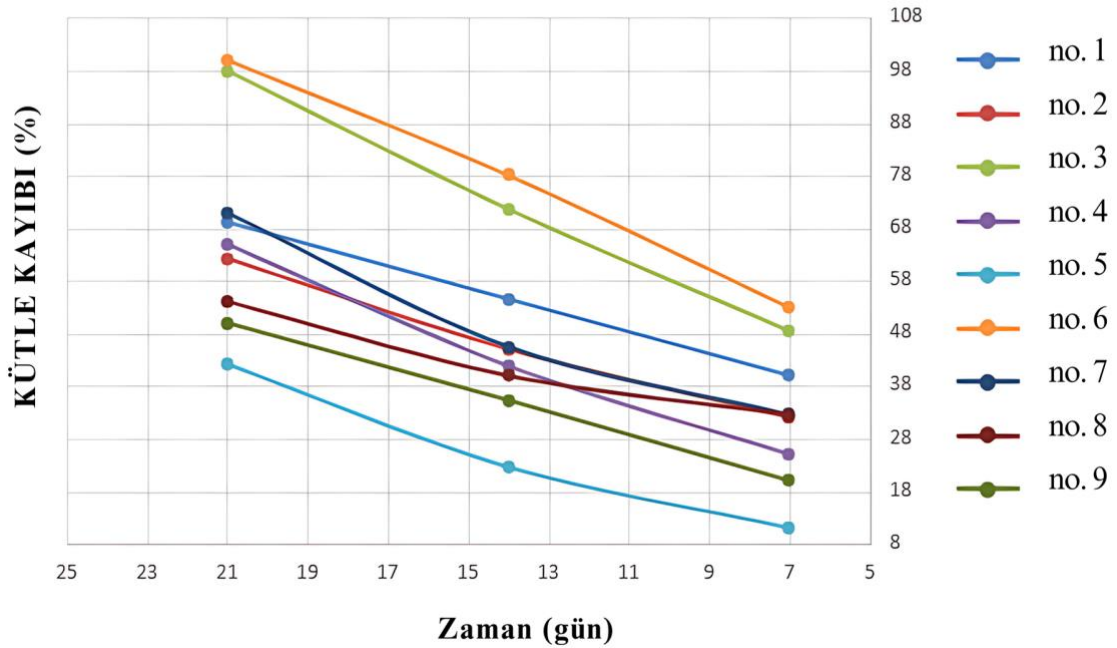
no	pH	T (C)	m0	p	DR% (7 gün)	DR% (14 gün)	DR% (21 gün)
1	7	40	0,3580	0,228	40	55	69
2	5	40	0,4235	0,270	32	45	62
3	9	40	0,4214	0,268	48	72	98
4	7	50	0,2984	0,190	25	42	65
5	5	50	0,4547	0,290	11	23	42
6	9	50	0,4317	0,275	53	78	100
7	7	60	0,4132	0,263	33	45	71
8	5	60	0,4707	0,300	33	40	54
9	9	60	0,3707	0,236	35	50	72

Tablo 4.7’den açıkça görüldüğü gibi sentezlenen hidrojellerin bozulma hızı sentez pH’ı ve sıcaklığından önemli ölçüde etkilenmiştir. pH 9 ’da sentezlenen hidrojeller, örneğin 6 numaralı deneme (pH 9, 50°C), en yüksek bozulma oranını göstermiş ve 28. gün itibarıyla %100 kütle kaybına ulaşmıştır.

Bu örnek sentezlenen örnekler arasında orta yoğunluğa sahiptir ($\rho = 0,275 \text{ g/cm}^3$), bu da alkali sentez koşullarında orta derecede yoğunluğa sahip yapıların tamamen bozulabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, deneme 3 (pH 9, 40°C) 28. günde %98 bozulmaya ulaşmış ve alkali pH’ın daha hızlı bozulmaya sebep olduğunu desteklemiştir. Bunun sebebinin alkali sentez ortamında zayıf moleküller arası etkileşimlerin daha zayıf olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Buna karşılık, pH 5 ’te hazırlanan örnekler, örneğin deneme 5 (pH 5, 50°C) ve 8 (pH 5, 60°C), en düşük bozulma yüzdelerini göstermiştir. Bu denemelere ait 28. günde bozunma yüzdeleri sırasıyla yalnızca %42 ve %54 kütle kaybı şeklinde gerçekleşmiştir. Ayrıca bu denemeler tüm örnekler arasında en yüksek yoğunluklara ($\rho = 0,290$ ve $0,300 \text{ g/cm}^3$) sahip denemelerdir. Bu sonuçlar, daha yüksek yoğunluktaki hidrojellerin özellikle asidik sentez koşullarında, polimer–polimer etkileşimlerini güçlendirip matrikse sıvı penetrasyonunu sınırlayarak daha yavaş bozunduğunu göstermektedir.

ZAMANLA HİDROJELLERİN KÜTLE KAYIBI



Şekil 4.3. Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sentezlenen kitosan–meyan kökü hibrit hidrojellerinin 24 saatlik su emme davranışı.

Şekil 4.3'teki grafiksel verilerden de açıkça görüldüğü gibi alkali koşullar için dik bozulma eğrileri, asidik koşullar için ise daha yatay eğilimler gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, hem hidrojellerin yoğunluğu hem de sentez koşulları (pH ve sıcaklık), kitosan–meyan kökü hidrojellerinin bozulma hızını kontrol etmede sinerjik bir rol oynamaktadır. Daha düşük pH ve daha yüksek yoğunluk bozulma sürecini yavaşlatırken, alkali pH bu süreci hızlandırmaktadır. Bu bulgular, kontrollü bozulma gerektiren biyomedikal uygulamalarda hidrojel ömrünü ayarlamak açısından kritik öneme sahiptir.

Yapılan bu çalışmalara ve analizlere göre en yavaş sentezleme sıcaklığı 40°C ve pH 7 olduğundan dolayı bir sonraki oran çalışmasında bu değerler sabit tutularak hibrit hibrit hidrojellerin sentezlenmesi planlanmıştır.

4.2.3 Optimum sıcaklık ve pH denemeleri için hidrojellerin FT-IR, TGA ve SEM analizleri

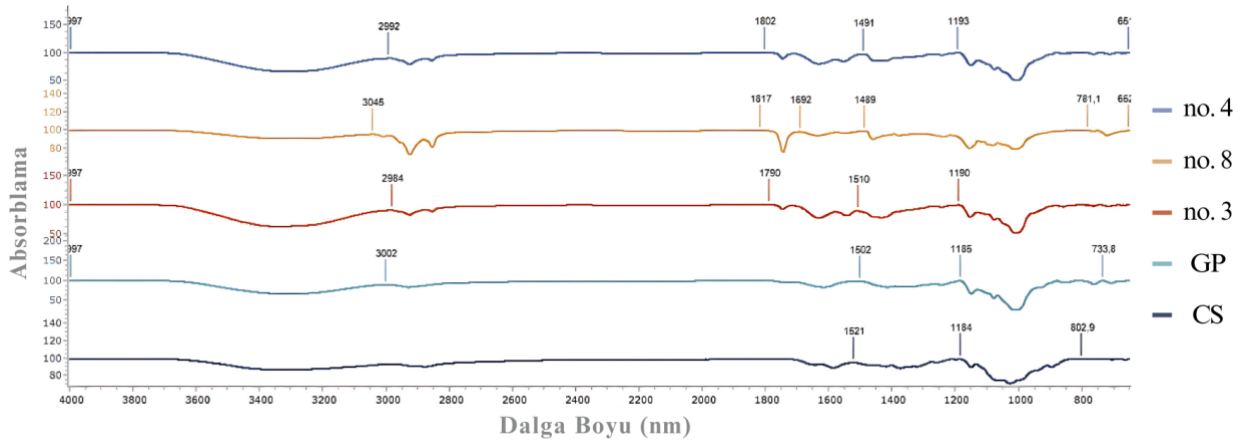
Farklı sıcaklık ve pH denemeleri sonucunda elde edilen en yüksek, orta ve düşük su absorplama kapasitesine sahip olan hidrojellerin karakterizasyonu amacıyla bu hidrojellere FT-IR, TGA ve SEM analizleri uygulanmıştır. Bu kapsamda kullanılmış olan denemeler 4, 8 ve 3 numaralı denemelerdir. Bu denemelerin FT-IR, TGA ve SEM analizleri saf GP ve CS ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Bu kapsamda Şekil 4.4 FT-IR sonuçlarını, Şekil 4.5 TGA analizi sonuçlarını ve Şekil 4.6 SEM analizi sonuçlarını temsil etmektedir.

Kitosan (CS), GP (GP) ve bu iki bileşenden elde edilen hibrit hidrojellerin (3, 8, 4) ve CS ve GP polisakkaritlerinin FTIR spektrumları Şekil 4.4'te sunulmuştur. Tüm spektrumlar 4000–650 cm^{-1} aralığında kaydedilmiştir. Kitosan'a ait spektrumda 1521 cm^{-1} 'de gözlenen bant –NH₂ gruplarının bükülme titreşimlerine, 1184 cm^{-1} ve 802.9 cm^{-1} bantları ise sırasıyla C–O–C gerilmesi ve glikozidik halka titreşimlerine karşılık gelmektedir.

GP spektrumunda 1502 cm^{-1} (aromatik C=C) ve 733.8 cm^{-1} (glikozidik yapı) pikleri dikkat çekmektedir. Hibrit hidrojellere ait spektrumlar, hem KS hem de GP'ye özgü karakteristik bantları içermektedir. Örneğin 3 numaralı denemde 2984 cm^{-1} 'de alifatik CH gerilmesi, 1790 cm^{-1} 'de karbonil (C=O) grubuna ait belirgin bir pik gözlenmektedir.

