



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM
DALI**

**MÜSİLAJ TEMELLİ KERATİN FİLM ÜRETİMİ VE
KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emine ÜNVER

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Emel ÇAKMAK

AKSARAY, 2023

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 212330001 numaralı Yüksek Lisans Emine ÜNVER tarafından hazırlanan “(MÜSİLAJ TEMELLİ KERATİN FİLM ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU)” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Emel ÇAKMAK

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

Selçuk Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Doç. Dr. İsmail BİLİCAN

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 24/02/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Mehmet Ali HİNİS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinalliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Emine ÜNVER

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgilerini, yardımlarını, tecrübelerini, güler yüzünü ve pozitif enerjisini benden esirgemeyen bana her anlamda destek olan, Yüksek Lisans Bitirme Tezimin yürütülmesine danışmanlık eden değerli danışman Dr. Öğr. Üyesi Emel ÇAKMAK' a teşekkürlerimi sunuyorum.

Yüksek lisansım boyunca ve bu tez çalışmasında, bana öğretmiş olduğu bilgilerini, tecrübelerini ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK' a en içten teşekkürlerimi sunarım. Tezim için gerekli olan enstrümental analizleri yapan ASUBTAM çalışanları değerleri hocalarıma ve sonuçların değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Ar. Gör. Behlül KOÇ BİLİCAN hocama çok teşekkür ediyorum. Tez çalışmam da bana yardımcı olan değerli grup arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca üzerimdeki emeklerin en büyüğüne sahip, maddi ve manevi olarak her zaman arkamda duran, eğitim hayatımda beni hep motive eden ve destekleyen aileme sonsuz teşekkür ediyorum.

Emine ÜNVER
AKSARAY, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Kaz Tüyü.....	3
2.2 Proteinler	5
2.2.1 Keratin proteini	6
2.2.2 Keratin yapısı	7
2.3 Keratin İzolasyon Yöntemleri	8
2.4 Keratin ile Yapılmış Çalışmalar	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1 Tüylerin Toplanması	14
3.2 Tüyler İçin Ön İşlem	14
3.3 Keratin Ekstraksiyonu	14
3.4 Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi	15
3.5 Ayva Çekirdeği Müsilajının Hazırlanması	16
3.6 Keratin Filmlerin Oluşturulması	16
3.7 Filmlerin Karakterizasyonu.....	18
3.7.1 Kompozit filmlerin kalınlığı	18
3.7.2 FT-IR.....	18
3.7.3 TGA.....	18
3.7.4 SEM.....	18
3.8 Filmlerin antioksidan aktiviteleri	18
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	20
4.1 Keratin Ekstraksiyonu ve Protein Konsantrasyonu.....	20
4.2 Müsilaj Temelli Keratin Film Hazırlama ve Mekanik Özellikleri	20
4.3 Keratin Filmlerin Kalınlığı.....	21
4.4 Keratin Filmlerin FT-IR Spektrumu	21
4.5 Keratin filmlerin TGA Analizleri.....	26
4.6 Keratin Filmlerin SEM Görüntüleri	29
4.7 Filmlerin Antioksidan Aktiviteleri	32
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	34
KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇMİŞ	42

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MÜSİLAJ TEMELLİ KERATİN FİLM ÜRETİMİ VE
KARAKTERİZASYONU

Emine ÜNVER

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Emel ÇAKMAK

ÖZET

Dünya nüfusundaki hızlı artışla birlikte beyaz ete olan talepte artmaktadır. Kümes hayvanları endüstrisinin bir yan ürünü olan ve çok az kullanılan kaz tüyü, dünyadaki en bol bulunan yenilenebilen keratin biyo-kütlelerinden birisidir. Bu atıklardan kurtulmak amacıyla yapılan işlemler (yakma, gömme gibi) çevre sorunlarına neden olmaktadır. Bu nedenle, bu biyo-atığın bir biyo-kompozit filme dönüştürülmesi, yalnızca bu katı atıkların bertaraf edilmesi için sürdürülebilir bir strateji değil, aynı zamanda yenilenebilir biyo-kaynaklardan verimli bir biyomalzeme geliştirmek için çekici bir alternatif olarak kabul edilir. Atık kaz tüyleri ucuz, kolay ulaşılabilir ve yenilenebilir bir kaynak olmalarının yanı sıra düşük yoğunluk, yüksek sıkıştırılabilirlik ve elastikiyetlerinden dolayı birçok uygulamada avantaja sahiptirler. Kümes hayvanları tüyleri %91 oranında keratin içermektedir. Bu çalışmada kaz tüyünden elde edilen keratin ve ayva çekirdeği müsilağı kullanılarak ilk kez yenilebilir film üretimi yapılmıştır. Çalışma, atık kaz tüylerinden keratinin saflaştırılması, müsilağ temelli keratin film üretimi ve karakterizasyonunun (FT-IR, TGA ve SEM) yapılması ile antioksidan aktivitelerinin belirlenmesini içermektedir. Analiz sonuçları, yanık tedavisi ve yara iyileşmesi gibi alanlarda hem ekonomik hem de çevre dostu ürünler elde etmede kaz tüyünün potansiyel alternatif bir kaynak olduğu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Atık Tüy, Keratin, Müsilaj Film.

Şubat, 2023; 42 sayfa

M.Sc. THESIS

MUCILAGE BASED KERATIN FILM PRODUCTION AND CHARACTERIZATION

Emine ÜNVER

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology**

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Emel ÇAKMAK

ABSTRACT

With the rapid increase in the world population, the demand for white meat is increasing. Goose feather, a by-product of the poultry industry and rarely used, is one of the most abundant renewable keratin biomass in the world. Processing to get rid of these wastes (such as incineration, burial) causes environmental problems. So, converting this biowaste into a biocomposite film is considered not only a sustainable strategy for the disposal of this solid waste, but also an attractive alternative to develop an efficient biomaterial from renewable bioresources. In addition to being a cheap, easily accessible and renewable resource, waste goose feathers have advantages in many applications due to their low density, high compressibility and elasticity. Poultry feathers contain 91% keratin. In this thesis, edible film was produced for the first time by using quince seed mucilage and keratin obtained from goose feathers. The study includes purification of keratin from waste goose feathers, production and characterization of mucilage-based keratin film (FT-IR, TGA and SEM), and determination of antioxidant activities. The results of the analysis have shown that goose feather is a potential alternative source for obtaining both economical and environmentally friendly products in areas such as burn treatment and wound healing.

Keywords: Waste feather, Keratin, Mucilage Film.

February, 2023; 42 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Tavuk eti üretim miktarı, Ekim 2022.	1
Şekil 2.1. Atık kaz tüyü.	4
Şekil 2.2. Tüyün mikro yapısı.....	5
Şekil 3.1. Ham kaz tüyü ve temizlenmiş kaz tüyü görüntüsü.....	14
Şekil 3.2. Keratin eldesi.	15
Şekil 3.3. Toz hale getirilen keratin.	15
Şekil 3.4. Ayva çekirdeği müsilağının hazırlanması	16
Şekil 3.5. a) Kontrol, keratin- 0.1,0.25 ve 0.5 g karışımların hazırlanması b) Filmlerin 1. Gün görüntüsü c) Filmlerin 2. Gün görüntüsü d) Filmlerin 3. Gün görüntüsü e) Filmlerin 4. Gün görüntüsü f) Kontrol, keratin-0.1-0.25-0.5 filmler.....	17
Şekil 4.1. Kontrol filmin FT-IR spektrumu	22
Şekil 4.2. Keratin- 0.1 filmin FT-IR spektrumu.	23
Şekil 4.3. Keratin- 0.25 filmin FT-IR spektrumu	24
Şekil 4.4. Keratin- 0.5 filmin FT-IR spektrumu.	25
Şekil 4.5. Kontrol filmin TGA sonuçları	26
Şekil 4.6. Keratin-0.1 filmin TGA sonuçları.	27
Şekil 4.7. Keratin-0.25 filmin TGA sonuçları	28
Şekil 4.8. Keratin-0.5 filmin TGA sonuçları	29
Şekil 4.9. Kontrol filmin 100 µm ve 200 µm SEM görüntüsü.....	30
Şekil 4.10. Keratin-0.1 filmin 100 µm ve 200 µm SEM görüntüsü.....	31
Şekil 4.11. Keratin-0.25 filmin 100 µm ve 200 µm SEM görüntüsü.....	31
Şekil 4.12. Keratin-0.5 filmin 100 µm ve 200 µm SEM görüntüsü.....	32
Şekil 4.13. Kontrol ve farklı miktarda keratin ilave edilmesiyle elde edilen filmlerin serbest radikal giderme aktivite grafiği.....	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Kümes hayvancılığı üretim miktarı, Ekim 2022	3
Çizelge 4.1. Kontrol ve farklı miktarda keratin ilave edilmesiyle elde edilen filmlerin serbest radikal giderme aktiviteleri (%).....	33



SİMGELER VE KISALTMALAR

Ca(OH)₂	Kalsiyum hidroksit
cm	Santimetre
COOH	Karboksilik asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTG	Diferansiyel Termal Termogravimetrik
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
FT-IR	Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit
kDa	Kilodalton
Keratin-0.1	0.1 g Keratin İçeren Film
Keratin-0.25	0.25 g Keratin İçeren Film
Keratin-0.5	0.5 g Keratin İçeren Film
M	Molarite
mg	Miligram
mL	Mililitre
N	Normalite
NaOH	Sodyum Hidroksit
Na₂S	Sodyum Sülfür
NH₂	Amin grubu
nm	Nanometre
OH	Hidroksil grubu
PEG	Polietilen glikol
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SH	Sülfhidril grubu
TGA	Termal Gravimetrik Analiz
°C	Santigrat
µm	Mikrometre
α	Alfa
β	Beta

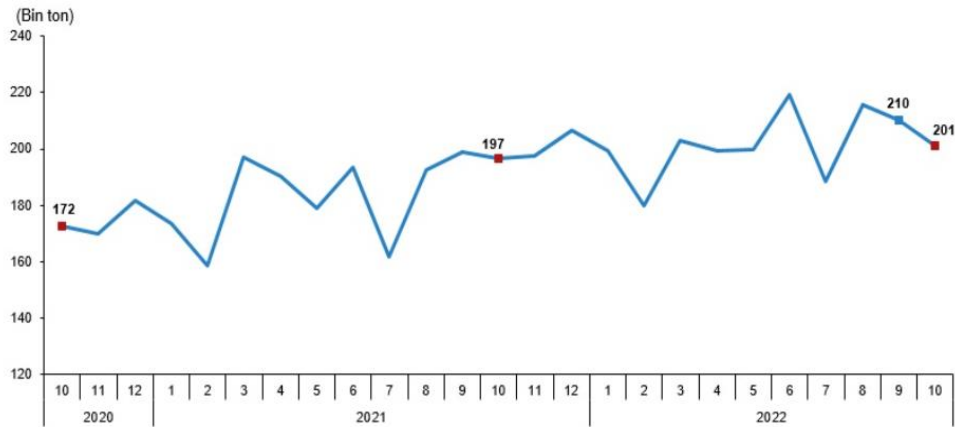
1. GİRİŞ

Dünya nüfustaki hızlı artışa paralel olarak tüketim de aynı oranda artmaktadır. Aşırı tüketimin çevreye olan etkisi ise katı atık miktarındaki artışla karşımıza çıkmaktadır. Artan talebi karşılamak için artık doğal kaynaklar yeterli değildir. Bu bağlamda, kullanılmış malzemelerin geri dönüşümü ve doğal atıkların değerlendirilmesi, gelecek nesillerin hayatlarını devam ettirebilmeleri için daha da önemli hale gelmiştir.

Atık oluşumunun en fazla olduğu endüstrilerden birisi de kümes hayvanları çiftlikleridir (Çizelge 1.1 ve Şekil 1.1). Hayvanlar kesildikten sonra ortaya çıkan atık tüyler, çiftliklerin en büyük problemidir. Ancak ülkemizde atık tüylerin geri kazanımı veya imha edilmesi ile ilgili bir mevzuat bulunmamaktadır. Bu sorun tüylerin yakılması, gömülmesi ya da düşük proteinli hayvan besini olarak kullanılmasıyla ortadan kaldırılmaya çalışılmaktadır.

Çizelge 1.1. Kümes hayvancılığı üretim miktarı, Ekim 2022 (URL-1).

	Ekim			Ocak-Ekim		
	Değişim			Değişim		
	2021	2022	(%)	2021	2022	(%)
Tavuk eti (Ton)	196590	201203	2.3	1841759	2016795	9.5
Kesilen tavuk (Bin adet)	109649	111405	1.6	1019361	1128265	10.7
Tavuk yumurtası (Bin adet)	1690094	1766165	4.5	15996473	16325887	2.1
Hindi eti (Ton)	4714	3828	-18.8	41121	44627	8.5



Şekil 1.1. Tavuk eti üretim miktarı, Ekim 2022 (URL-1).

Bilim insanlarının dikkatlerinin artması üzerine sentetik polimerlerin çevresel etkilerini azaltan, biyolojik olarak çözünebilen polimerler ve çevre dostu biyo-bozunur filmler, sentetik polimer bazlı filmlerin kullanımı ile yer değiştirmeye başlamıştır. Kaz tüyü %91'i protein (keratin) içermektedir ve bu önemli bir hammaddedir (Kock, 2006). Keratin içindeki bol miktarda sistein amino asitleri, moleküller arası ve moleküler disülfür bağları vermek üzere oksitlenir ve yüksek mekanik dayanım, hidrofobiklik ve iyi termal stabilite özellikleri ile sonuçlanan üç boyutlu bir çapraz bağlı ağ oluştururlar (Jiang vd., 2007; Tonin vd., 2007; Hill vd., 2010; Rejak vd., 2012). Bu nedenle, bu nitelikler, filmler, süngerler, kendi kendine monte edilen yapılar, kompostlanabilir ambalaj ürünleri için hidrojel, doku mühendisliği, fibroblast hücre büyümesi, yara iyileşme travması ve ilaç dağıtım sistemleri gibi tüylerden biyo-bozunur maddelerin geliştirilmesine yol açmaktadır (Srisuwan vd., 2016; Tesfaye vd., 2017a, 2017b, 2017c). Son zamanlarda, biyolojik olarak parçalanabilen filmlerin geliştirilmesi için yenilenebilir bir kaynak olarak proteinlerin kullanımına, örneğin kompostlanabilir paketlenme, tarımsal film veya yenilebilir film uygulamalarına yönelik artan bir talep olmuştur, ancak bu alanda keratine yalnızca sınırlı bir ilgi gösterilmiştir.

Günümüzde ayva meyveleri, anti ülseratif, antioksidan özellikleri gibi sağlığı teşvik edici etkilerinden dolayı iyi, düşük maliyetli ve yaygın olarak kullanılan besin kaynağı olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, fenolik bileşenler için ekonomik ve doğal bir kaynak olarak görülmektedir (Karar vd., 2014; Oliveira vd., 2007). Polisakkarit yapıdaki bitki biyopolimeri olan ayva çekirdeği müsilajı, flavonoidler, steroller, alkaloidler, tanenler, saponinler, reçine, fenol ve terpenoidler içermektedir (Moghbel ve Tayebi, 2015). Minimum üretim maliyeti ve kolay ekstrakte edilebilmesi dikkate alındığında bu polisakkaritin birçok biyopolimere kıyasla potansiyel bir film veya kaplama bileşeni olduğu görülmektedir. (Jouki vd., 2014). Ayva çekirdeği güvenilir bir müshil, kan durdurucu ve anti-inflamatuardır (Tamri vd., 2014). Ayva çekirdeği müsilajı, alındığında sakinleştirici ve dinlendirici bir etkiye sahiptir ve küçük yanıklara uygulanmaktadır (Tamri vd., 2014). Kompozit malzemeler ise birbirlerinde çözünmeyen iki veya daha fazla bileşenden oluşur ve birlikte daha güçlüdürler (Behlau ve Bullinger, 2009; La Mantia ve Morreale, 2011).