Denem 8'de ise 3045 cm^{-1} 'de OH/NH gerilmesi genişlemiş olup, 1692 cm^{-1} 'deki C=O gerilme bandında kayma mevcuttur. Bu durum, GP içeriğindeki flavonoid karbonil grupları ile kitosanın amino grupları arasında olası hidrojen bağları ve/veya elektrostatik etkileşimlerin varlığına

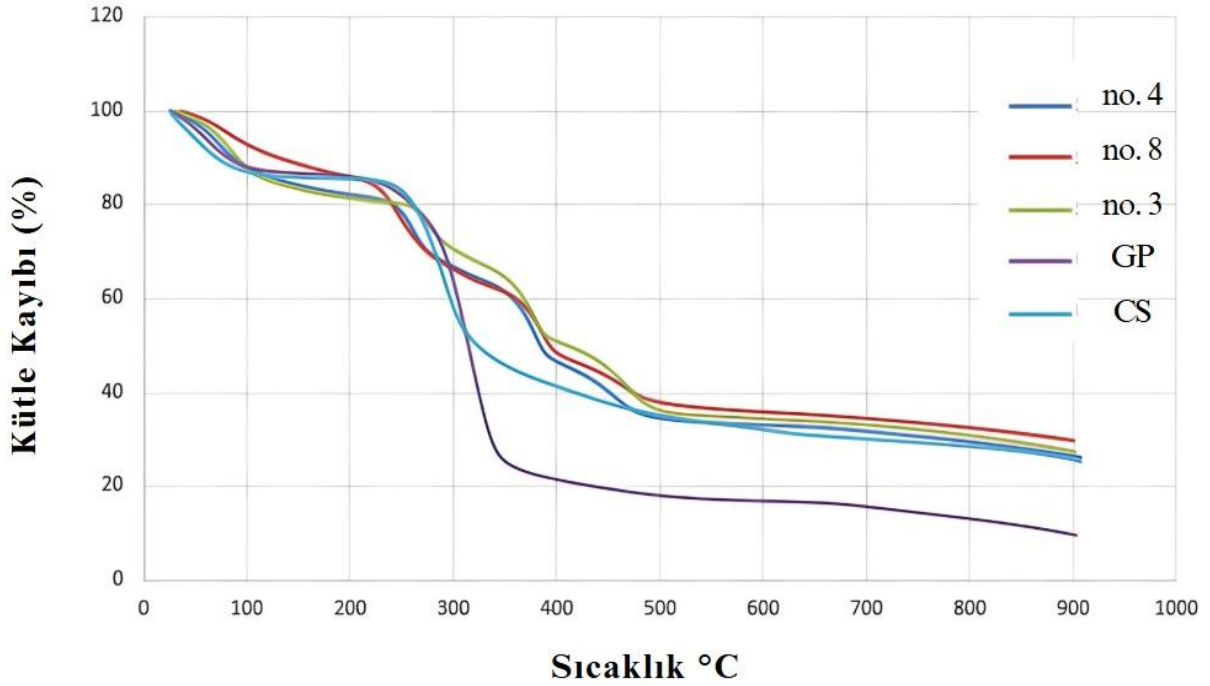
işaret etmektedir. Ayrıca, hibrit spektrumlarında pik genişlemeleri ve frekans kaymaları, iki bileşenin fiziksel ve muhtemel kimyasal etkileşimlerinin varlığını desteklemektedir. Özellikle 1500–1200 cm^{-1} aralığındaki C–N ve C–O gerilme bantları, yapısal birleşmenin bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Bu bulgular, kitosan ve GP arasında başarılı bir hibrit yapı oluştuğunu ve bu yapının FTIR ile doğrulandığını göstermektedir.



Şekil 4.4. Kitosan (CS), ekstrakt edilen (GP) ve birinci aşamada sentezlenen 4, 8 ve 3 numunelerin FTIR sonuçları.

Şekil 4.5’te verilmiş olan Termogravimetrik analiz (TGA) eğrisi, saf kitosan (CS), meyan kökü polisakkaridinin (GP) ve farklı koşullarda üretilen su absorplama kapasitesi en yüksek düşük ve orta olan üç hibrit hidrojel formülasyonunun deneme 3 (pH 9, 40°C), 4 (pH 7, 50°C) ve 8 (pH 5, 60°C) termal bozunma prosesini ortaya koymaktadır. Saf kitosanın (açık mavi) TGA eğrisi, karakteristik iki aşamalı bir bozunma süreci sergilemektedir: 100°C’nin altında nemin buharlaşmasına bağlı olarak ilk ağırlık kaybı ve ardından 260–350°C arasında polimer omurgasının parçalanmasını gösteren önemli termal ayrışma meydana gelmiştir.

Benzer şekilde, meyan kökü polisakkaridi (mor), daha düşük moleküler ağırlığı ve daha az kristalin yapısı nedeniyle 200°C civarında başlayıp 600°C’ye kadar süren, daha yavaş ve daha düşük termal kararlılık gösteren kademeli bir bozunma göstermiştir. Buna karşılık, hibrit hidrojeller (Deneme 3, 4 ve 8), bileşenlerine kıyasla gelişmiş termal stabilite sergilemişlerdir. Üçü de çok aşamalı bir bozunma deseni göstermiştir. Bu evreler, başlangıç fazı (nem kaybı), ana ayrışma evresi (~250–400°C) ve bunu takip eden kademeli bir azalma evresidir.

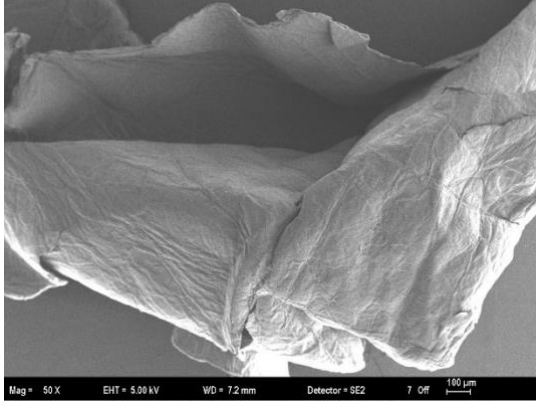


Şekil 4.5. Kitosan (CS), ekstrakt edilen (GP) ve birinci aşamada sentezlenen 4, 8 ve 3 numunelerin TGA sonuçları.

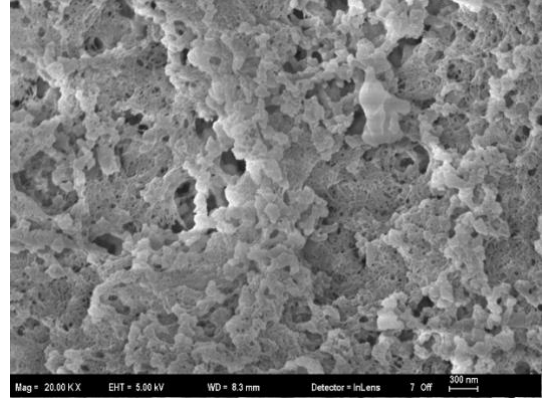
Hibrit hidrojeller arasında, Numune 3 (pH 9, 40°C) en yüksek termal dayanımı göstermiş ve yüksek sıcaklıklarda daha fazla kütle korumuştur. Bu durum, sentez sırasında alkali koşulların CS ve GP arasında daha güçlü moleküller arası etkileşimleri veya kısmi çapraz bağlanmayı teşvik edebileceğini düşündürmektedir.

Deneme 4 (pH 7, 50°C) de nispeten stabil bir bozunma davranışı göstermiş, ancak Numune 3'ten biraz daha erken ayrışmaya başlamıştır. Buna karşılık, Deneme 8'in (pH 5, 60°C), hibritler arasında en düşük termal kararlılığa sahip olduğu belirlenmiş ve bozunma deseni meyan köküne oldukça benzemiştir. Bu durumun, asidik ve yüksek sıcaklıkta sentez koşullarında bileşenler arasında daha zayıf hidrojen bağları oluşumunda veya azalmış uyumluluktan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

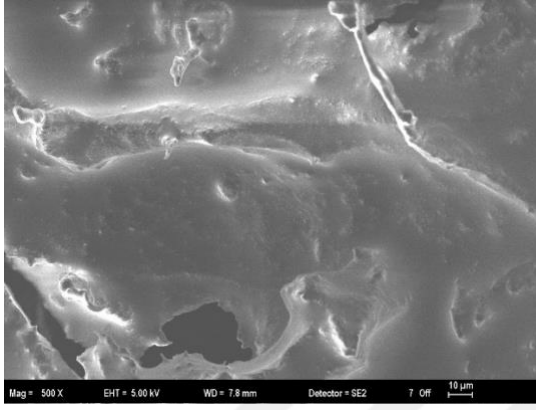
Genel olarak, TGA profilleri, meyan kökü polisakkaridinin kitosan matrislerine dahil edilmesinin termal davranışı değiştirebileceğini; sentez sırasında pH ve sıcaklığın, nihai hidrojel ağının termal dayanıklılığı ve yapısal bütünleşmesi açısından kritik öneme sahip olduğunu doğrulamaktadır. Şekil 4.6 Saf kitosan (CS), meyan kökü polisakkariti (GP) ve farklı pH ve sıcaklık koşullarında sentezlenen seçilmiş hibrit hidrojel örneklerinin yüzey özelliklerinin SEM analizini sunmaktadır.



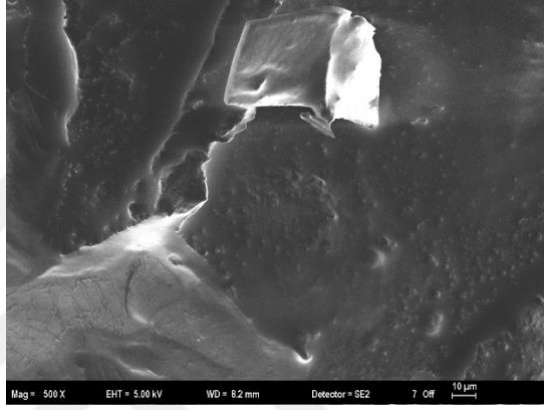
(a) CS



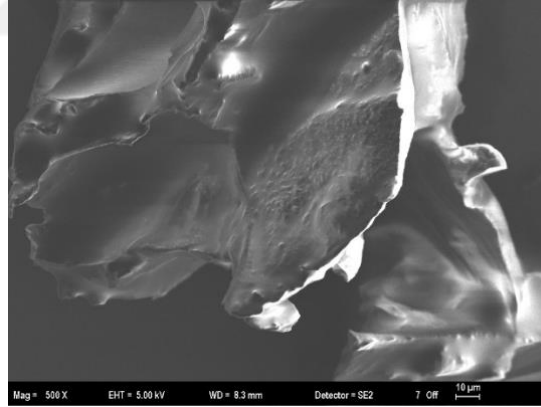
(b) GP



(c) 3



(d) 4



(e) 8

Şekil 4.6. Kitosan (CS), ekstrakt edilen (GP) ve birinci aşamada sentezlenen 4, 8 ve 3 numunelerin SEM sonuçları.

Saf kitosanın mikrografı (a), yarı kristalin yapısını ve sınırlı porozitesini gösteren, nispeten düzgün ve lifsi bir yüzeye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Buna karşılık, meyan kökü polisakkariti (b) düzensiz, süngersi bir yapıyla birlikte kaba ve gözenekli bir doku sergilemektedir ve bu görüntü amorf ve dallanmış polisakkarit yapısıyla tutarlıdır.