Bu tez çalışmasında hipotezimiz; atık tüylerden elde edilen keratin ile ayva çekirdeğinden müsilaj film oluşturarak, sentetik ürünlere kıyasla alternatif doğal bir kaynak olabilirliğini göstermektir. Bu doğrultuda hedefimiz atık kaz tüylerinden elde edilen keratinin, potansiyel yapısal ve biyomedikal uygulama ile biyo-malzemelere dahil edilmesi için bir materyal olarak saflaştırılması, karakterize edilmesi, karşılaştırılması ve değerlendirilmesini içermektedir.

Temel amaçlarımız:

1. Kaz tüylerini saflaştırmak, kaz tüyü keratininden ve ayva müsilajından üretilen filmlerin FT-IR spektroskopisi, TGA ve SEM kullanılarak, kimyasal, fiziksel ve morfolojik yapısını karakterize etmek ve karşılaştırmak.
2. Polimer olarak kaz tüyü kullanarak elde edilmiş keratin-ayva çekirdeği ile müsilaj temelli biyo-kompozitler hazırlamak ve bunların termal özelliklerini değerlendirmek.
3. Film örneklerinin antioksidan aktivitelerini DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikalleri uzaklaştırma yöntemi kullanarak belirlemek.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1 Kaz Tüyü

Kümes hayvanı endüstrisinin bir yan ürünü olan ve sadece az miktarda kullanılan kaz tüyleri, dünyadaki en bol ve yenilenebilir keratin biyokütlesidir (Whitfield vd., 2008). Günümüzde kaz tüyleri, kanatlı hayvan endüstrisinde atık ürün olarak kabul edilmektedir, çünkü kullanımları ekonomik olarak düşüktür ve yanma veya gömme yoluyla yok edilmeleri çevresel sorunlara neden olmaktadır (Parkinson, 1998). Yakılarak yok edilmeleri sera gazlarının açığa çıkmasının yanında hava, su ve toprak kirliliğine neden olurken, tüylerin bir çöplükte yavaşça ayrışmaları çok fazla zaman ve toprak gerektirmektedir (Fan, 2008; Whitfield vd., 2008; Xu vd., 2013). Kontrolsüz bir şekilde tüylerin atılması çevremizde kirliliğe yol açsa da bu değerli biyokütlenin kullanılması, sağlık tehlikelerini azaltarak ve katı atık sahalarına gönderilen katı atık miktarını azaltarak çevreye faydalı olacaktır. Bu nedenle hem ekonomik hem de çevresel açıdan, bu kaynağı kullanmak için etkili ve karlı bir süreç geliştirmek oldukça arzu edilmektedir. Buradaki zorluk, bu atık malzemeyi (Şekil 2.1) kullanılabilir ve değerli ürünlere dönüştürmektir.

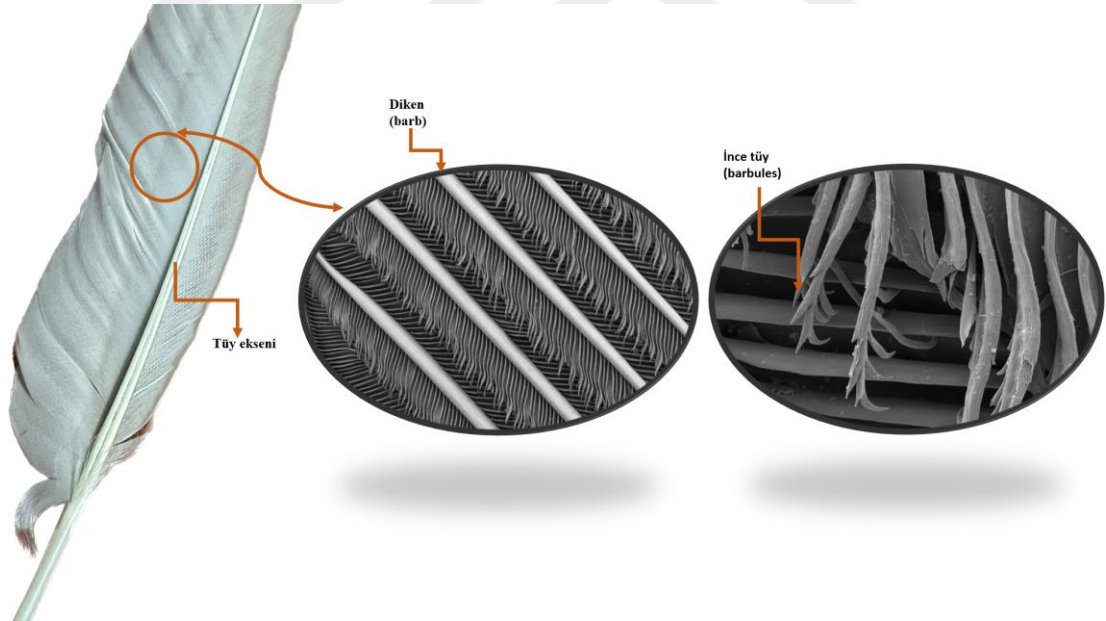


Şekil 2.1. Atık kaz tüyü.

Kanatlı tüyleri yaklaşık %91 keratin, %1 lipid ve %8 sudan oluşur, bu nedenle potansiyel olarak protein üretimi için kullanılabilirler (Schmidt ve Line, 1996; Acda, 2010).

Tüylerden türetilen malzemeler, yıllık olarak üretilen tüylerin çoğunu potansiyel olarak tüketebilecek birçok uygulama için avantajlı bir şekilde kullanılabilir, çünkü tüyler düşük yoğunluklu, iyi akustik ve ısı yalıtım özellikleri dahil olmak üzere benzersiz özelliklere sahiptir (Pourjavaheri, 2017). Kümes hayvanları tüyü ayrıca protein lifleri için ucuz ve yenilenebilir bir kaynaktır (Wrzeńska-Tosik ve Adamiec, 2007).

Tüylerin makroskobik görünümü (Şekil 2.2), silindirik ve içi boş bir kök ve bu kökü takip eden bir sapla biten bir tüy eksenini gösterir. Biyolojik olarak tüyler, kalamus denilen sap dışında cansız bir yapıya sahiptir. Esas olarak lifler ve tüyler olmak üzere iki kısımdan oluşur (Cheung vd., 2009). Tüy eksenini, keratinin katı bir yapı oluşturmak için sertleştiği bölümdür.



Şekil 2.2. Tüyün mikro yapısı.

2.2 Proteinler

Proteinler, vücutta oksijen taşıma ve depolama, kaslar arasında bağlantı sağlama gibi birçok fiziksel fonksiyonlardan sorumludur.

Proteinler enzimlerin yanı sıra, esasen hayvan ve bitki canlı hücrelerinin ve hayvan dokularının protoplazmasının ana girişidir.

Proteinler ve peptitler biyolojik sistemlerde birçok fonksiyona hizmet eder (Bruice vd., 2004). Çoğu protein C, H, O ve N ile birlikte S, P, Fe, Mn, Cu, Zn vb. metal türlerini içerir. Proteinlerin temel özelliği azot içermesidir. Proteinin azot içeriği %15-18 civarındadır.

Proteinler, amino asitlerin oluşturduğu uzun zincirli yapılardır. Proteinler α -amino asitlerden oluşur. Amino asitler hem amino ($-\text{NH}_2$) hem de karboksil ($-\text{COOH}$) fonksiyonel grupları içerir. Diğer bir deyişle hem bazik hem de asidik özellikler gösterirler. Farklı gruplar, R gruplarının $-\text{NH}_2$ 'sinin hidrojen atomunu ikame eder. Amino asitler, bu farklı ikame grupları ile birbirinden farklıdır.

Protein molekülünün yapısı 4 kısımda açıklanabilir: Proteinlerin birincil yapısı, peptit zincirindeki amino asitlerin dizisini, sayısını ve türlerini belirler. Sayıdan bağımsız olarak serbest uçta $-\text{NH}_2$ grubu ve diğer uçta $-\text{COOH}$ grubu vardır. Proteinlerin ikincil yapısı, bu polipeptit omurgasının 3 boyutlu düzeni olarak düşünülebilir. Peptit bağlarının oksijen ve nitrojen atomları arasında oluşan hidrojen bağları, proteine iki farklı yerleşim tipi sağlar. Bu sistemde sadece zincirler arası α -sarmal yapısı ve zincir içi cis- ve trans-izomerler veya β -tabaka olabilir. Yapılar peptit bağlarının geometrisi ve zincirler arası hidrojen bağları ile açıklanır. Proteinlerin üçüncül yapısı, proteinleri oluşturan amino asitler üzerinde bulunan merkaptto ($-\text{SH}$), amino ($-\text{NH}_2$), karboksil ($-\text{COOH}$) ve hidroksil ($-\text{OH}$) gibi fonksiyonel grupların etkisiyle helesonize veya bükülmüş polipeptit zinciri şeklinde, kendi üzerine katlanmasıyla 3 boyutlu, top biçiminde bir yapı meydana getirir. Üçüncül yapıyı oluşturan bu katlanma mekanizması moleküle güç verir. Proteinlerin kuaterner yapısı, aynı veya farklı türdeki proteinlerin hidrojen bağları, Van der Waals veya iyonlar arası çekim kuvvetlerinin neden olduğu polimerizasyon ile oluşturulur (Pauling vd., 1951; Bruice vd., 2004).

2.2.1 Keratin proteini

Keratin yapısal fibröz proteindir (Fan, 2008) ve saç, tüy, tırnak, toynak ve memelilerin boynuzları, sürüngenlerin, kuşların ve insanların epitel hücrelerinin ana bileşenidir (Vasconcelos vd., 2008). Tüylerin kimyasal yapılarına bakıldığında α -keratin yerine ana yapısal olarak β -keratinden oluştuğu görülür (Sawyer vd., 2000).

Keratin proteininin yaklaşık dörtte biri β -tabakalı bir yapıya sahiptir ve hidrofobik kalıntılar bakımından zengin olan molekülün merkez kısmında yoğunlaşmıştır (Arai vd., 1983). Hidrofobik kalıntıların yüksek içeriği, liflerin organik çözücülerle uyumlu olduğunu göstermektedir (Zhan ve Wool, 2011).

Diğer hayvan dokularına kıyasla bozulmaya karşı oldukça dirençli olan keratinler birçok uygulama için önemli bir yenilenebilir ve sürdürülebilir hammadde (biyopolimer) kaynağıdır (Khosa ve Ullah, 2013; Wang vd., 2016; Latha vd., 2016). Doğal biyopolimer kökenleri nedeniyle biyolojik olarak parçalanabilirler. Keratinler, yüksek stabilite ve düşük çözünürlük ile karakterize edilen proteinlerdir (Zoccola vd., 2009). Yüzey tokluğu, esneklik, yüksek uzunluk-çap oranı, hidrofobiklik ve karmaşık hiyerarşik bir yapı ile karakterize edilen oldukça organize bir morfoloji gibi birçok önemli özelliğe sahiptirler (Martinez-Hernandez vd., 2005). Bu avantajlara, düşük maliyet ve yoğunlukları, iyi ısı yalıtım özellikleri ve aşındırıcı olmaması eklenebilir. Tüylerin sert, çözünmeyen, lifli bir malzeme olarak işlevi, bu özelliklerin arzu edilir olmasını sağlamaktadır (Schrooyen vd., 2001).

Birçok doğal türetilmiş biyomolekül gibi, keratinler de içsel biyolojik aktiviteye ve biyoyoumluluğa sahiptir (Sundaram vd., 2015). Bu durum, yara iyileşme ve onarım ürünlerinde, ilaç dağıtımında ve eczacılıkta, kemik dokusu yenilenmesi, travma ve tıbbi cihazlar gibi doku mühendisliği uygulamalarında keratin biyomalzemelerinin gelişmesine yol açmaktadır (Reddy ve Yang, 2007; Rouse ve Van Dyke, 2010; Wang vd., 2017). Keratin proteininden üretilen kişisel bakım ürünleri, şampuan, sülfat saç düzleştirici, hijyen ürünleri, yaşlanma karşıtı krem (kırıksıklık karşıtı bakım kremi), cilt, saç ve tırnak bakım ürünleri, yüz temizleyici ve kozmetik ürünlerini içermektedir (Goodwin, 1974; Seger vd., 2003; Gupta vd., 2012; Reddy ve Yang, 2007).

2.2.2 Keratin yapısı

Memeli tüy, saç, yün, toynak, kuş gagası, sürüngen tırnakları ve boynuzu gibi dış kaplama sağlayan başlıca yapısal lifli proteinlerden birisi olan keratinin moleküler düzeyde, en belirgin özelliği sistein kalıntısındaki yüksek konsantrasyondur (toplam amino asit kalıntılarının %7-20 sayısı). Suda çözünmezlik ve mekanik mukavemet, esas olarak keratinde büyük miktarda hidrofobik amino asit ve sistein kalıntılarının oluşmasından kaynaklanmaktadır.

Keratin, sahip olduğu üç boyutlu yapısını korumak için birçok disülfid köprüsü veren çok sayıda sistein kalıntısı (amino asitlerin yaklaşık %8'i) içermektedir. Geniş çapraz bağlama ve yüksek miktarda hidrofobik kalıntılar içermesinden dolayı, keratinler su gibi polar çözücülerde ve apolar çözücülerde çözünmemektedirler. İki sistein molekülü arasında oluşan disülfür bağları, keratinin yüksek mukavemetinden ve proteolitik enzimlerin etkisine karşı direncinde görevlidirler (Wrześniewska-Tosik ve Adamiec, 2007). Sistinin kolayca azaltılabilir, oksitlenebilir ve hidrolize edilebilir olması keratini çok reaktif bir protein kılmaktadır. Keratinin kimyasal aktivitesi sistin içeriğine önemli oranda bağlıdır (Schrooyen vd., 2000). Keratin içerisindeki sistein kalıntıları, mekaniksel olarak kuvvetli üç boyutlu bağlı keratin lifi ağına yol açabilecek biçimde oksitlenir (Martelli vd., 2006). Yün ve tüylerin esnek ancak sert özelliği, keratin lifinin bu karakteristik yapısına bağlıdır. Yumuşak veya sert olarak sınıflandırılmış iki tip keratin vardır (Schrooyen vd., 2001). Yumuşak keratinler, disülfür bağ içeriği düşük olan nasır tabakalarında bulunurken sert keratinler yüksek disülfür içeriğine sahip olup tüy, saç, tırnak ve toynak gibi epidermal uzantılarda bulunur. Disülfür bağlarının miktarı, keratinöz bir materyalin epidermis gibi yumuşak, esnek ve genişletilebilir veya saç veya tüyler gibi sert ve uzatılamaz olup olmayacağını belirlemektedir.