Diğer taraftan, pH 9 ve 40°C’de üretilen hibrit hidrojel (c), görünür mikrogözeneklere sahip, bir miktar heterojen ve parçalanmış bir morfoloji sunmaktadır. Yapının daha az kompakt olması, yüksek pH’da kitosanın deprotonize olmuş amino grupları arasındaki itici etkileşimlerden kaynaklanmakta olduğu düşünülmektedir; bu durum matriksin genişlemesine ve daha zayıf polimer ağ yapısının oluşmasına yol açabileceği ön görülmektedir.

Bu gevşek matris, örneğin yüksek su emilimi ve hızlı bozunma davranışıyla uyumludur. Deneme 4’te (pH 7, 50°C), morfolojinin daha uyumlu, yüzeyde daha düzgün bölgeler ve daha az boşlukla karakterize olduğu gözlemlenir. Bu durum, nötr koşullarda kitosan ile meyan kökü polisakkariti arasında daha iyi bir uyumluluğu gösterir ve gelişmiş ağ bütünlüğü sağladığı düşünülmektedir. Azalan porozite, artırılmış mekanik stabilite ve orta düzeyde şişme/bozunma performansı ile ilişkilidir.

Buna karşılık, Deneme 8 (pH 5, 60°C) daha yoğun ve kompakt, daha az gözenekli ve daha keskin kenarlı bir yüzey sergilemektedir. Asidik ortam, daha güçlü hidrojen bağları oluşumunu ve polimer zincirlerinin daha yoğun gelişmesini teşvik etmiştir; bunun su alımının azalmasına ve daha yavaş bozunmaya yol açtığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, morfolojide kısmi yapı çökmesi veya kırılabilirliğe neden olabilecek, yüksek sentez sıcaklığından kaynaklanan termal gerilme belirtileri de gözlenmektedir.

Özetle, SEM analizi sentezdeki pH ve sıcaklığın hidrojel mikro yapısını önemli ölçüde etkilediğini doğrulamaktadır. Alkali koşullar daha açık ve parçalanmış yapılar ortaya çıkarırken, asidik ve yüksek sıcaklık ortamları daha yoğun ve katı morfolojileri teşvik ettiği belirlenmiştir. Bu yapısal farklılıklar, nihai hidrojel sistemlerinin şişme, mekanik stabilite ve bozunma davranışı gibi fiziksel özelliklerini doğrudan etkilemektedir.

4.3. Kitosan Meyan Kökü Hidrojel Sentezinde Optimum Parametrelerin Belirlenmesi

Bu çalışmada Kitosan/Meyan Kökü hidrojellerinin sentezine kitosan miktarı (%) meyan kökü polisakkariti miktarı (%) ve Kitosan meyan kökü oranı proses bağımsız değişkenlerinin etkilerini belirlemek ve bu parametreleri optimize etmek amacıyla Box-Bhenken dizayn (BBD) tasarım yöntemi kullanılarak bir deney planı oluşturulmuştur.

Deney planında cevap olarak hidrojel karakterizasyonunda önemli bir analiz olan su absorplama kapasitesi değerlendirilmiştir. Veriler hem lineer hemde ikinci dereceden etkilerin değerlendirilmesine olanak tanıyan quadratik bir denklemle modellenmiştir. Deneysel tasarım

Dizayn Expert 11.0.5.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Deneysel planda kullanılan proses değişkenlerinin kodlanmış ve gerçek değerleri Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. CS/GP hibrit hidrojellerin % su basorplama kapasitesi için her bir parametrenin gerçek ve kodlanmış değerleri

Bağımsız Değişkenler	Sembol	Seviyeler		
		-1	0	1
Kitosan Miktarı (%)	A	3	4	5
GP Miktarı (%)	B	10	12,5	15
Kitosan/GP Oranı g/g	C	0,5	1	1,5

Tablo 4.9, hem kodlanmış hem de gerçek proses değişkenlerini içeren deneysel tasarım matrisini sunmaktadır. Ayrıca, sentezlenen hidrojellerin % su absorplama kapasitesi sonucunda elde edilen % su absorplama kapasitelerinin deneysel ve tahmini değerlerini ayrıntılı olarak belirtmektedir. Deneysel tasarım, her biri üç farklı seviyede değerlendirilen üç bağımsız proses değişkenini ve beş merkezi noktada tekrar denemelerini içeren toplamda 17 deneysel çalışma ile sonuçlanmaktadır.

Tablo 4.9’da % verimin tahmin edilen değerleri, daha önce ekstraksiyon verimi içinde kullanılmış olan ikinci dereceden etkileşimleri dikkate alan matematiksel bir model (Eşitlik 4.2) aracılığıyla elde edilmiştir.

Tablo 4.9’dan açıkça görüldüğü gibi %su absorplama kapasitesi için hem deneysel hem de tahmin edilen değerler arasındaki yakın uyum, modelin iyi bir öngörü doğruluğuna sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca elde edilmiş olan veriler arasında, en yüksek su absorplama kapasitesine sahip hidrojel 4 numaralı çalışmada gözlemlenmiş olup, %3’lük CS, %15’lik GP çözeltilerinin ve CS/GP oranının 1/1 kullanılması durumunda elde edilmiş olup bu şartlardaki % su absorplama kapasitesi %385 olarak belirlenmiştir. Buna karşılık, en düşük su absorplama yüzdesi 17 numaralı çalışmada (%270) kaydedilmiştir.

17 numaralı çalışmada ise %5 CS, %12,5 GP ve 0.5 CS/GP oranı kullanılmıştır. Denemeler sonunda elde edilen bu sonuçlar hem polimer içeriğinin hem de CS/GP oranının elde edilen hidrojin % su absorplama kapasitesini önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir.

Özellikle, orta düzeyde CS içeren (%3–4) ve CS/GP oranı 1.0’a yakın olan formülasyonlar genellikle daha yüksek % su absorplama değerleri sergilemiştir. Bu durumun optimal çapraz bağlanma yoğunluğu ve hidrofilik etkileşim bölgeleriyle ilgili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca,

deneysel ve tahmin edilen değerler arasındaki yakın uyum (örneğin, Deneme 1: %292 deneysel ve %292 tahmini) kullanılan istatistiksel modelin geçerliliğini doğrulamaktadır.

Tablo 4.9 Box-Bhenken dizayn ile elde edilmiş deney planı ve cevapların deneysel ve tahmini değerleri

Deneme	Kodlanmış Değerler			Gerçek Değerler			Cevap	
	A	B	C	CS miktarı % A	GP miktarı % B	CS/GP oranı (g/g) C	% su absorplama Deneysel Değerler	Tahmini Değerler
1	0	0	0	4	12,5	1	292	292
2	-1	0	1	3	12,5	1,5	310	315
3	-1	-1	0	3	10	1	347	344
4	-1	1	0	3	15	1	385	382
5	1	-1	0	5	10	1	343	346
6	-1	0	-1	3	12,5	0,5	356	357
7	0	0	0	4	12,5	1	275	292
8	0	1	-1	4	15	0,5	348	351
9	0	0	0	4	12,5	1	307	292
10	1	1	0	5	15	1	272	275
11	0	-1	1	4	10	1,5	368	366
12	0	1	1	4	15	1,5	333	331
13	0	-1	-1	4	10	0,5	347	349
14	0	0	0	4	12,5	1	291	292
15	0	0	0	4	12,5	1	296	292
16	1	0	1	5	12,5	1,5	303	302
17	1	0	-1	5	12,5	0,5	270	265

% su absorplama kapasitesi için regresyon analizi, bağımsız değişkenler ile cevaparasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu analizde lineer, kuadratik, kübik ve 2FI modellerinin karşılaştırmalı bir değerlendirmesi yapılmıştır. Bu modellerin yeterliliği; uyumsuzluk testi, düzeltilmiş R-kare ve tahmini R-kare değerleri olmak üzere üç kriter kullanılarak değerlendirilmiştir. Tablo 4.10 lineer, kuadratik, kübik ve 2FI modellerine göre % su absorplama kapasitesi için model uyum testi sonuçlarını sunmaktadır.

Tablo 4.10'dan açıkça görüldüğü gibi % su absorplama kapasitesi için en uygun modelin kuadratik model olduğu tespit edilmiştir. Modelin güvenilirliğini, yüksek düzeltilmiş R² değeri (0,9272) ve tahmini R² değeri (0,8671) desteklemektedir. Bu iki değer birbirine yakın olması (fark < 0.2), modelin uyarlanmış ve tahmin edilen yanıtları arasında iyi bir uyum olduğunu ve modelin güçlü bir sağlamlık ile genellenebilirliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.10. % su absorplama kapasitesi için model uygunluk analizi verileri.

Kaynak	Sıralı p- değeri	Uyumsuzlu p-değeri	Düzeltilmiş R ²	Tahmini R ²	Remarks
% Su absorplama kapasitesi					
Lineer	0,1886	0,0157	0,1369	-0,2574	
2FI	0,2261	0,0177	0,2596	-0,5021	
Kuadratik	0,0002	0,8285	0,9272	0,8671	Önerilen
Kübik	0,8285		0,8957		

Ayrıca kuadratik modelin p-değeri de (0,0002) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$); temel parametrelerin yanı sıra kuadratik terimlerinde % su absorplama kapasitesi üzerinde etkilerinin olduğunu o ortaya koymaktadır. Öteyandan, hem lineer hem de 2FI modelleri negatif tahmini R² değerleriyle (sırasıyla -0,2574 ve -0,5021) zayıf bir performans sergilemiş, bu da bu modellerin sistemin karmaşıklığını yeterince yansıtamadığını göstermiştir.

% su absorplama kapasitesini tahmin etmek için **kuadratik** modele ait kodlanmış faktör ve gerçek faktör değerleri kullanılarak elde edilen regresyon denklemleri Eşitlik (4.5) ve (4.6)'da sırasıyla verilmiştir. Absorplanma kapasitesi için cevabın teorik değerleri (tahmin edilen değer veya model denklemleri kullanılarak matematiksel olarak hesaplanan cevap değeri) bu model denklemleri kullanılarak tahmin edilebilmektedir.

$$\% \text{ su absorplama} = +292,20 - 26,25A - 8,38B - 0,8750C - 27,25AB + 19,75AC - 9,00BC + 2,65A^2 + 41,90B^2 + 14,90C^2 \quad (4.5)$$

$$\% \text{ su absorplama} = +1113,33 + 49,30A - 120,15B - 188,95C - 10,90AB + 39,5AC - 7,2BC + 2,65A^2 + 6,704B^2 - 59,60C^2 \quad (4.6)$$

ANOVA analizi en yüksek % su absorplama kapasitesi için optimum proses parametrelerinin (CS konsantrasyonu, GP konsantrasyonu, CS/GP oranı) ve bunun yanı sıra proses parametreleri içinde en etkili parametre(lerin) belirlenmesi için yapılmıştır. ANOVA analizinde deneysel veriler %95 güven seviyesi ile regresyon modelinin uygunluğunu anlamak için analiz edilmiş olup bu analiz yöntemi deneysel sonuçların ortalamasının önemli ölçüde farklı olup olmadığını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır.

Deneyisel sonuçların doğruluğunu daha güvenli bir şekilde tanımlamak amacıyla % su absorplama kapasitesi değeri için ANOVA analizi ile deneyisel verilerin p-değeri, Fischer testi, R-kare değeri ve Lack of fit testleri incelenmiştir. ANOVA analizinde, yüksek F değerine ve düşük p değerine sahip bir modelin anlamlı olduğu kabul edilirken, en düşük p değeri regresyon denklemindeki en etkili parametreyi göstermektedir. Bu çalışmada, cevap ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkinin araştırılması amacıyla Box-Bhenken dizayn yöntemi ile kuadratik model için ANOVA gerçekleştirilmiştir. % su absorplama kapasitesi için ANOVA sonucu Tablo 4.11'de özetlenmiştir.

Tablo 4.11 % su absorplama kapasitesi için ANOVA analizi

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri	
Model	19704,42	9	2189,38	23,65	0,0002	önemli
A-Kitosan Miktarı	5512,50	1	5512,50	59,54	0,0001	
B-GP Miktarı	561,13	1	561,13	6,06	0,0433	
C-CS/GP Oranı	6,13	1	6,13	0,0662	0,8044	
AB	2970,25	1	2970,25	32,08	0,0008	
AC	1560,25	1	1560,25	16,85	0,0045	
BC	324,00	1	324,00	3,50	0,1036	
A ²	29,57	1	29,57	0,3194	0,5896	
B ²	7392,04	1	7392,04	79,85	<0,0001	
C ²	934,78	1	934,78	10,10	0,0155	
Residual	648,05	7	92,58			
Lack of Fit	117,25	3	39,08	0,2945	0,8285	önemsiz
Pure Error	530,80	4	132,70			
Cor Total	20352,47	16				

% su absorplama kapasitesi için ANOVA tablosundan açıkça görülebileceği gibi, modelin p-değeri 0,05'den küçüktür ve bu nedenle düşük p değeri modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca % su absorplama kapasitesi için modelin F-değeri, 23,65 olarak hesaplanmıştır. % su absorplama kapasitesi için modeldeki çok düşük p değeri, nispeten yüksek F değeri ve R-kare değeri, kuadratik modelin anlamlı olduğunu ve yanıt ile bağımsız değişkenler arasında iyi bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Bireysel faktörler arasında, kitosan miktarı (Faktör A) en önemli etkiyi göstermiştir (p = 0.0001, F = 59.54); bunu GP miktarı (Faktör B) (p = 0,0433) ve B² (karekök terimi) (p <0,0001) takip etmektedir ve bu parametrelerin hepsi hidrojenlerin şişme performansı üzerinde güçlü etkilere sahiptir. Ayrıca, kitin içeriği ile CS/GP oranı arasındaki etkileşim (AC) da istatistiksel olarak

anlamlıdır ($p = 0,0045$). Bunlara ek olarak AB etkileşim terimi ($p = 0,0008$) ve ikinci dereceden C^2 terimi ($p = 0,0155$) de anlamlıdır ve bu durum kayda değer sinerjik ve doğrusal olmayan etkilere işaret etmektedir.

Buna karşılık, yalnızca CS/GP oranı (Faktör C) ve bunun GP miktarı ile olan etkileşimi (BC) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (sırasıyla $p = 0,8044$ ve $0,1036$); bu da bu faktörlerin bireysel ve birleşik doğrusal etkilerinin nispeten zayıf olduğunu göstermektedir. Ek olarak, uyumsuzluk anlamlı değildir ($p = 0,8285$), uyumsuzluğun anlamlı olmaması modelin deneysel veriye uygun olduğuna ve önemli bir açıklanamayan değişkenliğin olmadığına işaret etmektedir.

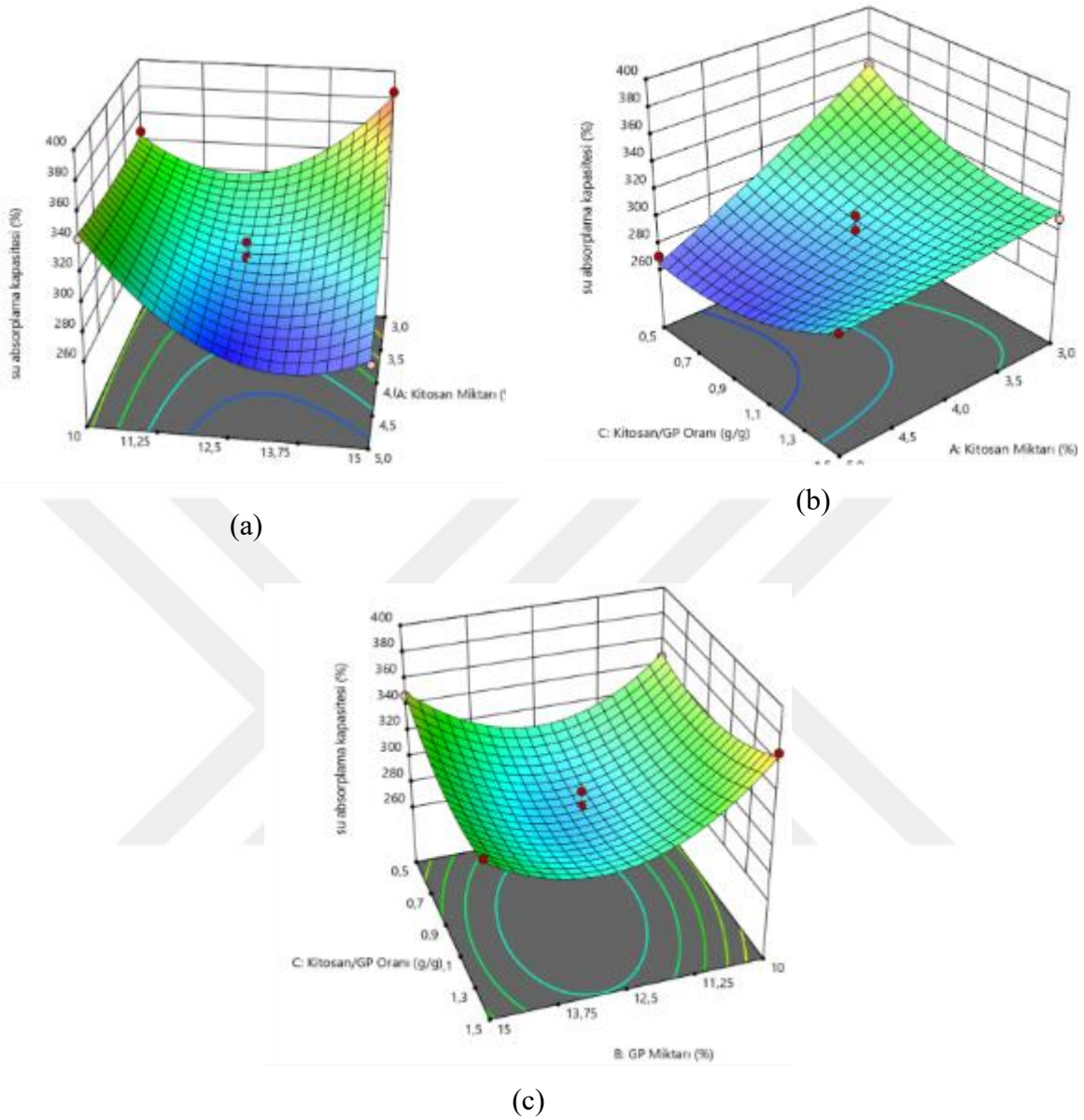
Bağımsız değişkenlerin cevap (%su absorplama kapasitesi) üzerindeki etkisi Design Expert yazılımı ile CYY kullanılarak 3 boyutlu yüzey grafikleri ile araştırılmıştır. 3B grafiklerde, bir seferde cevap üzerine iki bağımsız değişkenin etkileri incelenmiştir. Kalan bir parametre sabit tutulmuştur çünkü ikiden fazla parametrenin etkisini aynı anda 3B grafiklerde göstermek mümkün değildir.

Şekil 4. 7. (a) CS (%) ve GP (%) miktarı (b) CS miktarı (%) ve CS/GP oranı (c) GP miktarı (%) ve CS/GP oranı'nın % su absorplama kapasitesi üzerindeki etkisini gösteren üç boyutlu cevap yüzey grafikleridir.

Şekil 4.7 (a)'da, CS ve GP konsantrasyonlarının (%) etkileşimleri verilmiştir. İncelenen aralıkta her iki değişkenin artması, sentezlenen hidrojin su absorplama kapasitesini artırmaktadır. Bunun nedeni, daha yüksek kitosan ve GP konsantrasyonlarının, önceden yapılan çalışmalara benzer olarak, su absorplama için fonksiyonel grupların daha fazla bulunmasına neden olarak daha kompakt ve hidrofilik bir polimer ağı oluşturması olduğu düşünülmektedir.

Şekil 4.7 (b)'de kitosan konsantrasyonu ile CS/GP oranı arasındaki ilişki gösterilmektedir. Su absorplama kapasitesi, daha düşük CS/GP oranında ve daha yüksek kitosan içeriğinde artmaktadır. Bu durum, her ne kadar kitosan su absorplamada en baskın polimer olsada, yüksek CS/GP oranının aşırı sıkı çapraz bağlanmaya yol açarak gözenekliliği azaltabileceği ve suyun nüfuzunu engelleyebileceği anlamına gelmektedir.

Şekil 4.7 (c)'de, GP konsantrasyonu ile CS/GP oranı (C) arasındaki etkileşim incelenmiştir. Grafik, düşük CS/GP oranlarında GP içeriğinin su absorplama kapasitesi üzerindeki etkisinin orta düzeyde olduğunu, ancak daha yüksek oranlarda su absorplama kapasitesinin azaldığını göstermektedir.



Şekil 4.7. Üç boyutlu cevap yüzey grafikleri.

Bu sonuçlar, ağın bütünlüğü ile su tutma kapasitesini dengeleyen optimal bir GP konsantrasyonu olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, yanıt yüzeyi grafiklerinden, su absorplama kapasitesi için, kitosan konsantrasyonunun baskın rolü açıkça görülmektedir. Bununla birlikte GP konsantrasyonunun bu polimerle Kitosanın çapraz bağlanma oranı üzerinde önemli etkisinin olduğu ve böylelikle hidrojelın şişme davranışında belirleyici olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.9’da görüldüğü üzere, farklı kitosan (%) ve meyan kökü polisakkariti (%) miktarları ile çeşitli kitosan/meyan kökü oranlarına sahip toplam 17 adet CS/GP hidrojel kompozisyonu sentezlenmiştir. Bu 17 numunenin su absorplama kapasitelerine ait veriler grafiksel olarak Şekil 4.8’de sunulmuştur.