Keratinin mikroskobik yapısı onun dayanıklılığının ve esnekliğinin ispatıdır. Bu proteinin molekülleri alfa heliks adı verilen bobinlere bükülür ve birçok disülfür bağı (sülfür iyonu çiftleri arasındaki bağlar) içermektedir. Disülfür bağları stabil, proteinleri parçalamada uzmanlaşmış proteolitik enzimlerin etkisine karşı dayanıklıdır (Fraser vd., 1972). Beta-keratin, alfa heliksleri bakımından zengin lifli bir protein olan alfa-keratin' in aksine, yığılmış β -kıvrımlı tabakalar açısından zenginlik göstermektedir. α -keratinler memeli vücut kısımlarında ve yün, saç, tırnak, boynuz ve toynak gibi dokularda bulunmaktadır (Wang vd., 2016a). β -keratinler ise, kuşların tırnak, pençe, kabuk ve gagalarının karakteristik özelliğidir (Chen vd., 2012).

2.3 Keratin İzolasyon Yöntemleri

Yağı alınmış kaz tüyü (10 g) 100 ml distile su, 3.0 N NaOH ve 0.2 N Na₂S ile karıştırılmıştır. Reaksiyon, 25 °C' de bir su banyosunda 1,5 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Tüm maddeler manyetik karıştırıcı yardımıyla bazik ortamda çözülmüştür.

Daha sonra seyreltik HCl çözeltisi yardımıyla keratin çözeltisinin pH' ı 4.2' ye ayarlanarak keratin çöktürülmüştür. Bu keratinler aseton ile yıkanıp, vakumlu süzgeç kullanılarak süzölmüştür. Oluşan keratin daha sonra etüvde 50 °C' de bir gece bekletilmiştir (Jones ve Mecham, 1943).

Yağdan arındırılmış kaz tüyü (10 g), 100 ml damıtılmış su ve 10 g NaOH ile karıştırılmıştır. Baz çalkalanarak ve elle karıştırılarak iyice çözülmüştür. Solüsyona 0,15 g EDTA ilave edildikten sonra üzerine keratin solüsyonu dökölerek 40 °C' lik bir banyoya yerleştirilmiştir. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, HCl ile pH 4.2' ye nötrleştirilmiştir. Daha sonra çöken keratin önce santrifüj edilerek asetonla yıkanmış son olarak 50 °C' de 24 saat etüvde kurutulmuştur. (Kalaoğlu, 2010)

Tavuk tüyleri temizlenmiş ve 72 saat oda sıcaklığında kurutulmuştur. Tüyler, 75–700 µm' lik küçük lifler halinde kesilmiştir. Tavuk tüyleri (500 g) suya (1:1, ağırlık/ağırlık) daldırılmış ve 1 saat karıştırılmıştır. Karıştırma işleminden sonra karışıma 300 mL 1 M NaOH çözeltisi ilave edilmiş ve karışım oda sıcaklığında 24 saat homojenize edilmiştir. Karışım 10,000 x g' de 1 saat santrifüjlendikten sonra bir tülbenkten süzölmüş ve 1 N HCl ile nötralize edilmiştir. Süzöntünün diyalizi, rejenere selölözün Spectra/Por diyaliz zarları (MWCO, 3.5 kDa, Spectrum Laboratories, Inc., Rancho Dominguez, CA, ABD) kullanılarak 72 saat süreyle gerçekleştirilmiş ve ardından numuneler dondurularak kurutulmuştur (Song vd., 2014).

Belirli bir ağırlıkta temizlenmiş tavuk tüyü, 8 mol/L üre ve L-sistein içeren karışık çözeltiye konulmuş, %50 NaOH çözeltisi kullanılarak pH 10.5' e ayarlanmış ve 12 saat 70 °C' de mekanik karıştırma işlemine tabi tutulmuştur. İşlemden sonra tüy dispersiyonu, süpernatantı elde etmek için 10000 rpm' de 20 dakika santrifüjlen, çözönmüş keratini çökeltmek için hidroklorik asit ve sodyum sülfat kullanılarak pH 4' e ayarlanmıştır. Toplanan kısım, üç kez yıkanıp, süzölmüş ve yüzey suyu peçete ile çıkarılmıştır. Keratin tozunu elde etmek için dondurularak kurutulmuş ve toz haline getirilmiştir, verim yaklaşık %60 bulunmuştur (Ma vd., 2016).

İndirgeme işleminde yağı alınmış tüyler (1 g), 2-merkaptöetanol, sodyum bisülfid veya DTT içeren 25 mL' lik sulu çözölteilere konulmuş ve karışım, 50 °C' de 2 saat çalkalanmıştır.

Hidrolitik süreçte yağı alınmış tüyler (10 g), reaksiyon sırasında tüylerin toplanmasını önlemek için manyetik bir karıştırma çubuğu ile 70 °C' de 75 dakika boyunca ağırlıkça %1.0, 1.5, 2.0 veya %2.5 çeşitli konsantrasyonlarda 100 mL sodyum hidroksit çözeltileri ile karıştırılmıştır. Her iki işlemten sonra elde edilen karışım, çözünmeyen materyali ayırmak için 9000 x g' de 15 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatant, katlanmış bir filtreden süzölmüştür. Çeşitli indirgeyici ajanlarla elde edilen süzöntü, her gün dış suyu değiştirilerek 72 saat boyunca rejenere selülozdan (MWCO 3500-5000 Da) Spectra/Por diyaliz membranları kullanılarak damıtılmış suda diyaliz edilmiştir. Keratin tortusu birkaç kez distile su ile yıkanmış ve 9000 x g' de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Çözünmeyen tortu, sabit bir ağırlık elde edilene kadar 105 °C' de kurutulmuştur. Çözünür keratin verimi, çözünmeyen malzemenin kuru ağırlığı ölçülerek belirlenmiştir (Sinkiewicz vd., 2017).

Tüyler keratin ekstraksiyonu için distile sudan geçirilerek kurutulmuştur. Bu kurumuş toz halindeki kaz tüylerinin üzerine (10g) 250 ml 0.5 M Ca(OH)₂, 8 M üre ve tüyün ağırlıkça % 10'u kadar SDS çözeltisi eklenerek 30 dakika boyunca 70°C'de ısıtılarak sürekli karıştırılarak keratin ekstrakte edilmiştir. Bu karışım diyaliz torbasına alınarak distile su içerisinde (günde 3 kez değiştirilir) nötral pH' ya gelene kadar bekletilmiştir. Elde edilen keratin film yapımına kadar +4 °C' de saklanmıştır (Tesfaye vd., 2018).

2.4 Keratin ile Yapılmış Çalışmalar

Moore vd. (2006) yaptıkları çalışmada, tüy keratininin ortalama moleküler ağırlığını, amino asit profilini, termal stabilitesini ve elde edilen filmlerin temel özelliklerini belirlemişlerdir. Üre, 2-merkaptetanöl ve yüzey aktif madde (pH 9.0) içeren sulu bir çözelti ile gerçekleştirilen ekstraksiyon, kuru tüyde bulunan keratinin %94' ünün çıkarılmasına izin vermiştir. Keratinin moleküler ağırlıkları elektroforez ile belirlenmiş ve 10 ila 14.000 g mol⁻¹ arasında değişmiştir. Keratin termogravimetrik analizleri, ekstraksiyon işleminin keratinin bozunma sıcaklıklarını değiştirmediğini göstermiştir. Tüy keratin filmleri, literatürde belirtilen yün keratin filmlerinden daha düşük gerilme mukavemeti ve kopmada yaklaşık aynı uzama göstermiştir.

Hill vd. (2010) yaptığı çalışmada, tipik ve iyi yayınlanmış bir teknik kullanarak azaltılmış bir keratin biyomateryal, keratin formu üreterek bir biyomateryal olarak genel kullanımına etkileri olabilecek çeşitli yönlerini karakterize etmişlerdir.

Keratinler insan saçından ekstrakte edilmiş, jeller ve gözenekli yapı iskeleleri halinde üretilmiş, karakterize edilmiş ve hücre ve doku ile etkileşimlerini belirlemek için biyolojik sistemlere yerleştirilmiştir. Başlangıçta, proteinler moleküler ağırlık ve amino asit içeriğinin yanı sıra hücre yapışmasını ve çoğalmasını kolaylaştırma yetenekleri açısından analiz edilmiştir. Çapraz bağlı hidrojeller, in vitro hidrolitik stabiliteleri için araştırılmış; liyofilize jellerin mikro mimarisi ve in vivo doku tepkisi de incelenmiştir. Bu deneyler, keratinlerin biyolojik sistemlerde mükemmel uyumluluk gösterdiğine dair önceki bulguları hem doğrulamış hem de genişletmiştir.

Martelli vd. (2012) çalışmasında, farklı moleküler ağırlıklara sahip polietilen glikolün (PEG) filmlerin higrokopisite, çözünürlük ve su buharı geçirgenliği üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Su sorpsiyon izotermi, bu çalışmada incelenen tüm a_w aralığı için, PEG400 ile elde edilen filmlerin, daha yüksek moleküler ağırlıklı PEG'lerle elde edilen filmlerden daha hidrofilik olduğunu göstermiştir. PEG kullanımı, tavuk tüyü keratin filmlerinin WVP'sinde bir artışa neden olmuştur.

Yin vd. (2013) tüy keratinini, Shindai yöntemi (etanol ön işlemi, hidroklorik asit ön işlemi ve 2-merkaptetanöl deoksidadizasyonu) olarak adlandırılan yöntemle indirgeyici koşullar altında ekstrakte etmiştir. Tüylerin ön işleminden sonra, üre (0.33 mol L^{-1}), SDS (0.05 mol L^{-1}), 2-merkaptetanöl (0.095 mol L^{-1}) ve Tris (0.016 mol L^{-1}) içeren 150 mL'lik bir çözeltiye daldırılarak pH 8.0' a ayarlanmıştır. Karışım 70°C 'de 2 saat N_2 atmosferi altında karıştırılmıştır. Filtre edildikten sonra keratin solüsyonu elde edilmiştir. Çözelti asitleştirilmiş, keratin etanol ile çöktürülmüş, distile su ile yıkanmış ve liyofilize edilmiştir. Reaksiyonlar 150 mL indirgenmiş keratin solüsyonu içeren bir şişede gerçekleştirilmiş, solüsyon 70°C 'de çalkalanmıştır. pH'ı 8-9' a ayarlamak için 5 mL kloroasetik asit çözeltisi (0.14 g mL^{-1}) 5 dakika içinde damlalar halinde eklenmiştir. 1 saat reaksiyona girdikten sonra reaksiyon durdurulmuş ve asitleştirilmiştir. Keratin, HCl çözeltisi ile çöktürülmüş, su ile yıkanmış ve modifiye keratin verecek şekilde liyofilize edilmiştir. İndirgenmiş keratinin sulu dispersiyonu, belirli bir miktarda gliserol ile karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 1 saat karıştırılmıştır. Bu film oluşturan dispersiyonlar, polistiren petri kaplarına (10 cm çapında) dökülmüş ve havalandırılmış bir fırında 50°C 'de 24 saat kurutulmuştur. Filmler petri kabından çıkarılmış ve analiz için saklanmıştır. Gözenekli keratin filmler mükemmel kontrollü salım özelliklerine sahip bulunmuştur.

Tüylerden keratin verimi %93 bulunmuştur. İkinci olarak, ekstrakte edilen keratine dayalı filmler kolayca hazırlanmıştır. İyi mekanik özellikler göstermişlerdir. Ayrıca, tüy keratin filmleri ilaçları yüklemek için kullanılmıştır. pH duyarlılığı ve biyouyumlu iskelet, ortaya çıkan filmi kesinlikle biyomedikal alanda uygulama için çekici bir aday haline getirmiştir.

Ozaki vd. (2014) çalışmalarında, guanidin hidroklorür ve 2-merkaptotanol içeren bir çözeltide yün keratin ekstraksiyonu ve ardından hem keratin agregasyonu hem de yeniden çapraz bağlanma için diyaliz yoluyla sünger benzeri gözenekli bir keratin hidrojel hazırlamak için yeni ve basit bir yöntem göstermiştir. Jel, oldukça gözenekli bir yapıya ve dondurarak kurutmadan sonra rehidrasyonda hızlı şişme özelliğine sahip bulunmuştur. Ayrıca hem çekme testinde hem de dinamik viskoelastisite ölçümünde yüksek mekanik dayanıma sahip çıkmıştır. Üç tip hayvan hücresi, PC12 hücreleri, HOS hücreleri ve murin embriyonik fibroblastlar, iyi yapışmış ve gözenekli hidrojel yüzeyinde büyümüştür.

Ramakrishnan vd. (2018), yaptıkları araştırmanın temel amacı, tavuk tüylerinden keratin kullanarak biyoplastik sentezlemektir. Plastik filmler üretmek için farklı konsantrasyonlarda gliserol (%2 ila %10) ile karıştırılmış ekstrakte edilmiş keratin solüsyonu, 5 saat boyunca 60 °C' de sabit manyetik karıştırma altında karıştırılmıştır. Karışımlar daha sonra alüminyum tartım teknesine dökülmüş ve 24 saat 60 °C' de etüvde kurutulmuştur. Numunelerin mekanik özellikleri test edilmiş ve biyoplastiklerin fiziko-kimyasal özellikleri incelenmiştir. Sonuçlara göre, %2 gliserol içeren keratinden oluşan biyoplastik en iyi mekanik ve termal özelliklere sahiptir. Biyo-bozunurluk testine göre üretilen tüm biyo plastiklerin biyolojik olarak parçalanabilir olduğu kanıtlanmıştır. Bu nedenle, sonuçlar, filmin çevreye zararlı fosil yağı bazlı malzemelere alternatif olarak uygulanabileceğini göstermiştir.

Çelik (2021) yaptığı çalışmada; keratin, farklı çözücüler (NaOH; NaOH+Na₂S; Na₂S) kullanılarak tavuk tüylerinden ekstrakte edilmiş ve bu bulgular reaksiyon sürecini anlamak için birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Maksimum keratin ekstraksiyonu elde edildikten sonra polivinil alkol karıştırılarak çeşitli biyofilmler hazırlanmıştır. Biyofilmlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri daha sonra, sonuçları yayınlanmış literatürle karşılaştırmak için çeşitli yöntemler (yani FT-IR; SEM; XRD, vb.) kullanılarak karakterize edilmiştir.

Sonuçta, tavuk tüylerinin değeri lenmesi için çevre dostu bir geri dönüşüm girişimi tanımlanmış olmuştur.

Khumalo vd. (2022) yaptıkları çalışmada, esnek, gözenekli, biyolojik olarak uyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir tübüler keratin nanolifleri, sinir rejenerasyon kanalları olarak üretmişlerdir. Keratin, atık tavuk tüylerinden ekstrakte edilmiş ve daha sonra polivinil alkol ile harmanlanmış ve elektrospinleme ile nanofiber kanallara dönüştürülmüştür. Nanofiber kanalların, 170 ila 234 nm arasında değış en ortalama çaplara sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Nanoliflerin ortalama çapının, keratin içeriğı arttığında azaldığını gözlemlemişlerdir. Buna karşılık, nanolif çap dağılımı aralığı daralmış, bu da nanolifler inceldikçe sayılarının arttığını ve böylece aralarındaki arayüzey boşluklarının azaldığını göstermişlerdir. Analiz, nanoliflerde keratin proteininin varlığını doğrulayarak biyouyumluluğı göstermiştir.

Mattiello vd. (2022), çalışmalarında, koyun yünü ve tavuk tüyü olmak üzere iki farklı endüstriyel atık türünden sülfitoliz yöntemi kullanılarak film biriktirmeye imkân verecek şekilde ekstrakte edilen keratinin karakteristik yapısı incelemişlerdir. Yapısal ve mikroskopik özellikler, SEM, Raman spektroskopisi, AFM ve IR spektroskopisi ile incelenmiştir. Bunu takiben ara filamentler için küçük açılı X-ışını saçılımı (SAXS) analizi yapılmıştır. Sonuçlar, lifin montaj karakterinin, hidrasyon, termal ve redoks ajanlarına yanıt vermek için en uygun ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilebileceğini göstermiştir. İki farklı hayvan kökeninden gelen keratinin ara liflerini ayrıntılı olarak tasvir edilmiştir. Elyafın amorf kısmı ve orta menzilli yapı, polar bağlar (tersinir hidrojen bağları) ve kovalent tersinmez bağlar arasındaki rekabetten çeşitli şekillerde etkilenmiş ve Raman ve SAXS gibi ince yapısal yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen proteinin ikincil yapısının korunması, atıktan elde edilen keratinin polimer filmlerde ve muhtemelen biyo-kompozitlerde daha fazla uygulanması için bir potansiyel olabileceğini göstermiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Tüylerin Toplanması

Türkiye, Aksaray ilindeki bir kaz çiftliğinden atık kaz tüyleri temin edilmiştir.

3.2 Tüyler İçin Ön İşlem

Toplanan atık kaz tüylerin kan ve diğer kirlere arındırılması için önce 3 defa distile su ile yıkanmıştır. Distile su içerisinde 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra yağlarından arındırılması için Soxhlet ekstraksiyonu yapılmıştır. Yağdan ve kirlere arındırılan tüyler kuruması için gün ışığında 48 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutulan tüyler ekstraksiyon için küçük parçalar halinde kesilmiştir.



Ham kaz tüyü



Temizlenmiş kaz tüyü

Şekil 3.1. Ham kaz tüyü ve temizlenmiş kaz tüyü görüntüsü.

3.3 Keratin Ekstraksiyonu

Keratin ekstraksiyonu için küçük parçalara ayrılmış kaz tüylerinden 10 g tartılmış, 200 ml saf su içerisinde 0.2 N Na_2S , 3 N NaOH karıştırılarak bir çözelti elde edilmiştir. Hazırlanan çözelti tartılan kaz tüylerinin üzerine dökülmüştür. Oluşan çözelti 40 °C 2 saat sıcak su banyosuna bırakılmıştır. Ekstrakte edilen keratini çöktürmek için 2 N HCl çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan HCl çözeltisi manyetik karıştırıcı üzerindeki keratin çözeltisine damlatıldı. Çözeltinin pH'ı 4.2'ye ayarlandı ve çöktürme işlemi tamamlandı. Çöktürülen keratinler aseton ve distile su ile yıkanarak filtre kağıdı yardımıyla süzüldü. Elde edilen keratinin kuruması için 23 °C'de 24 saat etüve bırakıldı.



Şekil 3.2. Keratin eldesi.

3.4 Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Kurutulan keratinler havanda ezilerek toz haline getirilmiştir. Elde edilen keratin tozundan protein tayini için 1 g tartılmıştır. Kjeldahl metodu kullanılarak protein tayini gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3. Toz hale getirilen keratin.

3.5 Ayva Çekirdeği Müsilajının Hazırlanması

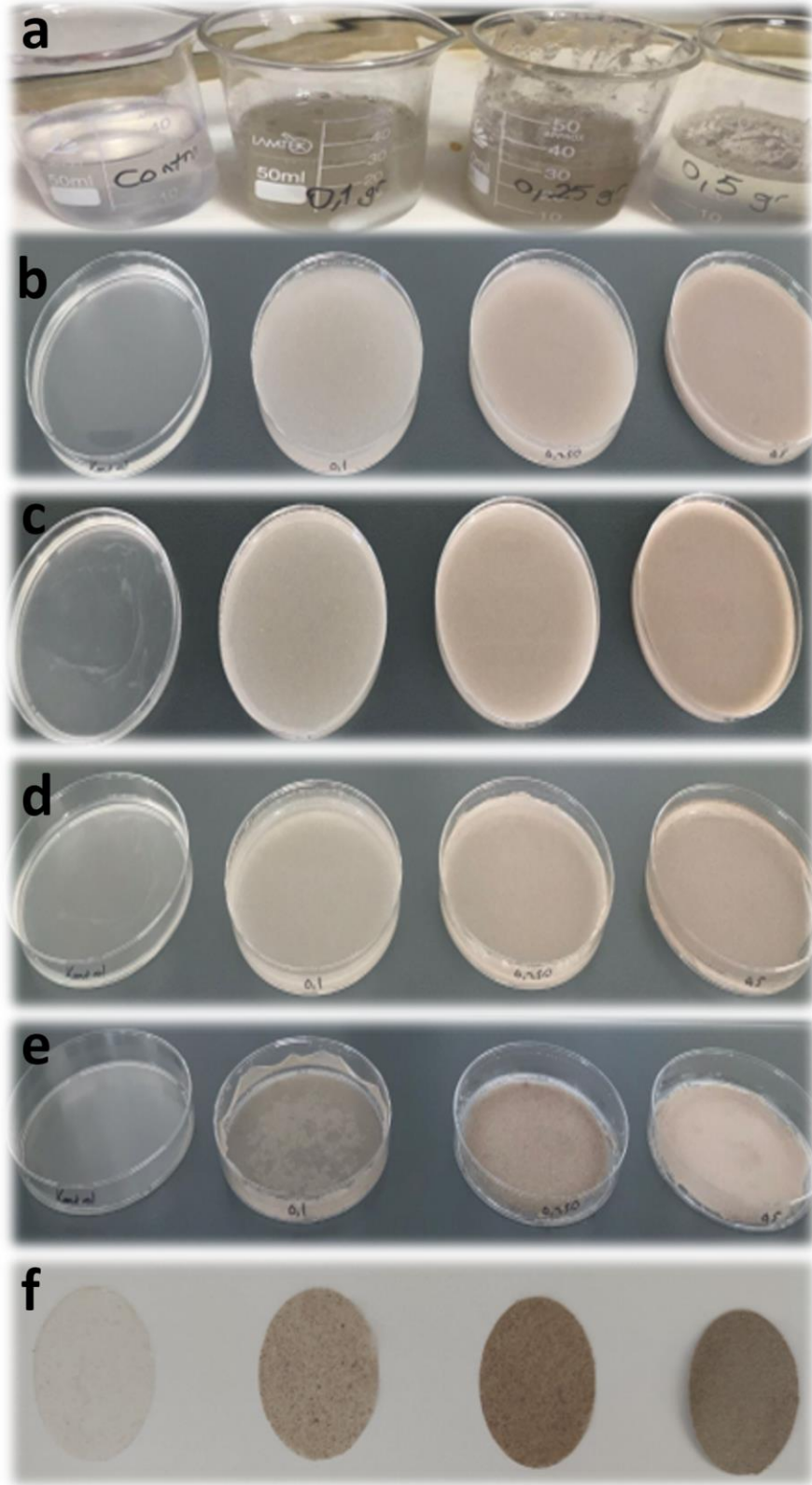
Bitkisel müsilaj için 5 g ayva çekirdeği hassas terazi de tartılıp bir behere alınmıştır. Tartılan ayva çekirdeğinin üzerine 250 ml distile su eklenmiştir. Hazırlanan karışımın jel kıvamına gelmesi için 1 gece oda sıcaklığında bekletilmiştir.



Şekil 3.4. Ayva çekirdeği müsilajının hazırlanması.

3.6 Keratin Filmlerin Oluşturulması

Film oluşturmak için elde edilen keratin tozundan farklı miktarlarda tartılarak (0.1 g, 0.25 g, 0.5 g) beherlere alındı. Üzerlerine 40 ml ayva jeli ve 8 damla gliserol eklendi ve karışımların homojen hale gelmesi için manyetik karıştırıcı da karıştırıldı. Homojen hale gelen karışımlar petri kaplarına döküldü. Kontrol grubu film oluşturmak içinse 40 ml ayva jeli ve 8 damla gliserol behere alınarak manyetik karıştırıcı da karıştırılıp petri kabına döküldü. Filmlerin oluşumu 4 gün boyunca gözlemlendi. 4. gün sonunda filmler petri kaplarından çıkartıldı ve enstrümental analizler için hazır hale getirildi.



Şekil 3.5. a) Kontrol, keratin- 0.1,0.25 ve 0.5 g karışımların hazırlanması, **b)** Filmlerin 1. gün görüntüsü, **c)** Filmlerin 2. gün görüntüsü, **d)** Filmlerin 3. gün görüntüsü, **e)** Filmlerin 4. gün görüntüsü, **f)** Kontrol, keratin-0.1-0.25-0.5 filmler.

3.7 Filmlerin Karakterizasyonu

Filmlerin karakterizasyonun belirlenmesi için; fourier transform infrared spektroskopisi (FT-IR), termogravimetrik analiz (TGA) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri alınmıştır.

3.7.1 Kompozit filmlerin kalınlığı

Filmlerin 10 farklı noktasından dijital mikrometre Mitutoyo (Coolant Proof Micrometer-293) kullanılarak kalınlık tespit edilmiş ve ölçümlerin ortalaması alınarak sonuçlar verilmiştir.

3.7.2 FT-IR

Kontrol filmi ve 0.1-0.25-0.5 g müsilağ temelli keratin filmlerinin ATR-FTIR spektrumları, 4000-650 cm^{-1} frekans aralığında bir Perkin Elmer FTIR Spektrometresi ile ölçülmüştür.

3.7.3 TGA

Keratin lifli kompozit filmlerin termal stabilitesi TGA ile ölçülmüştür. Kontrol filmi ve 0.1-0.25-0.5 g keratin filmlerin ısıtma ölçeği, 1 dakikada 10 $^{\circ}\text{C}$ ' lik bir sıcaklık değişimi ile 30 ila 650 $^{\circ}\text{C}$ arasındaydı.

3.7.4 SEM

Kontrol film ve müsilağ temelli keratin film yüzeylerinin morfolojisi, bir ZEISS Gemini 500 (Alan Emisyonu) Taramalı Elektron Mikroskobu kullanılarak analiz edildi. Analizden önce, numuneler bir Gatan Precision Aşındırma Kaplama Sistemi (PECS) ile altınla püskürtme ile kaplanmıştır.

3.8 Filmlerin Antioksidan Aktiviteleri

Müsilağ temelli keratin filmlerin uzaklaştırma aktiviteleri aşağıdaki yöntemle belirlendi. Filmler test tüplerine yerleştirilmeden önce küçük parçalar halinde kesilmiş ve 10 mg olarak tartılmıştır. Daha sonra 6×10^{-5} M konsantrasyonda DPPH çözeltisi hazırlandı ve bu reaktif çözeltisinden 1.0 mL numune tüplerine ilave edildi. Oda sıcaklığında karanlık ortamlarda 30 dakika bekletildi. Daha sonra, tüm çözeltiler bir UV-Vis spektrofotometresi ile 517 nm dalga boyunda ölçüldü.

Analiz, her numune için üç kopya halinde gerçekleştirildi. Müsilaj temelli keratin filmlerin DPPH radikal uzaklaştırma aktiviteleri aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı:

$$\text{Engelleme (\%I)} = ((A_{\text{kontrol}} - \text{Örnek}) / A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

A_{kontrol} , kontrolün absorbansı,

Örnek absorbansı, 0.1-0.25-0.5 g keratin filmler+ DPPH



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu tez kapsamında atık kaz tüyünden keratin ekstraksiyonu hedeflenmiş ve bitkisel müsilaj temelli keratin filmler oluşturularak özellikleri araştırılmıştır. Elde edilen müsilaj temelli filmlerin spektroskopik (FT-IR, SEM, TGA) yöntemler kullanılarak yapıları incelenmiştir. Keratin partiküllerinin protein verimi hesaplanmış ve antioksidan aktivelerine bakılmıştır. Spektrumlardan elde edilen sonuçlarla literatürdeki sonuçların benzer olduğu gözlenmiştir.

4.1 Keratin Ekstraksiyonu ve Protein Konsantrasyonu

Sıcaklık, zaman ve indirgeyici ajanların konsantrasyonu gibi fiziksel koşullar, ekstrakte edilen keratinin kuru ağırlığı ve nihai verimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Kaz tüyünden keratin ekstraksiyonu için iki farklı çözücü kimyasal kullanılmıştır (EDTA, Na₂S). Yapılan ekstraksiyon sonucunda en iyi protein verimi Na₂S (%86.34) vermiştir ( akmak, 2022). Na₂S ile ekstrakte edilen keratin veriminin literatürde de benzer oranlarda (%95.3; %93.3 gibi) bulunduğu tespit edilmiştir (Ji vd., 2014;  elik, 2021).

4.2 Müsilaj Temelli Keratin Film Hazırlama ve Mekanik  zellikleri

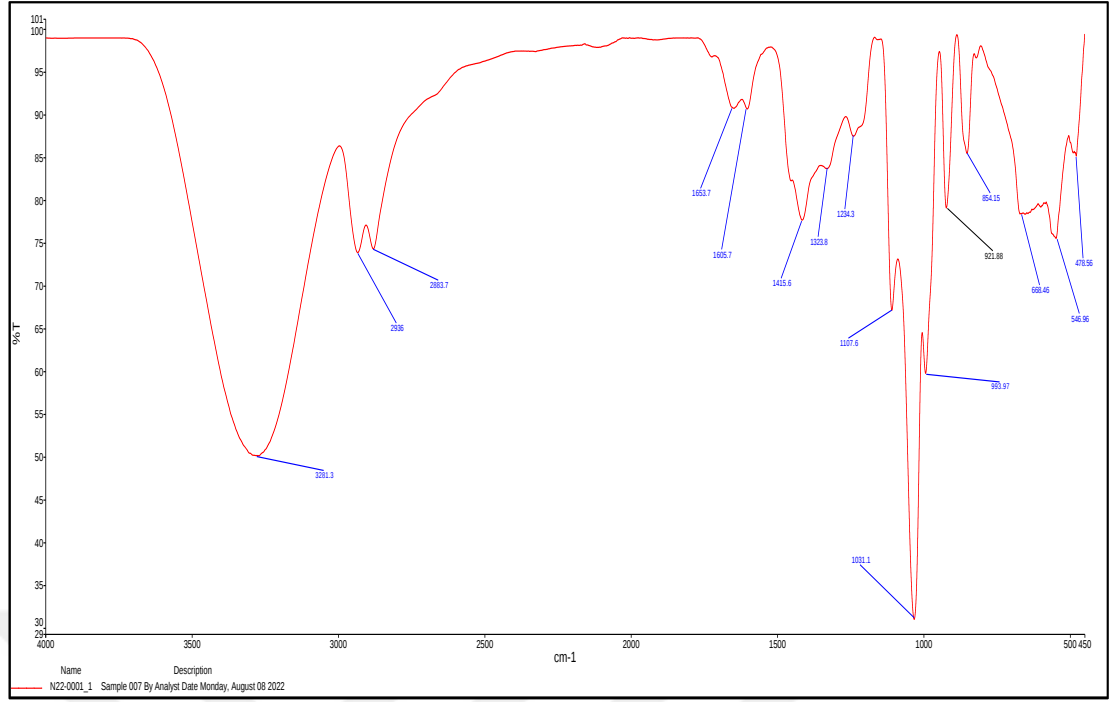
Literatürlerdeki metotlarda küçük modifikasyonlar yaparak müsilaj temelli keratin filmler oluşturulmuştur. Bazı araştırmalara göre saf keratin ile hazırlanan keratinin daha kırılgan olduğu belirtilmiştir (Tanabe vd., 2002). Keratin ile hazırlanan filmi daha kullanılabilir hale getirmek için ayva çekirdeğinden bir müsilaj çözeltisi elde edilmiştir. Filmlere bağlayıcı olarak gliserol eklenmiştir. Müsilaj ve gliserol eklenmesi, şeffaf, oldukça g   l , esnek ve biyolojik olarak parçalanabilir bir film elde etmek için ideal bir ortam sağlamıştır (Yamauchi vd., 1996). Dolayısıyla elde edilen keratin filmlerin kullanılabilirliği daha kolay olmuştur. Ancak kontrol amaçlı sadece gliserol ve ayva çekirdeği m silajıyla hazırlanan filmin çok ince ve yapışkan olması şekillendirilmesini ve analiz için numune hazırlanmasını oldukça zorlaştırmıştır.