Şekil 4.8, hidrojellerin 1440 dakika (24 saat) boyunca gösterdiği şişme davranışını yansıtırken; Tablo 4.12’de ise her numuneye ait deneysel parametrelerin yanı sıra, başlangıçtaki kuru ağırlık (m_0) ile 60. dakikada ve 24. saatte ölçülen su absorplama yüzdeleri detaylı şekilde özetlenmiştir.

Tablo 4.12. Farklı CS/GP konsantrasyonu ve oranı ile sentezlenen hidrojellerin şişme davranışını.

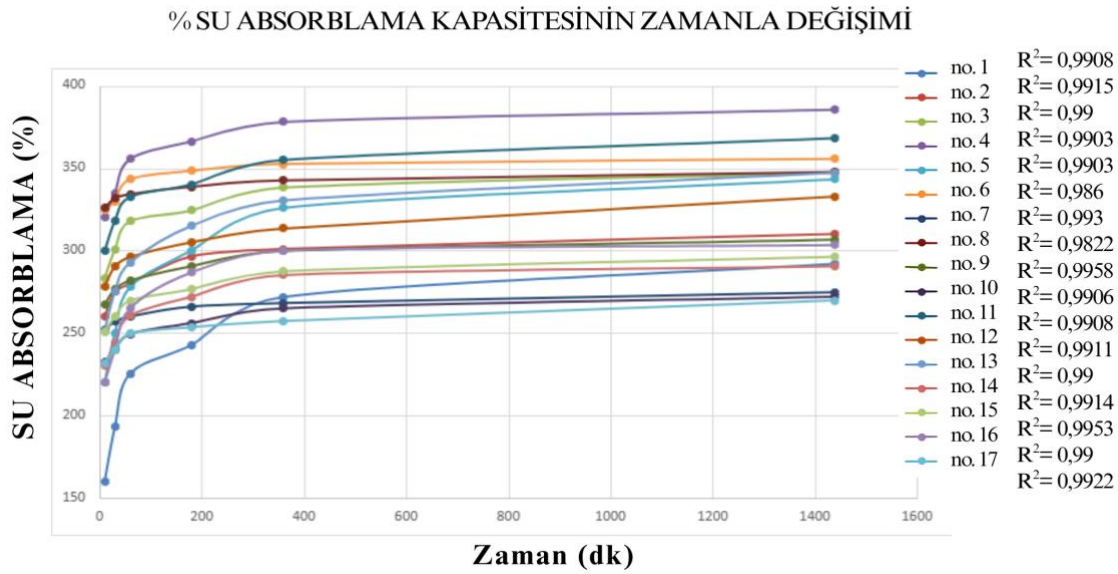
no	CS miktarı %	GP miktarı %	CS/GP oranı (g/g)	m_0	S % 60 min	S % 24hr	R2
1	4	12,5	1:1	0,3580	292	536	0,9908
2	3	12,5	1,5:1	0,4235	310	390	0,9915
3	3	10	1:1	0,4214	347	455	0,9900
4	3	15	1:1	0,2984	385	505	0,9903
5	5	10	1:1	0,4547	343	552	0,9903
6	3	12,5	0,5:1	0,4317	356	427	0,9860
7	4	12,5	1:1	0,4132	275	299	0,9930
8	4	15	0,5:1	0,4707	348	380	0,9822
9	4	12,5	1:1	0,3707	307	355	0,9958
10	5	15	1:1	0,4235	272	344	0,9906
11	4	10	1,5:1	0,4214	368	493	0,9908
12	4	15	1,5:1	0,2984	333	414	0,9911
13	4	10	0,5:1	0,4547	347	476	0,9900
14	4	12,5	1:1	0,4317	291	410	0,9914
15	4	12,5	1:1	0,4132	296	364	0,9953
16	5	12,5	1,5:1	0,4707	303	475	0,9900
17	5	12,5	0,5:1	0,3707	270	320	0,9922

Tablo 4.12 ve Şekil 4.8 incelendiğinde, sentezlenen hidrojellerin zamanla su absorblama kapasiteleri ve bu sürece ait kinetik profilleri detaylı biçimde analiz edilmiştir. Hidrojellerin

60. dakikada ve 24. saatte ulaştıkları su absorblama yüzdeleri, başlangıç kuru kütle (m_0) değerleri ile birlikte değerlendirilerek, sentez koşullarının şişme davranışı üzerindeki etkileri ortaya konmuştur.

Tablo 4.12’de ve Şekil 4.8’de sunulan verilere göre, sentezlenen hidrojelilerin şişme davranışları başlangıç kuru kütle (m_0), 60. dakikada ve 24. saatteki su absorblama yüzdeleri (S%) ile değerlendirilmiştir.

Örneğin 6 numaralı denemede (m_0 : 0,4317 g), 24 saat sonunda %505’lik su absorblama kapasitesine ulaşılmıştır. Ancak bu yüksek absorblama kapasitesi, hidrojin yapısal bütünlüğü açısından kararsızlık gösterebilir. Bu durum, yüksek şişme oranına rağmen polimer matrisin stabilitesini kaybettiği anlamına gelebilir. Benzer şekilde, 3 ve 4 numaralı denemelerde de (%455 ve %505) yüksek su absorblama değerleri elde edilmiştir; bu denemeler de yapısal kararlılık açısından dikkatle değerlendirilmelidir.



Şekil 4.8. İkinci aşamada entezlenen hidrojelilerin zamanla su absroblama kapasitesi.

Bunun aksine, 2, 5 ve 8 numaralı denemelerde elde edilen sonuçlar düşük şişme yüzdeleriyle dikkat çekmektedir. Özellikle 8 numaralı denemede, başlangıç kuru ağırlığın (0,4707 g) yüksek olmasına rağmen, hidrojin 60. dakikadaki şişme oranı %166 ve 24 saatlik değeri yalnızca %224 olarak ölçülmüştür. Bu düşük performans, muhtemelen asidik koşullarda kitosan zincirlerinde meydana gelen protonasyon artışıyla ilişkilidir. Protonasyon, polimer zincirlerinin daha yoğun bir yapı oluşturmaya ve ağ genişlemesinin engellenmesine neden

olabilir. Öte yandan, 7, 10 ve 12 numaralı denemelerde hidrojel şişme davranışının daha dengeli bir profil sergilediği gözlemlenmiştir. Özellikle 10 numaralı denemede %420'lik su absorplama kapasitesi ile hem yeterli şişme oranına ulaşılmış hem de yapısal stabilite korunmuş görülmektedir. Bu sonuçlar, nötr pH koşullarında sentezlenen hidrojellerin hem su tutma kapasitesi açısından tatmin edici hem de yapısal olarak kararlı bir profil sunduğunu göstermektedir.

Bu nedenle, ileriye dönük çalışmalarda, şişme kapasitesi ile hidrojin bütünlüğünü koruyacak optimum koşulların sağlanması amacıyla nötr pH'da sentezleme tercih edilmiştir. Sentezlenen bu 17 hidrojel için şişme verileri, Design Expert yazılımıyla yapılan deneysel tasarım sonuçlarıyla büyük ölçüde örtüşmektedir. 3 boyutlu cevap yüzeyi grafiklerinde görülen; artan CS ve GP konsantrasyonlarının şişme kapasitesini olumlu etkilediği bulgusu, özellikle 6 ve 10 numaralı örneklerdeki yüksek su absorblama değerleriyle (sırasıyla %505 ve %420) birebir uyumludur.

Öte yandan, asidik ortamda sentezlenen 8 numaralı örneğin düşük şişme kapasitesi, yüksek CS/GP oranlarının gözenekliliği azaltarak su alımını sınırladığı yönündeki model öngörüsünü desteklemektedir. Sonuç olarak, deneysel veriler ve model analizleri birbiriyle tutarlı olup, şişme davranışında kitosan miktarının ve CS/GP oranının kritik bir rol oynadığını açıkça göstermektedir.

4.3.1 Kitosan Meyan Kökü Hidrojellerin hidrojellerin in-vitro bozunma denemeleri ve yoğunluk analizleri

Sentezlenen 17 CS/GP hidrojel için in-vitro bozunma denemeleri, 4.2.2 bölümündeki çalışmaları benzer bir şekilde yürütülmüştür. 21 gün boyunca aynı sıcaklık ve pH koşullarında 7.4 PBS içerisinde tutulan, Tablo 4.9 kapsamında sentezlenmiş olan 17 farklı hidrojel formülasyonunun in-vitro kütle kaybı profillerine ait değerler Tablo 4.13 ve Şekil 4.9'de verilmiştir.

Tüm örneklerde zamanla kütle kaybı meydana gelmiş ve örnekler arasında bozunma davranışları açısından belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. Bu durum hidrojellerin sentez şartlarına bağlı aşamalı olarak parçalandığını ortaya koymuştur. Başka bir deyişle bozunma hızı ve miktarı formülasyona bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik göstermiştir.