4.3 Keratin Filmlerin Kalınlığı

Kontrol ve keratin- 0.1-0.25-0.5 filmlerin kalınlıkları sırasıyla 0.106 ± 0.01 ve 0.133 ± 0.02 - 0.183 ± 0.01 - 0.290 ± 0.1 mm olarak ölçülmüştür. Keratin miktarının artmasıyla kompozit filmlerin kalınlığı artmıştır. Mujtaba (2019a) çalışmasında artan selüloz nanofiber ilavesi ile müsilaj kompozit filmlerin kalınlığını kademeli olarak arttırdığı bulunmuştur. Müsilaj ile oluşturulan diğer kompozit film çalışmasında eklenen nişasta nanopartiküllerinin kompozit filmlerin genel kalınlığını önemli ölçüde etkilemediği ortaya çıkarılmıştır (Mujtaba vd., 2019b). Fakat genel olarak mevcut sonucun kompozit filmlerle ilgili daha önceki literatür raporları ile uyumlu olduğu görülmüştür (Akyuz vd., 2018; Mujtaba vd., 2017).

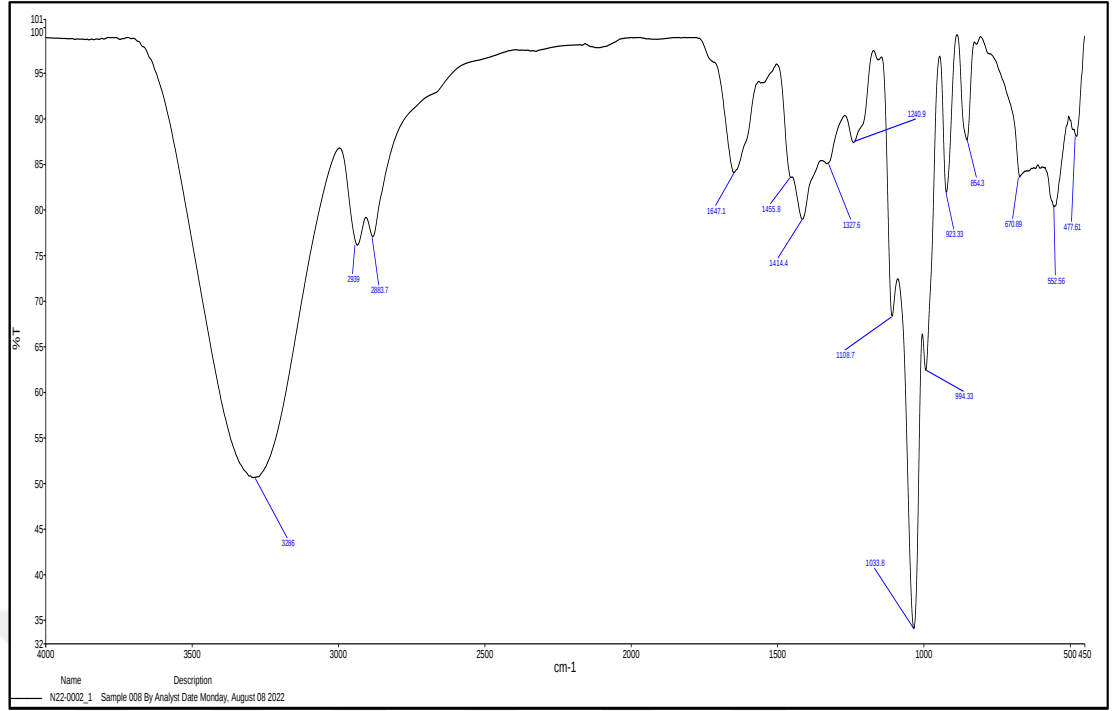
4.4 Keratin Filmlerin FT-IR Spektrumu

Elde edilen keratin filmlerin spektral olarak incelenmesi FT-IR yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Kontrol, keratin-0.1-0.25 ve keratin-0.5 filmlerin FT-IR spektrumu şekilde gösterilmiştir (Şekil 4.1- 4.4). İlk spektrum, müsilaj kontrol filmine aittir. 3281 cm^{-1} 'deki geniş absorpsiyon piki, OH gruplarına atfedilmektedir. Polisakkaritlerin C-H germe bandı 2936 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. Bu çalışmada pikler 1653 , 1545 ve 1234 cm^{-1} 'de kaydedilmiştir. Bu pikler, protein yapılarının karakteristik piklerine karşılık gelmektedir. Müsilaj film matrisinde bulunan proteinin C=O gerilme titreşimi 1653 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. 1545 ve 1234 cm^{-1} 'de gözlemlenen pikler, sırasıyla N-H gruplarının eğilme titreşimine ve C-N gruplarının düzlemindeki titreşimlere bağlanmıştır (Şekil 4.1).



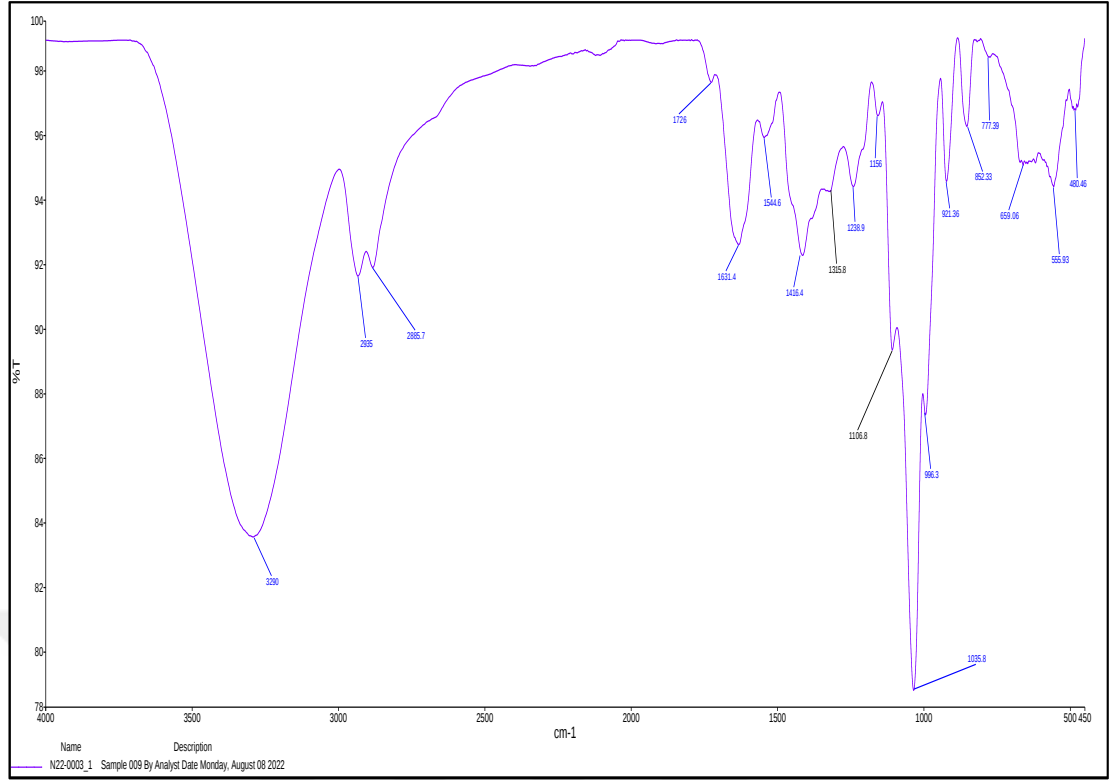
Şekil 4.1. Kontrol filmin FT-IR spektrumu.

Keratin numuneleri için peptit bağlarına (-CO-NH) karşılık gelen spektral bantlar Amit A ve Amit I–III bantları olarak tanımlanmıştır (Aluigi vd., 2007; Ma vd., 2016; Sharma vd., 2017). 3400 cm⁻¹'den 3250 cm⁻¹'e kadar olan geniş titreşim bandı bölgesi, -O-H ve -N-H (Amit A) Ramakrishnan (2018)' nın gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada 3280 cm⁻¹'de civarında meydana gelen Amit A bandı, N-H bağlarının esneme titreşimi ile ilişkilidir. 3000–2700 cm⁻¹ aralığındaki iletim bantları, -CH esneyen bağları ile ilgilidir. Müsilaj kontrol, keratin-0.1- 0.25 ve keratin-0.5 filmlerde gözlenen Amit A ve Amit B piklerinin birbirine yakın olduğu gözlemlenerek sırasıyla Amit A için 3281-3286-3290-3286 cm⁻¹ ve Amit B için 2936-2939-2935-2923 cm⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2-4.4).



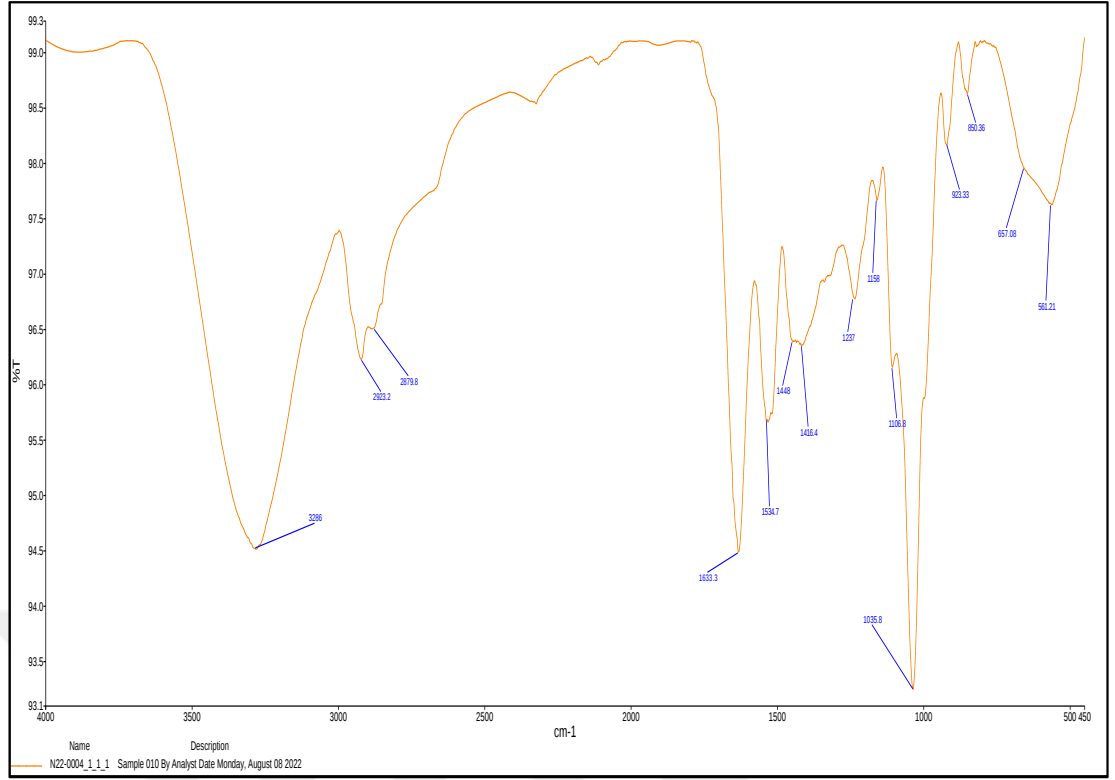
Şekil 4.2. Keratin- 0.1 filmin FT-IR spektrumu.

Amide I–III bantları, protein yapısı ve omurga yapısı hakkında kritik bilgiler verir. 1750 cm⁻¹ ila 1610 cm⁻¹ aralığındaki güçlü iletim bandı -C=O esnemesine (Amit I) atfedilir. Amit I bandı, CONH birimindeki peptit karbonilin gerilme titreşimlerinin bir sonucu olarak oluşur. Literatüre göre keratinin β -sheet yapısında 1610-1640 cm⁻¹ arasında güçlü absorpsiyon bandı ve 1680-1690 cm⁻¹ arasında daha zayıf absorpsiyon bandı gözlenmektedir. α -heliksli ve rastgele kıvrımlı keratin yapısında 1640-1650 cm⁻¹ ve 1650-1660 cm⁻¹'de absorpsiyon bantları gözlenir. Müsilaj temelli keratin filmin Amit I absorpsiyon bandı, β -tabaka yapısına sahip olup 1631 cm⁻¹ ile 1647 cm⁻¹ arasında gözlenmektedir (Şekil 4.2-4.4).



Şekil 4.3. Keratin- 0.25 filmin FT-IR spektrumu.

Amid II bandı, ağırlıklı olarak C-N ve C-C gerilme titreşimlerine ek olarak düzlemdeki N-H bükülmesinden kaynaklanır. 1590 cm⁻¹ ila 1470 cm⁻¹ aralığındaki titreşim bandı (Amid II), C-H esneme ve N-H bükülmeleri için atfedilir (Ramakrishnan vd., 2018). Amid II bandı, α -heliks yapısında keratin için 1547 cm⁻¹ civarında iken, β -sheet yapısında keratin için 1515 cm⁻¹ civarında gözlenir. Keratin- 0.25 filmindeki Amid II bandının titreşimleri 1544 cm⁻¹'de gözlenmekte ve α -sarmal bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Keratin- 0.5 filminde ise Amid II bandının titreşimleri 1534 cm⁻¹'de gözlenmekte ve β -sheet yapıya sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.3-4.4).



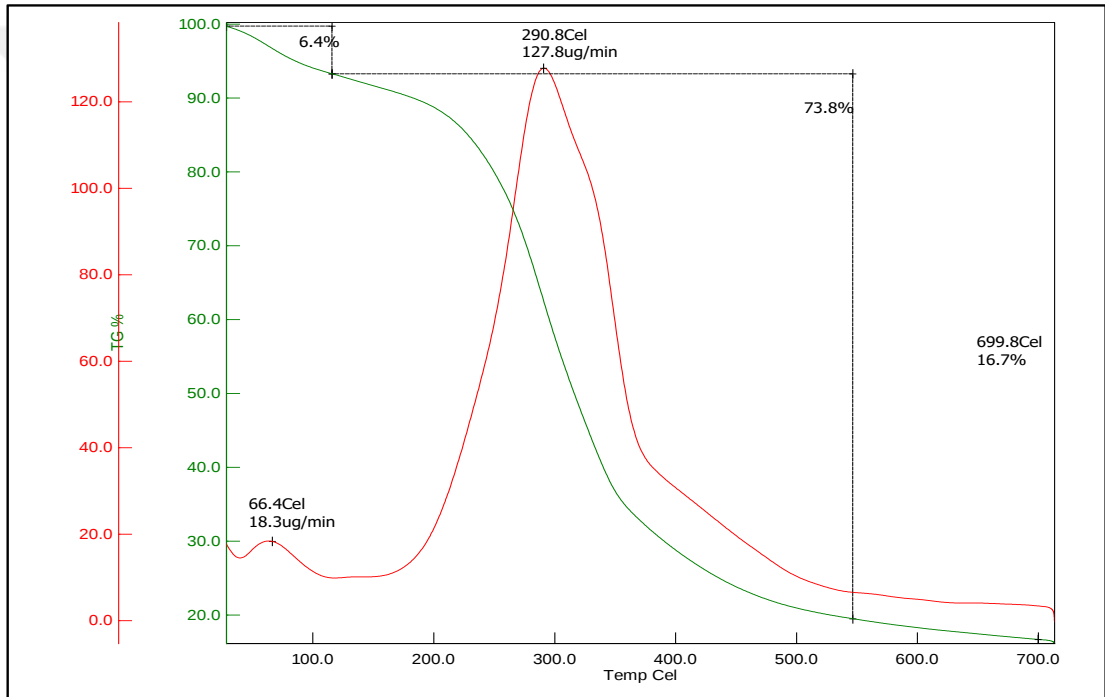
Şekil 4.4. Keratin-0.5 filmin FT-IR spektrumu.

Amit III bandı, düzlemdeki N-H eğilme ve C-N gerilme titreşimlerinin ve düzlemdeki C-C gerilme ve C-O eğilme titreşimlerinin birleşiminden kaynaklanmaktadır. 1310 cm^{-1} ile 1200 cm^{-1} arasındaki zayıf bant, C-N gerilmesi ve N-H bükülmesinden dolayı Amit III bandına karşılık gelir (Sharma vd., 2017). Müsilaj temelli keratin filmlerin Amit III bandının titreşimleri $1234\text{--}1240\text{ cm}^{-1}$ aralığında görülmektedir. 1021 ve 1076 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantları ise, sırasıyla asimetrik ve simetrik S-O gerilme titreşimlerine atfedilmektedir (Sharma vd., 2017; Shavandi vd., 2017).

Farklı konsantrasyonlarda üretilen keratin filmlerin, kaz tüyünden ekstrakte edilen keratin ile benzer dalga sayılarına sahip olduğu bulunmuştur. Keratin varlığı, farklı dalga sayılarına doğru hafif bir kayma göstermiştir. FT-IR sonuçlarına göre keratin filmlere ayva çekirdeği müsilajı eklenmesiyle dalga boylarında ve pik şiddetlerinde çok büyük değişiklik olmadığı dolayısıyla büyük bir yapısal değişimin meydana gelmediği gözlemlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda da ayva çekirdeği eklenen kitosan filmlerde benzer sonuçlar gösterilmiştir (Erdoğan, 2020). $0.1\text{--}0.25\text{--}0.5$ keratin içeren numunelerinin FT-IR profillerini karşılaştırdığımızda, karakteristik piklerin benzer olduğunu ve keratin pikiyle uyumlu olduğunu doğrulayabiliriz.

4.5 Keratin filmlerin TGA Analizleri

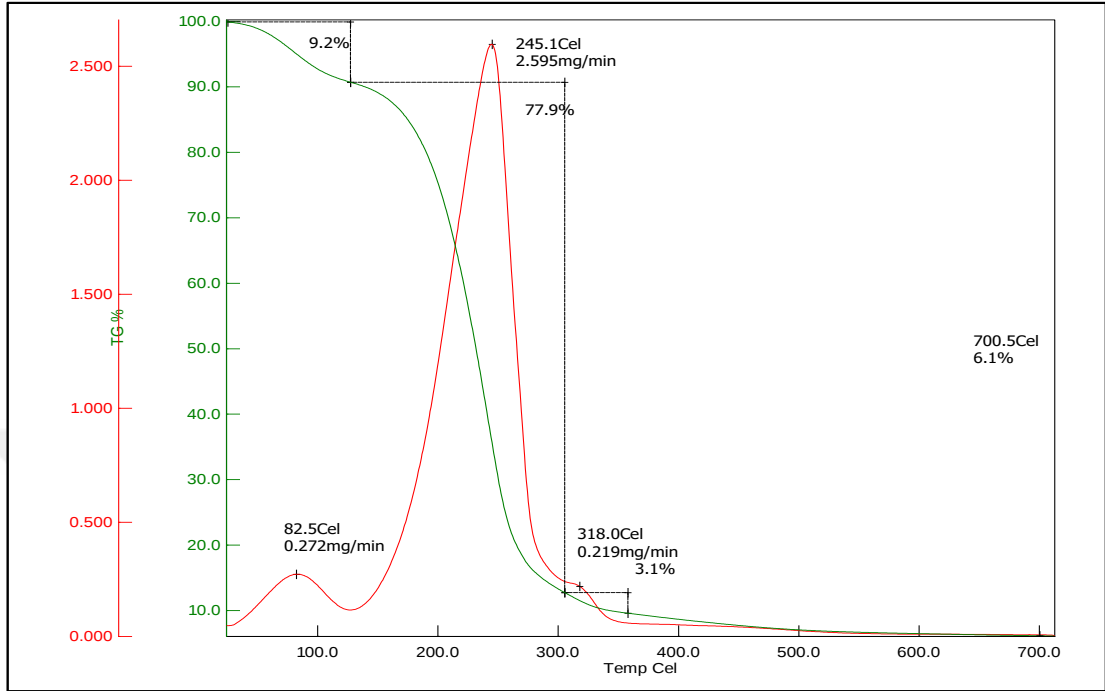
TGA analizi, belirtilen sıcaklık aralığında artan sıcaklığa göre malzemelerin bozulma oranını gösterir, dolayısıyla malzemelerin termal stabilitesini değerlendirir. Kontrol, keratin-0.1-0.25-0.5 filmler için termogravimetrik analiz sonuçları Şekil 4.5-4.8’de verilmiştir. Kontrol filmde ana iki pik gözlenmiştir. Bunlardan ilki 66 °C (DTG_{max}) de %6.4 olarak gerçekleşmiştir ve moleküller arası hapsolmuş suyun yapıdan uzaklaşmasını ifade etmektedir (Sadeghi-Varkani vd., 2018). İkinci ana pik ise 290 °C (DTG_{max}) de %73.8 olarak kaydedilmiştir. Bu pik ise müsilajın bozunmasına atfedilmektedir. Bu noktada gliserol pikinin müsilajın keskin piki nedeniyle baskılandığını gözlemleyebiliriz (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Kontrol filmin TGA sonuçları.

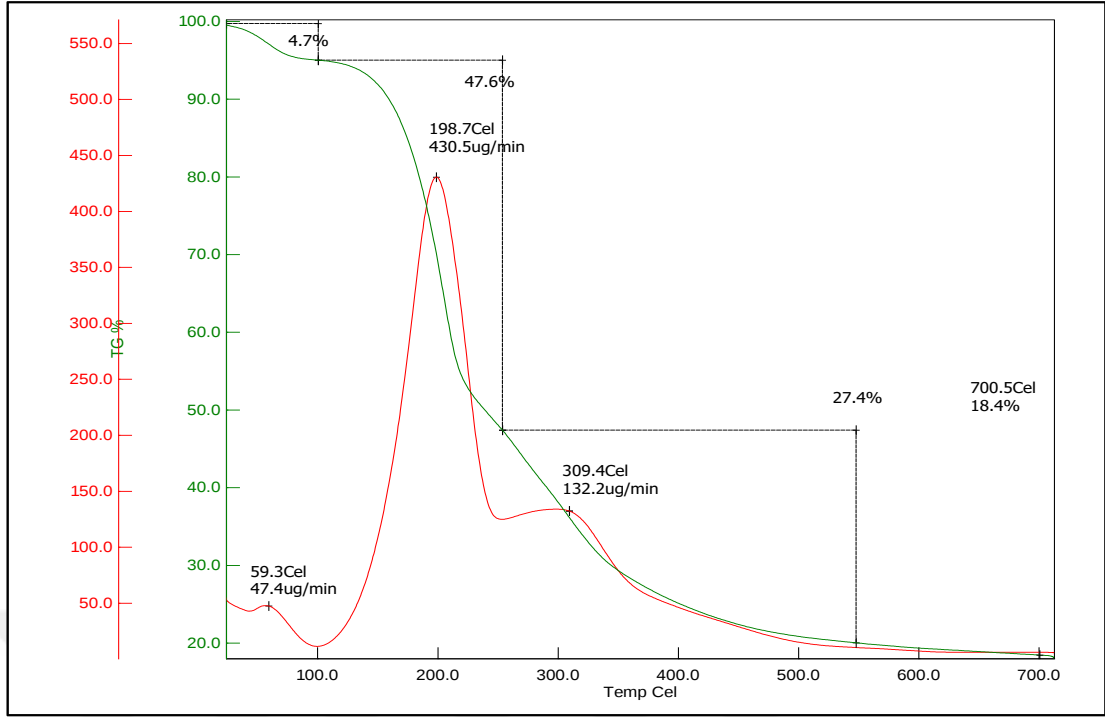
Keratin-0.1 filmi için ise üç ana pik belirlenmiştir. Bunlardan ilki 82 °C (DTG_{max}) de %9.2 ile suyun yapıdan uzaklaşmasını gösteren piktir. İkincisi ise 245 °C (DTG_{max}) de %77.9 ile müsilaj ve gliserolden kaynaklanmaktadır. Son pik ise 318 °C (DTG_{max}) de %3.1 ile gözlemlenen keratin bozunmasına ait piktir (Şekil 4.6). Mothé (2018) çalışmasına baktığımızda keratin tozunun TG eğrisinde iki aşamalı ayrışma gösterilmiştir.

Bunlardan ilk aşama, suyun buharlaşmasına bağlı olarak 100 °C civarında %3,5'lik bir kütle kaybı gösterirken, ikinci aşama 160-450 °C sıcaklık aralığında %23'lük bir kayıpla keratinin ayrıştığını ispatlamıştır.



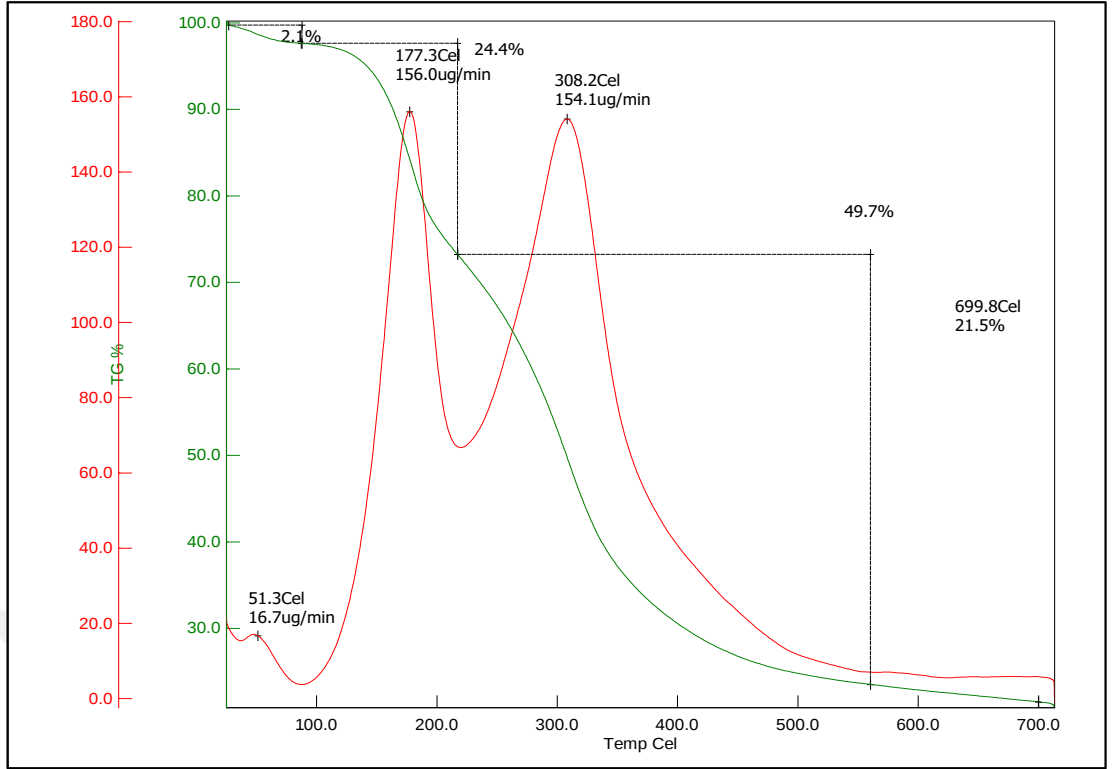
Şekil 4.6. Keratin-0.1 filmin TGA sonuçları.

Keratin-0.25 için yine üç ana pik gözlenmiştir. Bunlardan ilki 59 °C de %4.7 ile suyun desorpsiyonuna atfedilir. İkinci kütle kaybı 198 °C de %47.6 ile gliserolün bozunmasından kaynaklanmaktadır. Üçüncü pik ise 309.4 °C de %27.4 ile keratin ayrışmasına ait eğridir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Keratin-0.25 filmin TGA sonuçları.

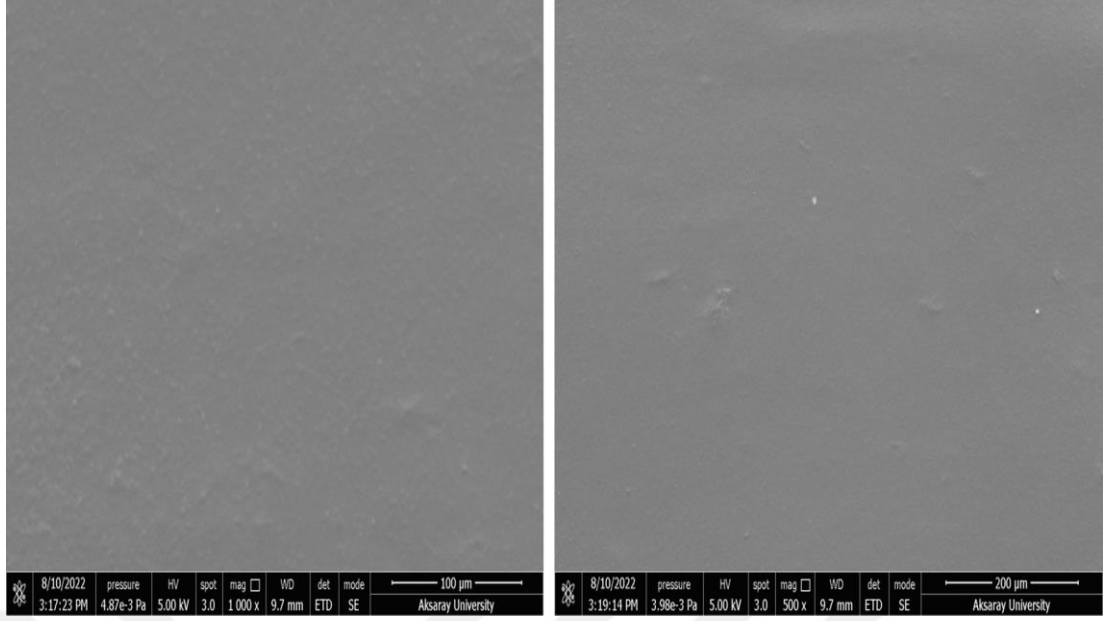
Keratin-0.5 için yine üç ana pik gözlenmiştir. İlki 51 °C de %2.1 ile su pikidir. İkincisi 177 °C de %24.4 ile gliserol pikine atfedilmektedir. Benzer çalışmalarda da, müsilağ kompozit filmlerin ikinci ağırlık kaybı, müsilağ film oluşumu için bir plastikleştirici olarak kullanılan gliserolün buharlaşmasına atfedilmiştir (Muhtaba vd., 2018). Üçüncüsü ise 308.2 °C de %49.7 ile keratin pikinin bozunmasıdır (Şekil 4.8). Keratin-0.25 ve keratin-0.5’ te keratinin keskin piki müsilağın pikini baskılamıştır.