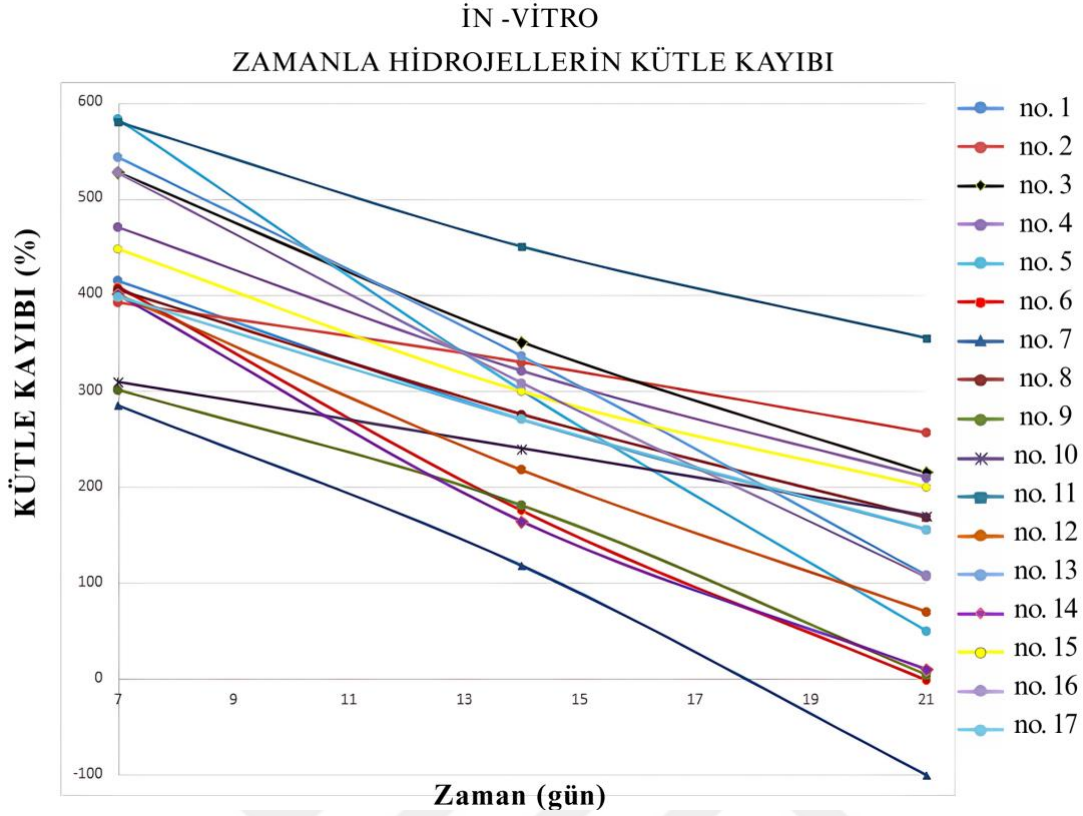
Özellikle no. 8 ve no. 1 numaralı hidrojel, %500'ü aşan yüksek kütle kayıplarıyla hızlı bir şekilde bozulmuş; hatta bazı noktalarda kütle değerleri sıfırın altına düşmüştür. Bu durum

tam çözünmeyi ya da şişme ve sızıntı kaynaklı ölçüm sapmalarını işaret etmektedir. Öte yandan no. 6 ve no. 3 gibi bazı formülasyonlar daha yavaş ve kontrollü bir şekilde bozunarak zamanla daha fazla yapısal bütünlüklerini korumuşlardır; bu da özellikle kontrollü ilaç salımı veya yara iyileştirme uygulamaları gibi uzun süreli biyomedikal kullanımlar için oldukça avantajlıdır.

Tablo 4.13. Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sentezlenen hibrit hidrojellerin yoğunluk ve farklı sürelerdeki invitro bozunma denemeleri

no	m0	p	DR% (14 gün)	DR% (14 gün)	DR% (21 gün)
1	0,311	0,198	414	347	155
2	0,387	0,247	392	330	256
3	0,273	0,174	587	351	245
4	0,320	0,204	470	321	278
5	0,400	0,255	583	177	66
6	0,270	0,172	408	175	-1
7	0,278	0,177	285	118	-100
8	0,346	0,220	405	275	168
9	0,312	0,199	301	180	5
10	0,328	0,209	309	290	203
11	0,280	0,179	580	528	355
12	0,279	0,177	488	217	297
13	0,332	0,212	543	436	108
14	0,306	0,195	491	164	29
15	0,287	0,183	448	406	346
16	0,313	0,199	527	308	106
17	0,351	0,224	398	322	155

Bu sonuçlar, her hidrojinin bileşiminin—özellikle polisakkarit ve kitosan oranı, çapraz bağlayıcı miktarı ya da polimer kombinasyonu gibi parametrelerin—bozunma profili üzerinde doğrudan etkili olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, uygulamaya uygun hidrojel geliştirilmesinde bu bileşenlerin dikkatle optimize edilmesi büyük önem taşımaktadır.

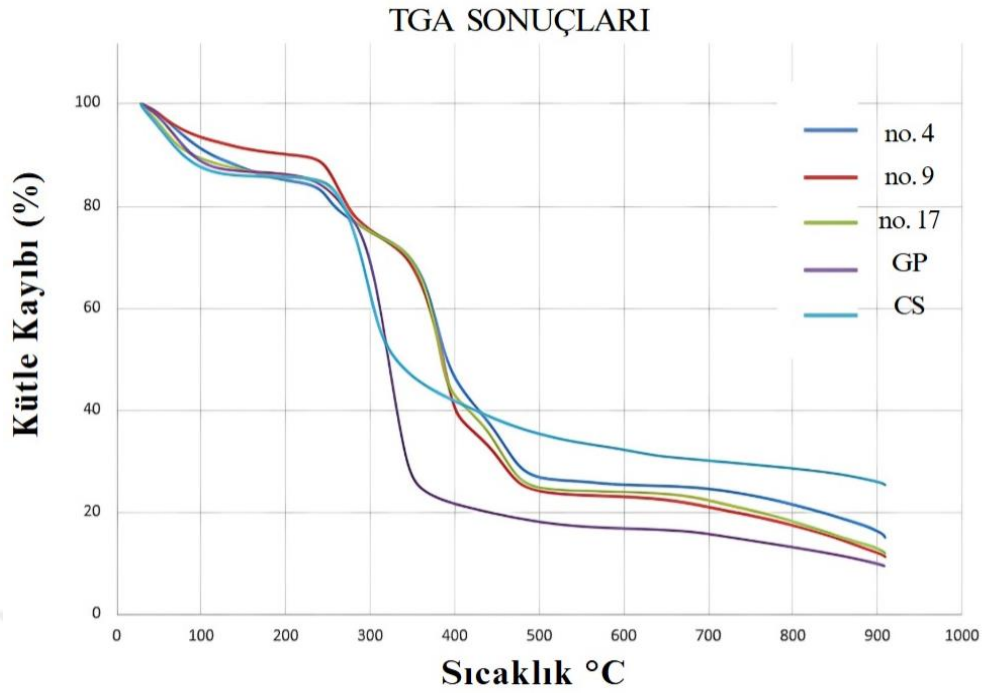


Şekil 4.9. İkinci aşamada sentezlenen hidrojellerin İn-Vitro analizlerin grafikleri.

4.3.2 Kitosan meyan kökü hidrojellerin TGA, SEM ve FTIR sonuçları

Şekil 4.10'da verilen TGA analizi, no. 4, no. 9 ve no. 17 numaralı hidrojel örnekleri ile hammaddeler olan GP ve CS 'ın ısıya karşı gösterdikleri dayanıklılığı karşılaştırılmıştır. Tüm örneklerde 100–150 °C aralığında gözlenen ilk kütle kaybı, yapıda bulunan serbest suyun uzaklaşmasından kaynaklanmakta; 250–400 °C aralığında ise asıl termal bozunma gerçekleşmektedir. Bu aşamada GP en hızlı şekilde parçalanarak termal stabilitesinin zayıf olduğunu gösterirken, CS daha geç bozunarak yüksek dayanıklılık sergilemiştir. Hidrojel örnekleri ise bu iki maddenin arasında bir performans göstermiştir.

Özellikle no. 17 numaralı hidrojel, daha yavaş ve kontrollü bir kütle kaybı ile diğerlerine kıyasla daha iyi bir termal stabilite sunmuş, bu da formülasyondaki polisakkarit-kitosan oranı ile çapraz bağ yapısının önemli bir rol oynadığını düşündürmüştür. Genel olarak değerlendirildiğinde, no. 17, ısıya karşı daha kararlı bir yapıya sahip olması sayesinde, ısı işlem gerektiren biyomedikal uygulamalar için daha uygun bir aday olarak öne çıkmaktadır.

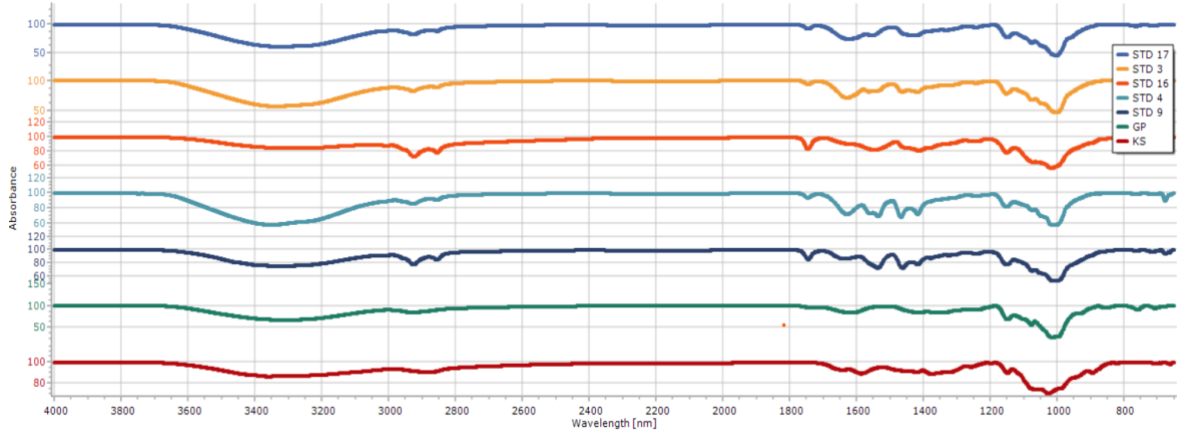


Şekil 4.10. İkinci aşamada sentzlenen hidrojellerin TGA sonuçları.

Şekil 4.11'de sunulan FTIR analiz sonuçları, hem kitosan (KS) hem de meyan kökü polisakkaridinin (GP) karakteristik fonksiyonel gruplarının oluşturulan hibrit hidrojel yapılarında başarıyla korunduğunu göstermektedir.

Şekilde açıkça GP spektrumunda, yaklaşık 3300 cm^{-1} civarında geniş bir OH gerilme bandı ve $1600\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$ aralığında, aromatik ya da karbonil gruplarına ait güçlü absorpsiyonlar gözlenmiştir; bu bulgular, meyan kökünden gelen fenolik yapılar ile polisakkarit zincirlerinin varlığını desteklemektedir. KS spektrumunda ise yaklaşık 3300 cm^{-1} 'de OH ve NH_2 gruplarına, 2900 cm^{-1} civarında alifatik C–H gerilmesine, ayrıca $1650\text{--}1580\text{ cm}^{-1}$ aralığında Amit I ve II titreşimlerine özgü karakteristik bantlara rastlanmıştır; bu bantlar kitosan için tipik özellikler taşımaktadır.

Hibrit hidrojel örnekleri (STD 3, 4, 9, 16 ve 17) incelendiğinde, hem KS hem de GP'ye ait temel absorpsiyon bantlarının büyük ölçüde korunduğu, ancak bantların şiddetinde ve dalga boylarında bazı farklılıkların ortaya çıktığı net bir şekilde gözlemlenmiştir. Özellikle $1600\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ aralığında meydana gelen kaymalar ve şiddet değişiklikleri, iki polisakkarit bileşeni arasında hidrojen bağlarının oluştuğuna ve fiziksel etkileşimlerin gerçekleştiğine işaret etmektedir.