Şekil 4.8. Keratin-0.5 filmin TGA sonuçları.

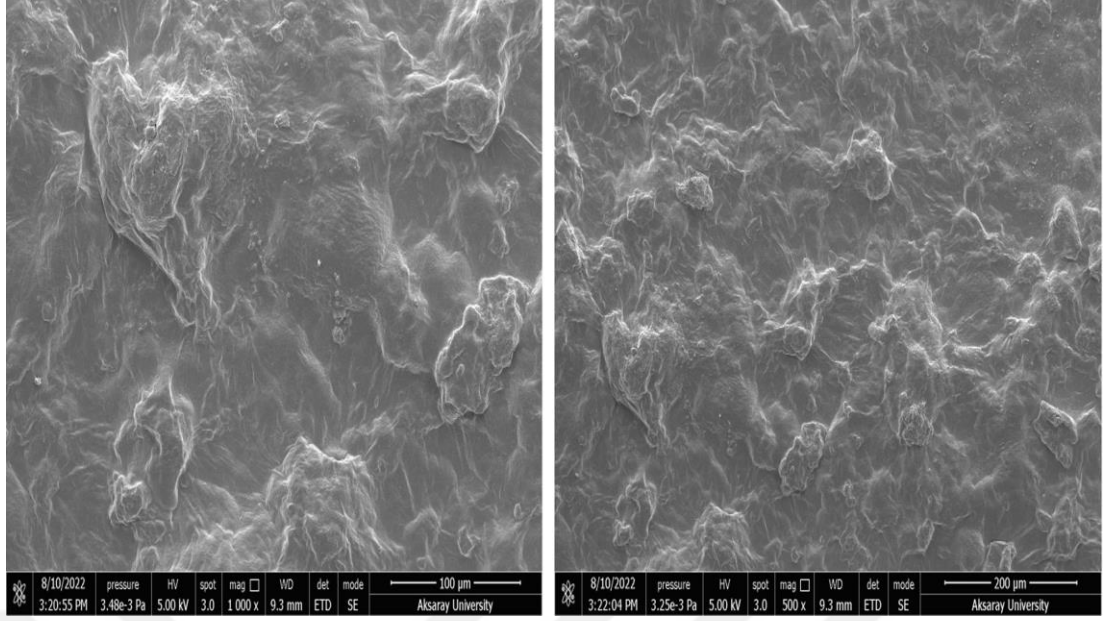
4.6 Keratin Filmlerin SEM Görüntüleri

Kontrol ve keratin-0.1-0.25-0.5 filmlerin yüzeyleri farklı büyütme ölçeklerinde görüntülenmiş ve morfolojileri Şekil 4.9-4.12’de verilmiştir. Kontrol filmi boşluk, kenar ve delikler olmaksızın çok iyi uyumlu morfoloji göstermektedir, ki bu pürüzsüz yüzeyi, içerdiği gliserol ve ayva çekirdeği müsilajının homojen bir karışım oluşturmaya atfedilmektedir, ayrılma olmadan, birbiriyle uyumlu olan tek fazlı bir morfoloji üretilmiştir (Şekil 4.9).

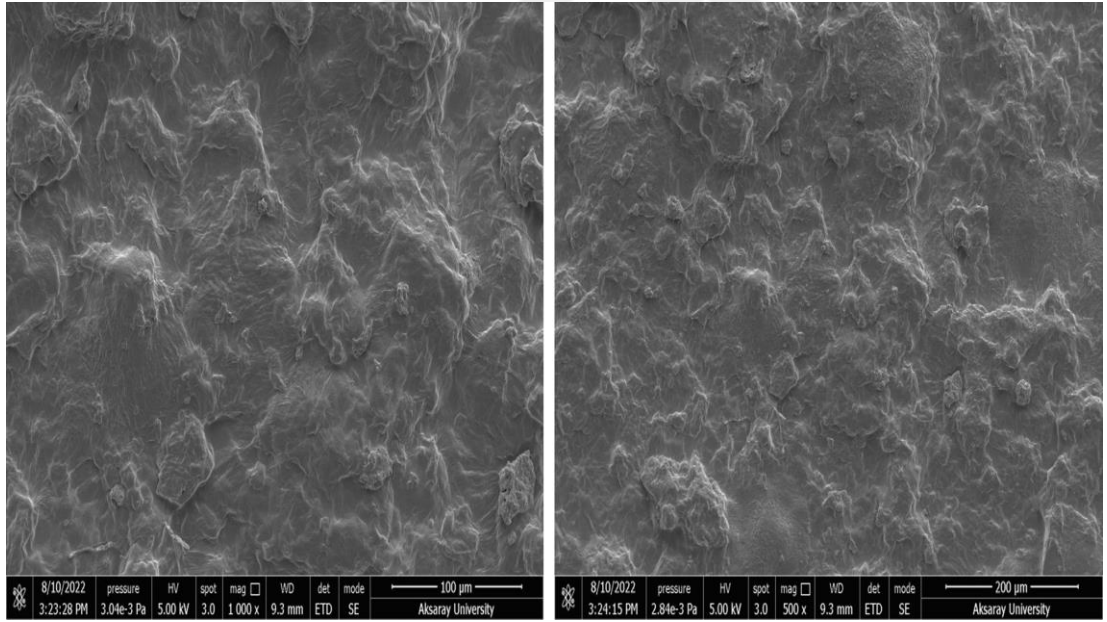


Şekil 4.9. Kontrol filmin 100 µm ve 200 µm SEM görüntüsü.

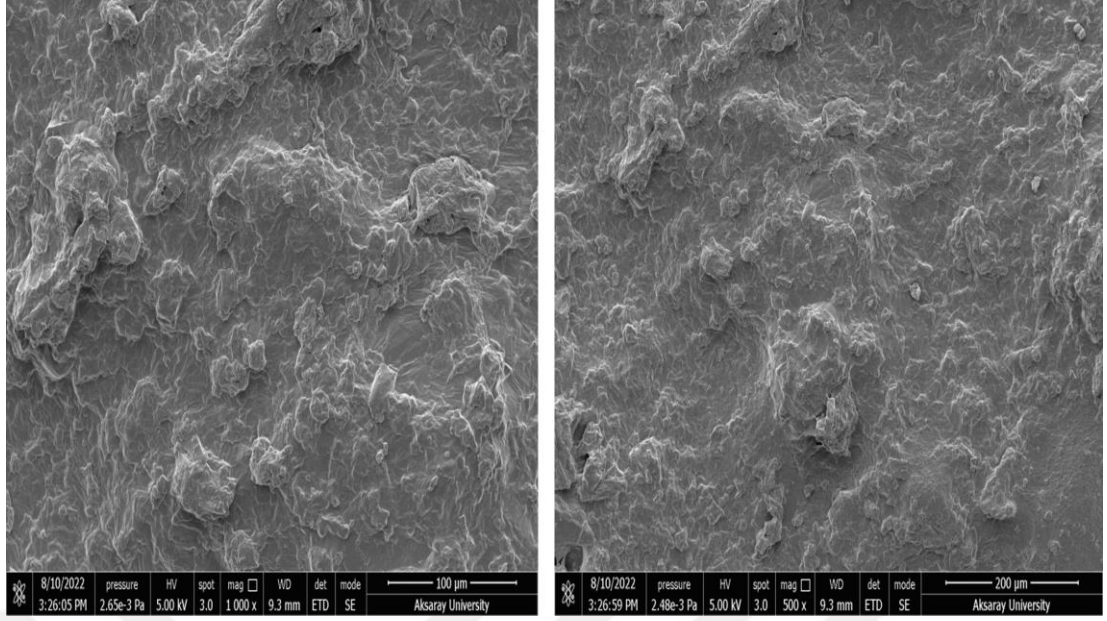
Filmlerin yüzeylerinde, ayva çekirdeği müsilajı ve gliserol üzerine keratin partiküllerinin eklenmesiyle çıkıntılar oluşmaya başladığı görülmüştür. Filmlerin yüzeyindeki çıkıntılardaki artışın, filmin bileşimindeki keratin tozu miktarındaki artışla doğru orantılı olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.10-4.12). Daha heterojen gözenekli mikro yapıların oluşumu literatürdeki birçok çalışma ile de desteklenmiştir (Reichl vd., 2011; Yin vd., 2013; Ramakrishnan vd., 2018). Martinez-Hernandez (2005) çalışmasında yüzey pürüzlülüğü, esneklik ve yüksek boy/çap oranı gibi bazı ilginç özellikler mikroskobik düzeyde belirlenmiştir. Artan keratin konsantrasyonuyla daha pürüzlü yüzeyler elde edilmiştir. Fakat bu çalışmaların aksine, Oluba (2021) çalışmalarında nişasta biyo-kompozitine keratin ilavesi ile yüzey pürüzsüzlüğü gibi mekanik özelliklerde dikkate değer bir artış olduğunu göstermişlerdir.



Şekil 4.10. Keratin-0.1 filmin 100 µm ve 200 µm SEM görüntüsü.



Şekil 4.11. Keratin-0.25 filmin 100 µm ve 200 µm SEM görüntüsü.



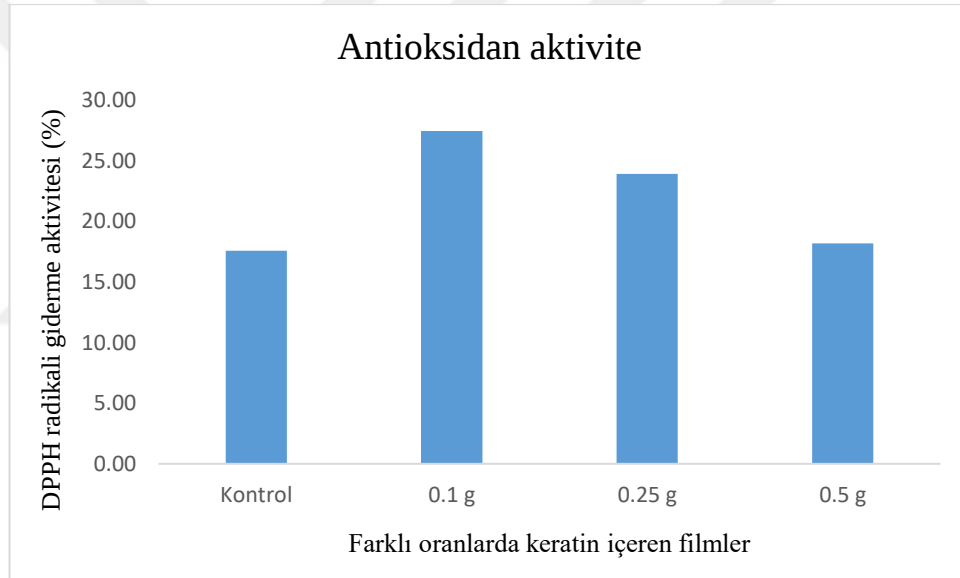
Şekil 4.12. Keratin-0.5 filmin 100 µm ve 200 µm SEM görüntüsü.

4.7 Filmlerin Antioksidan Aktiviteleri

Kontrol ve farklı düzeylerde keratin içeren filmlerin antioksidan aktiviteleri serbest radikal giderme aktivitesi ölçülerek değerlendirilmiştir (Çizelge 4.1). Buna göre kontrolün DPPH radikali giderme aktivitesi %17.60 iken keratin ilavesi ile oluşturulan keratin kompozit filmlerin antioksidan aktiviteleri kontrole kıyasla artmıştır. 0.1 g, 0.25 g ve 0.5 g keratin eklenmesiyle elde edilen filmlerin serbest radikal giderme aktiviteleri sırasıyla %27.48, %23.93 ve %18.20 olarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivite testlerine göre her ne kadar keratin ilavesi başlangıçta antioksidan aktivitenin artmasına neden olmuşsa da, eklenen keratin miktarının artmasına bağlı olarak antioksidan aktivitenin düştüğü gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. Kontrol ve farklı miktarda keratin ilave edilmesiyle elde edilen filmlerin serbest radikal giderme aktiviteleri (%).

Filmler	İnhibisyon (%)
Kontrol	17.60±0.62
0.1 g	27.48±1.56
0.25 g	23.93±1.03
0.5 g	18.20±1.20



Şekil 4.13. Kontrol ve farklı miktarda keratin ilave edilmesiyle elde edilen filmlerin serbest radikal giderme aktivite grafiği.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, kaz kesimhanelerinden ve çiftliklerinden atık olarak çıkan kaz tüylerinden keratin ekstraksiyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş ve oluşturulan keratin çözeltisine belli oranlarda bitkisel müsilaj olarak ayva çekirdeği müsilajı eklenerek farklı konsantrasyonlarda (0.1-0.25-0.5) filmler oluşturulmuştur. Oluşturulan filmler FT-IR, SEM ve TGA ile karakterize edilerek filmlerin yapısı aydınlatılmış ve antioksidan özellikleri incelenmiştir. Yapılan karakterizasyonlar, kaz tüyünün rejeneratif tıp, yanık tedavisi ve yara iyileştirme gibi alanlarda kullanımını yaygınlaştırarak hem ekonomik hem de çevre dostu ürünler elde etmede potansiyel bir alternatif kaynak olabileceğini göstermiştir.



KAYNAKLAR

- Acda, M. N., 2010, Waste chicken feather as reinforcement in cement-bonded composites, *Philippine Journal of Science*, 139, 2, 161-166.
- Akyüz Yılmaz, B., Akyüz, L., Çakmak, Y. S., Karaman Erkul, S., Sargın, İ. ve Koç, B., 2018, Characterization of chitosan-Based films with different aniseed oil content, *Cumhuriyet Science Journal*, 39,4, 999-1006.
- Aluigi, A., Zoccola, M., Vineis, C., Tonin, C., Ferrero, F. ve Canetti, M., 2007, Study on the structure and properties of wool keratin regenerated from formic acid, *International Journal of Biological Macromolecules*, 41, 3, 266-273.
- Arai K. M., Takahashi R., Yokote Y. ve Akahane K., 1983, Amino-acid sequence of feather keratin from fowl, *European Journal of Biochemistry*, 132, 501–507.
- Behlau, L. ve Bullinger, H. J., 2009, *Technology guide: Principles-applications-trends*, Springer Science & Business Media.
- Bruice, P. Y., 2004, *Organic Chemistry, Fourth Edition*, Prentice-Hall, N.J. Cao, J., 1995, Melting study of the a-form crystallites in human hair keratin by DSC, *Thermochimica Acta*, 335, 5.
- Chen, P. Y., McKittrick, J. ve Meyers, M. A., 2012, Biological materials: functional adaptations and bioinspired designs, *Progress in Materials Science*, 57, 8, 1492-1704.
- Cheung, H. Y., Ho, M. P., Lau, K. T., Cardona, F. ve Hui, D., 2009, Natural fibre-reinforced composites for bioengineering and environmental engineering applications, *Composites Part B: Engineering*, 40, 7, 655-663.
- Çakmak, E., 2022, Keratin isolation methods from waste goose feather: an effective comparison, *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 11, 2, 113-117.
- Çelik, M. G., 2021, Atık tavuk tüyünden keratin eldesi, keratin-kitosan türevi filmlerinin özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Erdoğan, A. E., 2020, Ayva çekirdeği müsilajı ve kitosanla yenilebilir film elde edilmesi ve özelliklerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- Fan, X., 2008, Value-added products from chicken feather fiber and protein, Yüksek Lisans Tezi, Auburn Üniversitesi, Alabama.
- Fraser, R. D. B., MacRae, T. P. ve Rogers, G. E., 1972, *Keratins: their composition, structure and biosynthesis*, Springfield, 304.
- Goodwin, W., 1974, U.S. Patent No. 3,787,337, Washington, DC. U.S. Patent and Trademark Office.

- Gupta, A., Kamarudin, N. B., Kee, C. Y. G. ve Yunus, R. B. M., 2012, Extraction of keratin protein from chicken feather, *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 6, 8, 732.
- Hill, P., Brantley, H. ve Van Dyke, M., 2010, Some properties of keratin biomaterials: kerateines, *Biomaterials*, 31, 4, 585-593.
- Ji, Y., Chen, J., Lv, J., Li, Z., Xing, L. ve Ding, S., 2014, Extraction of keratin with ionic liquids from poultry feather, *Separation and Purification Technology*, 132, 577-583.
- Jiang, Y., Tang, C. H., Wen, Q. B., Li, L. ve Yang, X. Q., 2007, Effect of processing parameters on the properties of transglutaminase-treated soy protein isolate films, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8, 2, 218-225.
- Jones, C. B. ve Mecham, D. K., 1943, The dispersion of keratins, II. Studies on the dispersion of keratins by reduction in neutral solutions of protein denaturants, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 3, 193.
- Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., ve Koocheki, A., 2014, Quince seed mucilage films incorporated with oregano essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties, *Food Hydrocolloids*, 36, 9-19.
- Kalaoğlu, Ö. İ., 2010, Chicken Feather Keratin Based Textile Fibers, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Karar, M. G. E., Pletzer, D., Jaiswal, R., Weingart, H. ve Kuhnert, N., 2014, Identification, characterization, isolation and activity against *Escherichia coli* of quince (*Cydonia oblonga*) fruit polyphenols, *Food Research International*, 65, 121-129.
- Khosa, M. A. ve Ullah, A. J. J. F. P., 2013, A sustainable role of keratin biopolymer in green chemistry: a review, *Journal Food Processing & Beverages*, 1, 1, 8.
- Khumalo, M., Sithole, B., Tesfaye, T. ve Lekha, P., 2022, Valorization of Waste Chicken Feathers: Fabrication and Characterization of Novel Keratin Nanofiber Conduits for Potential Application in Peripheral Nerve Regeneration, *Journal of Nanomaterials*, 2022.
- Kock, J. W., 2006, Physical and mechanical properties of schicken feather materials, Yüksek Lisans Tezi, İnşaat ve Çevre Mühendisliği Okulu, Gürcistan Teknoloji Enstitüsü, Gürcistan.
- Latha, P. P., Singh, R. K., Kukrety, A., Saxena, R. C., Bhatt, M. ve Jain, S. L., 2016, Poultry chicken feather derived biodegradable multifunctional additives for lubricating formulations, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4, 3, 999-1005.
- La Mantia, F. P. ve Morreale, M., 2011, Green composites: A brief review., *Composites Part A, Applied Science and Manufacturing*, 42, 6, 579-588.

- Ma, B., Qiao, X., Hou, X. ve Yang, Y., 2016, Pure keratin membrane and fibers from chicken feather, *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 614-621.
- Martelli, S. M., Moore, G., Paes, S. S., Gandolfo, C. ve Laurindo, J. B., 2006, Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films, *LWT-Food Science and Technology*, 39, 3, 292-301.
- Martelli, S. M. ve Laurindo, J. B., 2012, Chicken feather keratin films plasticized with polyethylene glycol, *International Journal of Polymeric Materials*, 61, 1, 17-29.
- Martinez-Hernandez, A. L., Velasco-Santos, C., De Icaza, M. ve Castano, V. M., 2005, Microstructural characterisation of keratin fibres from chicken feathers, *International Journal of Environment and Pollution*, 23, 2, 162-178.
- Mattiello, S., Guzzini, A., Del Giudice, A., Santulli, C., Antonini, M., Lupidi, G. ve Gunnella, R., 2022, Physico-Chemical Characterization of Keratin from Wool and Chicken Feathers Extracted Using Refined Chemical Methods, *Polymers*, 15, 1, 181.
- Moghbel, A. ve Tayebi, M., 2015, Quince seeds biopolymer: extraction, drying methods and evaluation, *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 10, 3.
- Mothé, M. G., Viana, L. M. ve Mothé, C. G., 2018, Thermal property study of keratin from industrial residue by extraction, processing and application, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 131, 1, 417-426.
- Moore, G. R. P., Martelli, S. M., Gandolfo, C., Amaral Sobral, P. J. ve Laurindo, J. B., 2006, Influence of the glycerol concentration on some physical properties of feather keratin films, *Food Hydrocolloids*, 20, 7, 975-982.
- Mujtaba, M., Salaberria, A. M., Andres, M. A., Kaya, M., Gunyakti, A. ve Labidi, J., 2017, Utilization of flax (*Linum usitatissimum*) cellulose nanocrystals as reinforcing material for chitosan films, *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 944-952.
- Mujtaba, M., Kaya, M. ve Çeter, T., 2018, Differentiation of thermal properties of pollens on genus level, *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C Biology*, 27, 2, 177-184.
- Mujtaba, M., Akyuz, L., Koc, B., Kaya, M., Ilk, S., Cansaran-Duman, D. ve Boufi, S., 2019a, Novel, multifunctional mucilage composite films incorporated with cellulose nanofibers, *Food Hydrocolloids*, 89, 20-28.

- Mujtaba, M., Koc, B., Salaberria, A. M., Ilk, S., Cansaran-Duman, D., Akyuz, L. ve Boufi, S., 2019b, Production of novel chia-mucilage nanocomposite films with starch nanocrystals; An inclusive biological and physicochemical perspective, *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 663-673.
- Oliveira, A. P., Pereira, J. A., Andrade, P. B., Valentão, P., Seabra, R. M. ve Silva, B. M., 2007, Phenolic Profile of *Cydonia oblonga* Miller Leaves, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 19, 7926–7930.
- Oluba, O. M., Obi, C. F., Akpor, O. B., Ojeaburu, S. I., Ogunrotimi, F. D., Adediran, A. A. ve Oki, M., 2021, Fabrication and characterization of keratin starch biocomposite film from chicken feather waste and ginger starch, *Scientific Reports*, 11, 1, 1-11.
- Ozaki, Y., Takagi, Y., Mori, H. ve Hara M., 2014, Porous hydrogel of wool keratin prepared by a novel method: An extraction with guanidine/2-mercaptoethanol solution followed by a dialysis, *Materials Science and Engineering*, 42, 2014, 146–154.
- Parkinson, G., 1998, A higher use for lowly chicken feathers?, *Chemical Engineering*, 105, 3, 21.
- Pauling, L., Corey, R. B. ve Branson, H. R., 1951, The structure of proteins: two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 37, 4, 205-211.
- Pourjavaheri, F., Mohades, F., Jones, O., Sherkat, F., Gupta, A. ve Shanks, R. A., 2017, Avian keratin fibre-based bio-composites, *World Journal of Engineering*, 14, 3, 183-187.
- Ramakrishnan, N., Sharma, S., Gupta, A. ve Alashwal, B. Y., 2018, Keratin based bioplastic film from chicken feathers and its characterization, *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 352-358.
- Reddy, N. ve Yang, Y., 2007, Structure and properties of chicken feather barbs as natural protein fibers, *Journal of Polymers and the Environment*, 15, 2, 81-87.
- Reichl, S., Borrelli, M. ve Geerling, G., 2011, Keratin films for ocular surface reconstruction, *Biomaterials*, 32, 13, 3375-3386.
- Rejak, A., Moscicki, L., Wójtowicz, A., Oniszczyk, T., Mitrus, M. ve Gladyszewska, B., 2012, Influence of keratin addition on selected mechanical properties of TPS film, *Teka Komisji Motoryzacji i Energetyki Rolnictwa*, 12, 1.
- Rouse, J. G. ve Van Dyke, M. E., 2010, A review of keratin-based biomaterials for biomedical applications, *Materials*, 3, 2, 999-1014.

- Sadeghi-Varkani, A., Emam-Djomeh, Z. ve Askari, G., 2018, Physicochemical and microstructural properties of a novel edible film synthesized from Balangu seed mucilage, *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 1110-1119.
- Sawyer, R. H., Glenn, T., French, J. O., Mays, B., Shames, R. B., Barnes Jr, G. L. ve Ishikawa, Y., 2000, The expression of beta (β) keratins in the epidermal appendages of reptiles and birds, *American Zoologist*, 40, 4, 530-539.
- Seger, G. E., Biedermann, K. A., Gbadamosi, K. A., Kelly, S. R. ve Weisman, P. T., 2003, U.S. Patent No. 6,517,849, Washington, DC. U.S. Patent and Trademark Office.
- Schmidt, W. F. ve Line, M. J., 1996, Physical and chemical structures of poultry feather fiber fractions in fiber process development, In *Nonwovens Conference*, 135-140, Tappi Press.
- Schrooyen, P. M., Dijkstra, P. J., Oberthür, R. C., Bantjes, A. ve Feijen, J., 2000, Partially carboxymethylated feather keratins, 1. Properties in aqueous systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 9, 4326-4334.
- Schrooyen, P. M., Dijkstra, P. J., Oberthür, R. C., Bantjes, A. ve Feijen, J., 2001., Partially carboxymethylated feather keratins, 2. Thermal and mechanical properties of films, *Journal of agricultural and food chemistry*, 49, 1, 221-230.
- Sharma, S., Gupta, A., Chik, S. M. S., Kee, C. G., Mistry, B. M., Kim, D. H. ve Sharma, G., 2017, Characterization of keratin microparticles from feather biomass with potent antioxidant and anticancer activities, *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 189-196.
- Shavandi, A., Bekhit, A. E. D. A., Carne, A. ve Bekhit, A., 2017, Evaluation of keratin extraction from wool by chemical methods for bio-polymer application, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 32, 2, 163-177.
- Sinkiewicz, I., Śliwińska, A., Staroszczyk, H. ve Kołodziejaska, I., 2017, Alternative methods of preparation of soluble keratin from chicken feathers, *Waste and biomass valorization*, 8, 4, 1043-1048.
- Song, N. B., Lee, J. H., Al Mijan, M. ve Song, K. B., 2014, Development of a chicken feather protein film containing clove oil and its application in smoked salmon packaging, *LWT-Food Science and Technology*, 57, 2, 453-460.
- Srisuwan, Y., Thonpho, A. ve Srihanam, P., 2016, Effect of starch on property of silk fibroin/keratin blend films, *GEOMATE Journal*, 11, 28, 2870-2873.
- Sundaram, M., Legadevi, R., Afrin Banu, N., Gayathri, V. ve Palanisammy, A., 2015, A study on antibacterial activity of keratin nanoparticles from chicken feathers waste against *Staphylococcus aureus* (Bovine mastitis bacteria) and its antioxidant activity, *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 3, 6, 01, 05, 1-5.

- Tamri, P., Hemmati, A., ve Boroujerdnia, M. G., 2014, Wound healing properties of quince seed mucilage: In vivo evaluation in rabbit full-thickness wound model, *International Journal of Surgery*, 12, 8, 843–847.
- Tanabe, T., Okitsu, N., Tachibana, A. ve Yamauchi, K., 2002, Preparation and characterization of keratin–chitosan composite film, *Biomaterials*, 23, 3, 817–825.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D. ve Chunilall, V., 2017a, Valorisation of chicken feathers: Characterisation of physical properties and morphological structure, *Journal of Cleaner Production*, 149, 349–365.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D. ve Chunilall, V., 2017b, Valorisation of chicken feathers: Characterisation of physical properties and morphological structure, *Journal of Cleaner Production*, 149, 349–365.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D. ve Chunilall, V., 2017c, Valorisation of chicken feathers: Characterisation of physical properties and morphological structure, *Journal of Cleaner Production*, 149, 349–365.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D. ve Mokhothu, T., 2018, Valorisation of chicken feathers: Characterisation of thermal, mechanical and electrical properties, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 9, 27–34.
- Tonin, C., Aluigi, A., Vineis, C., Varesano, A., Montarsolo, A. ve Ferrero, F., 2007, Thermal and structural characterization of poly (ethylene-oxide)/keratin blend films, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 89, 2, 601–608.
- Vasconcelos, A., Freddi, G. ve Cavaco-Paulo, A., 2008, Biodegradable materials based on silk fibroin and keratin, *Biomacromolecules*, 9, 4, 1299–1305.
- Wang, K., Li, R., Ma, J., Jian, Y. ve Che, J., 2016, Extracting keratin from wool by using Lcysteine, *Green Chemistry*, 18, 2, 476–481.
- Wang B., Yang W., McKittrick J. ve Meyers M.A., 2016a, Keratin: structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration, *Progress in Materials Science*, 76, 229–318.
- Wang, J., Hao, Luo, S. T., Cheng, Z., Li, W., Gao, F., Guo, T., Gong, Y. ve Wang, B., 2017, Feather keratin hydrogel for wound repair: Preparation, healing effect and biocompatibility evaluation, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 149, 341–350.
- Whitfield, D. P., Fielding, A. H. ve Whitehead, S., 2008, Long-term increase in the fecundity of hen harriers in Wales is explained by reduced human interference and warmer weather, *Animal Conservation*, 11, 2, 144–152.
- Wrześniewska-Tosik, K. ve Adamiec, J., 2007, Biocomposites with a content of keratin from chicken feathers, *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 15, 1, 60.

- Xu, S., Reuter, T., Gilroyed, B. H., Tymensen, L., Hao, Y., Hao, X. ve McAllister, T. A., 2013, Microbial communities and greenhouse gas emissions associated with the biodegradation of specified risk material in compost, *Waste management*, 33, 6, 1372-1380.
- Yamauchi, K., Yamauchi, A., Kusunoki, T., Kohda, A. ve Konishi, Y., 1996, Preparation of stable aqueous solution of keratins, and physiochemical and biodegradational properties of films, *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*, 31, 4, 439-444.
- Yin, C. H., Li, F. Y., He, Y. F., Wang Y. ve Wang, R. M., 2013, Study on effective extraction of chicken feather keratins and their films for controlling drug release, *Biomaterial Science*, 1, 528-536.
- Zhan, M. ve Wool, R. P., 2011, Mechanical properties of chicken feather fibers, *Polymer Composites*, 32, 6, 937-944.
- Zoccola, M., Aluigi, A. ve Tonin, C., 2009, Characterisation of keratin biomass from butchery and wool industry wastes, *Journal of Molecular Structure*, 938, 35-40.
- URL-1 <<https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kumes-Hayvanciligi-Uretimi-Ekim-2022-45699>>, Erişim tarihi: 09.01.2023

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Emine ÜNVER

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, 2016-2020

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, 2021-2023

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Antalya Gıda Kontrol Laboratuvarı (01.07.2019-19.08.2019) / Yaz Stajı
2. Aksaray Belediyesi / Bilim Merkezi (16.12.2021-31.12.2022) / Eğitimci

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- 1.
- 2.

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. **Ünver E., Çakmak E.** (2022) Müsilaj Bazlı Keratin Film Üretimi ve Karakterizasyonu. Uluslararası Akademik Araştırmalar Kongresi (ICAR), 27 – 29 Eylül 2022 (**Sözlü Sunum**)
- 2.