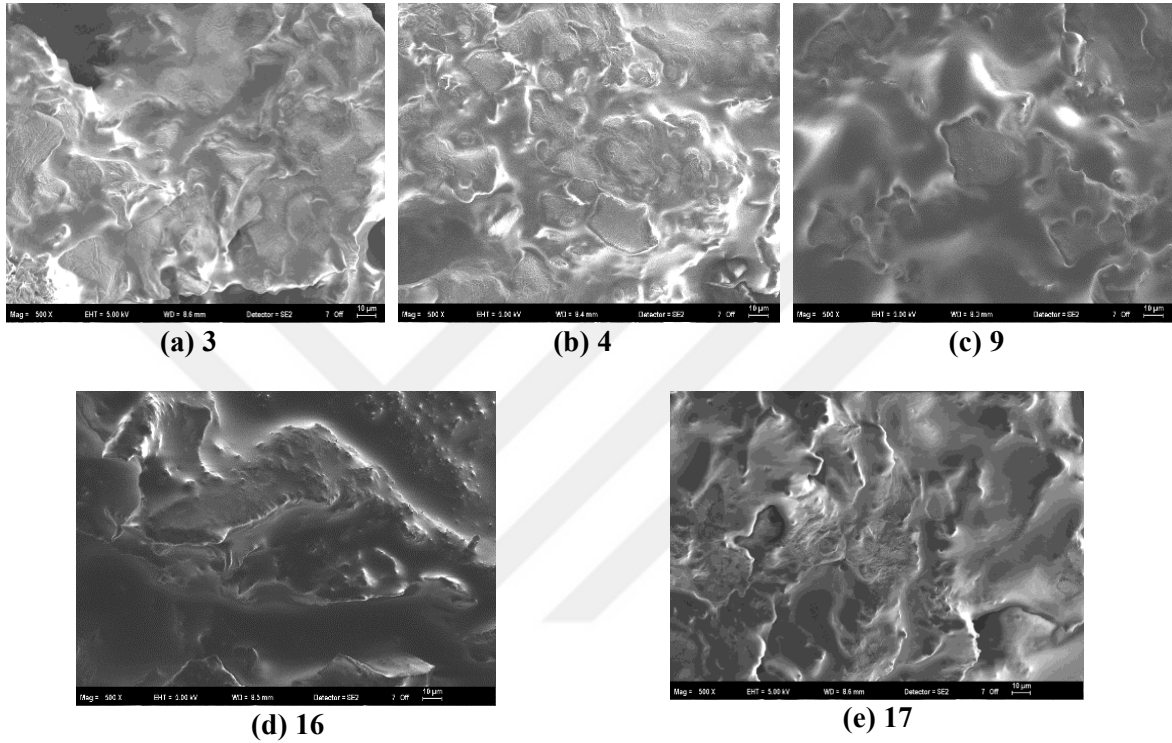
Şekil 4.11. İkinci aşamada sentezlenen hidrojenlerin FTIR sonuçları.

Ayrıca, bu hidrojel sistemlerine bergamot yağı da dahil edilmiştir. FTIR spektrumlarında, özellikle 1740 cm^{-1} civarında gözlemlenen karbonil ester gerilme bantları, uçucu yağın yapıya başarıyla entegre edildiğini ve bu sayede hidrojin kimyasal bileşimini zenginleştirdiğini göstermektedir. STD 4 ve STD 9 numuneleri, 1650 cm^{-1} civarındaki daha belirgin amid bantları ile kitosan ağırlıklı bir yapıyı ortaya koyarken, STD 3 ve STD 16 numunelerinde C–H ve C–O–C bölgelerinde daha güçlü absorpsiyonlar gözlenmiş, bu da meyhan kökü polisakkaridinin daha baskın bir katkı sağladığını düşündürmüştür.

Öte yandan, spektral açıdan daha geniş özellikler ve dikkat çekici bant kaymaları sergileyen STD 17 numunesi, GP ve KS arasında daha güçlü etkileşimlerin söz konusu olabileceği, daha kompleks bir hibrit yapının varlığına işaret etmektedir. Genel olarak FTIR verileri, sentezlenen hidrojel yapıların her iki biyopolimeri ve bergamot yağını başarılı bir şekilde entegre ettiğini; gözlenen spektral özelliklerin ise bu bileşenler arasında gerçekleşen etkileşimler sonucu oluşan hibrit ağ yapısını güçlü biçimde desteklediğini göstermektedir.

Şekil 4.12 farklı CS/GP konsantrasyon ve oranlarda sentezlenen seçilmiş hibrit hidrojenlerin SEM analizini sunmaktadır. CS %3, GP %10 ve 1:1 CS/GP oranda sentezlenen 3. numune (a), birbirine bağlı boşluklara sahip orta derecede gözenekli, dokulu bir yüzeye sahiptir. Öte yandan, CS %3, GP %15 ve 1:1 CS/GP oranda sentezlenen 4. numune (b), daha gözenekli bir yüzey sergilemektedir. Bu, muhtemelen daha yüksek oranda GP içeriğinden kaynaklanmaktadır. 9 numaralı denemesinde ise CS %4, GP %12 ve CS/GP 1:1 oranda sentezlenen hidrojel (c), minimum yüzey düzensizliği ve daha az gözeneklilik ile daha düzgün bir morfoloji sunmaktadır.

Buna karşılık, CS %5, GP %12,5 ve CS/GP 1,5:1 oranında sentezlenen 16 numaralı denemesinde (d), en az gözeneklilik içeren pürüzsüz, çok daha düzenli bir yüzey sergilemektedir. Bunun sebebinin yüksek miktarda kitosan içermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Son olarak, CS %5, GP %12,5 ve CS/GP 0,5:1 oranda sentezlenen 17 numaralı deneme (e), orta düzeyde bölgeler içeren düz bir morfoloji sunmaktadır.



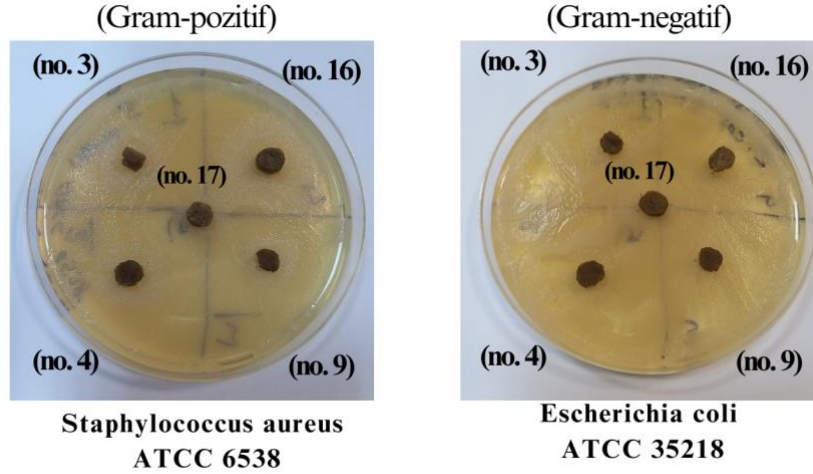
Şekil 4.12. İkinci aşamada sentezlenen hidrojellerin SEM görüntüleri.

4.3.4 Kitosan Meyan Kökü Hidrojellerin antibakteriyal analizleri

Sabit pH ve sıcaklık koşulları altında, farklı konsantrasyon ve oranlarda kitosan ile meyan kökü polisakkaritleri kullanılarak sentezlenen hidrojeller, disk difüzyon yöntemiyle *Escherichia coli* ATCC 35218 (Gram-negatif) ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Gram-pozitif) bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Yapılan testlerde, 3, 4, 9, 16 ve 17 numaralı tüm örneklerde anlamlı bir inhibisyon bölgesi gözlemlenmemiştir. Bu durum, uygulanan deneysel koşullar altında hidrojel sistemlerinin belirgin bir antimikrobiyal aktivite göstermediğini ortaya koymaktadır.

Şekildeki 4.13 gibi gözlemlenen biyoaktivite eksikliği, birkaç farklı nedene bağlı olabilir. Bunlar arasında; kullanılan kitosan veya meyan kökü polisakkaritlerinin yetersiz konsantrasyonları, aktif bileşenlerin hidrojel matrisi içinde hapsolması sonucu sınırlı

difüzyon, zayıf salım kinetiği ya da düşük deasetilasyon derecesine veya yüksek moleköl ağırlığına sahip, dolayısıyla daha az etkili kitosan türlerinin kullanımı yer almaktadır. Ayrıca, kitosan ile meyan kökü polisakkaritleri arasındaki olası kimyasal etkileşimler, antimikrobiyal etkiden sorumlu fonksiyonel grupların biyoyararlanımını azaltmış olabilir. Bunlara ek olarak, kullanılan disk difüzyon yönteminin düşük düzeydeki antimikrobiyal aktiviteleri tespit etme konusunda yeterli hassasiyete sahip olmaması da değerlendirilmelidir.



Şekil 4.13. İkinci aşamada sentezlenen hidrojellerin Antibakteriyel testleri

Gelecekteki çalışmalarda, antimikrobiyal etkinliğin artırılması amacıyla, hidrojel sistemlerine antibiyotikler, gümüş nanopartiküller veya doğal bitki özütleri gibi güçlü antimikrobiyal ajanların dahil edilmesi önerilmektedir. Bu tür aktif maddeler, lokal konsantrasyonu artırarak ve hedefe yönelik, sürekli salım sağlayarak hidrojel sistemlerinin performansını önemli ölçüde iyileştirebilir. Böylece, yalnızca pasif biyopolimer bazlı sistemlerin sınırlamaları aşılmakla kalmaz, aynı zamanda hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı daha etkili bir antimikrobiyal koruma sağlanabilir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, CS/GP hibrit hidrojelleri farklı pH ve sıcaklık koşullarında sentezlenmiş olup, su absorplama kapasitesi, in vitro bozunma, FT-IR, TGA ve SEM ile kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Bulgular, sentez sırasında pH ve sıcaklığın hidrojelin fiziko-kimyasal özelliklerini önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Su absorplama kapasitesi deneylerinde, özellikle pH 9 olmak üzere alkali koşulların su absorplama kapasitesini artırdığı gözlemlenmiştir. Ancak, örneklerin genellikle su absorplama sırasında yapısal bütünlükleri bozularak parçalanmıştır. In vitro bozunma testleri, pH 9'daki hidrojeller hızlı bir şekilde bozulduğunu gözlemlenmiştir. Özellikle de CS/GP hidrojelleri, 50°C gibi orta sıcaklıklarda ve asidik pH (pH 5)'ta sentezlendiklerinde daha yavaş ve kontrollü bir şekilde bozulduğunu gözlemlenmiştir. Bunun sebebi, bu hidrojellerin daha yoğun ağ yapısına sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Genel olarak veriler, nötr pH ve orta derecede sıcaklıkların (örneğin, pH 7'de 50°C) şişme kapasitesi, yapısal stabilite ve bozunabilirlik arasında optimal bir denge bulunduğunu ve bu formülasyonları sürdürülebilir performans ve kontrollü biyobozunurluk gerektiren uygulamalar için umut verici kıldığını göstermektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular, CS/GP bazlı hidrojellerin farklı uygulama alanlarına uyarlanabileceğini göstermektedir. Özellikle gıda paketlemesinde etli ürünler paketlemesi gibi, kontrollü salım sistemlerinde mide ve bağırsak koruyucu ilaçları gibi, yanık ve yara örtüleri gibi biyomedikal ve biyoteknolojik alanlarda, uygun pH ve sıcaklık kombinasyonları sayesinde hem yapısal stabilite hem de işlevsellik bakımından dengeli ve etkili sistemler elde edilebileceği anlaşılmaktadır. Gelecekteki çalışmalarda, bu hidrojellere antimikrobiyal ajanlar veya farklı biyolojik bileşenleri eklenmesi ile fonksiyonlarının daha da geliştirilebileceği ve böylece daha dayanıklı ve farklı amaçlarda kullanılabilen malzemelerin geliştirilebileceği öngörülmektedir.



KAYNAKLAR

- [1] F. Mushtaq, Z. A. Raza, S. R. Batool, M. Zahid, O. C. Onder, A. Rafique, and M. A. Nazeer, "Preparation, properties, and applications of gelatin-based hydrogels (GHs) in the environmental, technological, and biomedical sectors," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 218, pp. 601–633, 2022.
- [2] H. İ. Özgündüz, "Akrilik Asit-Akrilamid-Poli(Vinil Alkol) İçeren Yarı-IPN Tipi Hidrojellerin Şişme Özellikleri ve Lipaz Salım Davranışları," *Yüksek Lisans Tezi*, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2006.
- [3] S. K. H. Gulrez, S. Al-Assaf, and G. O, "Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications," in *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications*, InTech, 2011.
- [4] V. Kumar, T. Manju, and K. Thakur, "Hydrogels," in *Smart Polymer Hydrogels: Fundamentals and Applications*, A. Thakur, Ed. Springer, 2021, ch. 2.
- [5] Lh. Yahia, "History and Applications of Hydrogels," *J. Biomed. Sciencies*, vol. 4, no. 2, 2015.
- [6] P. Mehta, M. Sharma, and M. Devi, "Hydrogels: An overview of its classifications, properties, and applications," *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2023.
- [7] S. Zhang, Y. Nie, H. Tao, and Z. Li, "Hydrogel-Based Strategies for Stem Cell Therapy," *Hydrogel Biomaterials*, Springer, 2018, pp. 87–112.
- [8] P. Kesharwani, A. Bisht, A. Alexander, V. Dave, and S. Sharma, "Biomedical applications of hydrogels in drug delivery system: An update," *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 66, p. 102914, 2021.
- [10] H. Ren, L. Wang, H. Bao, Y. Xia, D. Xu, W. Zhang, and Z. Wang, "Improving the antibacterial property of chitosan hydrogel wound dressing with licorice polysaccharide," *Journal of Renewable Materials*, vol. 8, no. 10, pp. 1343–1355, 2020.
- [9] M. Saeedi, M. R. Moghbeli, and O. Vahidi, "Chitosan/glycyrrhizic acid hydrogel: Preparation, characterization, and its potential for controlled release of gallic acid," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 231, p. 123197, 2023.
- [11] Y. Nabil, A. H. Atta, W. A. El-Fattah, H. S. Hafez, and R. F. M. Elshaarawy, "Progress in chitosan/essential oil/ZnO nanobiocomposites fabrication for wound healing applications: A review," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 318, p. 145123, 2025.
- [12] H. Shao et al., "A Janus hydrogel that enables wet tissue adhesion and resists abdominal adhesions," *Materials Today Bio*, vol. 28, 2024.
- [13] M. Bahram, N. Mohseni, and M. Moghtader, "An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications," *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels*, InTech, 2016.

- [14] D. Knorr, "Food processing of chitin and chitosan: From waste to opportunities," *Journal of Food Engineering*, vol. 400, p. 112634, 2025.
- [15] F. Ullah, M. B. H. Othman, F. Javed, Z. Ahmad, and H. M. Akil, "Classification, processing and application of hydrogels: A review," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 57, pp. 414–433, 2015.
- [16] K. Y. Lee and D. J. Mooney, "Alginate: Properties and biomedical applications," *Progress in Polymer Science*, 2012.
- [17] N. Wahlström, S. Steinhagen, G. Toth, H. Pavia, and U. Edlund, "Ulvan dialdehyde-gelatin hydrogels for removal of heavy metals and methylene blue from aqueous solution," *Carbohydrate Polymers*, vol. 249, 2020.
- [18] S. Bashir et al., "Fundamental concepts of hydrogels: Synthesis, properties, and their applications," *Polymers*, 2020.
- [19] J. F. Resende, I. M. R. Paulino, R. Bergamasco, M. F. Vieira, and A. M. S. Vieira, "Hydrogels produced from natural polymers: A review on their use and employment in water treatment," *Environmental Science and Pollution Research*, 2023.
- [20] Z. Li and Z. Lin, "Recent advances in polysaccharide-based hydrogels for synthesis and applications," *Advanced Gels Technology*, 2021.
- [21] A. Ulusoy and N. Dikmen, "Hidrojellerin Tıpta Uygulamaları," *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, vol. 29, no. 2, pp. 129–137, 2020.
- [22] N. Bhattarai, J. Gunn, and M. Zhang, "Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery," *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2010.
- [23] S. Mitura, A. Sionkowska, and A. Jaiswal, "Biopolymers for hydrogels in cosmetics: review," *Materials Science: Materials in Medicine*, 2020.
- [24] S. Wahab et al., "Glycyrrhiza glabra (Licorice): A comprehensive review on its phytochemistry, biological activities, clinical evidence and toxicology," *Plants*, 2021.
- [25] A. Kowalska and U. Kalinowska-Lis, "18 β -Glycyrrhetic acid: its core biological properties and dermatological applications," *International Journal of Cosmetic Science*, vol. 41, no. 4, pp. 325–331, 2019.
- [26] L. Wu et al., "Glycyrrhiza, a commonly used medicinal herb: Review of species classification, pharmacology, active ingredient biosynthesis, and synthetic biology," *Journal of Advanced Research*, 2024.
- [27] Y. Wu et al., "Glycyrrhiza polysaccharides can improve and prolong the response of chickens to the Newcastle disease vaccine," *Poultry Science*, vol. 101, no. 1, 2022.
- [28] G. E. S. Batiha, A. M. Beshbishy, A. El-Mleeh, M. M. Abdel-Daim, and H. P. Devkota, "Traditional uses, bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae)," *Biomolecules*, vol. 10, no. 3, p. 352, 2020.

- [29] Y. Wu et al., “Effect of different crosslinking agents on carboxymethyl chitosan-glycyrrhizic acid hydrogel: Characterization and biological activities comparison,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 298, Apr. 2025.
- [30] M. Mujahid, M. Zubair, A. Yaqoob, S. Shahzad, and A. Ullah, “Formulation and evaluation of licorice-extract-enhanced chitosan, PVA, and gelatin-derived hydrogels for wound dressing,” *Bioengineering*, vol. 12, no. 5, p. 439, 2025.
- [31] M. Chelu, “Hydrogels with Essential Oils: Recent Advances in Designs and Applications,” *Gels*, 2024.
- [32] I. T. F. Barbosa et al., “Characterization of Hydrogels Containing Mandelic Acid Nanoemulsions and Different Essential Oils,” *Materials Research*, vol. 26, 2023.
- [33] K. Odziomek et al., “The Role of Freeze-Drying as a Multifunctional Process in Improving the Properties of Hydrogels for Medical Use,” *Pharmaceuticals*, vol. 17, no. 11, 2024.
- [34] S. Butylina, S. Geng, and K. Oksman, “Properties of as-prepared and freeze-dried hydrogels made from poly(vinyl alcohol) and cellulose nanocrystals using freeze-thaw technique,” *European Polymer Journal*, vol. 81, pp. 386–396, 2016.
- [35] A. Autissier, C. Le Visage, C. Pouzet, F. Chaubet, and D. Letourneur, “Fabrication of porous polysaccharide-based scaffolds using a combined freeze-drying/cross-linking process,” *Acta Biomaterialia*, vol. 6, no. 9, pp. 3640–3648, 2010.
- [36] L. Fan, J. Li, K. Deng, and L. Ai, “Effects of drying methods on the antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 87, no. 2, pp. 1849–1854, 2012.
- [37] Y. Liu et al., “Effects of freeze-drying and hot-air drying on the physicochemical properties and bioactivities of polysaccharides from *Lentinula edodes*,” *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 145, pp. 476–483, 2020.
- [38] Y. Huang, S. Onyeri, M. Siewe, A. Moshfeghian, and S. V. Madhally, “In vitro characterization of chitosan-gelatin scaffolds for tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 36, pp. 7616–7627, 2005.
- [39] A. Cerulli, M. Masullo, P. Montoro, and S. Piacente, “Licorice (*Glycyrrhiza* spp.) and their constituents as active cosmeceutical ingredients,” *Cosmetics*, vol. 9, no. 1, p. 7, 2022.
- [40] S. G. Moussa et al., “Sustainable treatment of oral traumatic ulcers with licorice-containing hydrogels: Integrating computational modeling, Quality by Design, green synthesis, and molecular biological evaluation,” *Pharmaceutics*, vol. 15, no. 12, 2023.
- [41] X. Shi, L. Wang, Q. Chen, Q. Zheng, H. Chen, and X. Li, “An antibacterial hydrogel prepared from a licorice residue extract,” *RSC Sustainability*, vol. 2, no. 3, pp. 646–654, 2024.



ÖZGEÇMİŞ

Yalova Üniversitesi Kimya ve Süreç Mühendisliği Bölümünden 2021 yılında mezun oldu. 2022 yılında Yalova Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı programında tezli yüksek lisans öğrenimine başladı.

TEZDEN TÜRETİLEN YAYIN VE ESERLER

A. Alshaher. & B. S. Yalçın, ‘Investigation and Evaluation of Structural, Antioxidant/Antimicrobial and Release Properties of Chitosan and Licorice Based Composite Hydrojels,’ 3. International British Congress on Interdisciplinary Scientific Research & Practices, Institute of Economic Development and Social Researches, London, UK, 2025.

