

**T.C.**  
**MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**  
**BİYOKİMYA BİLİM DALI**

**POLİSAKKARİT BAZLI HİDROJELLER ÜZERİNE PROTEİN**  
**ADSORPSİYON ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**Setenay GÜLER**

**Danışman**  
**Prof. Dr. Ayşe DİNÇER**



**MANİSA-2024**

SETENAY  
GÜLER

POLİSAKKARİT BAZLI HİDROJELLER ÜZERİNE PROTEİN  
ADSORPSİYON ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

2024

## **TAAHHÜTNAME**

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalında akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, tezin yazımında akademik ve etik kurallara aykırı herhangi bir yapay zeka ve program kullanmadığımı beyan ederim.

Setenay GÜLER



## İÇİNDEKİLER

|                                                                                  | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------|-------|
| İÇİNDEKİLER .....                                                                | I     |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....                                              | III   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                             | IV    |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                            | VI    |
| ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR .....                                                          | VII   |
| ÖZET.....                                                                        | VIII  |
| ABSTRACT.....                                                                    | IX    |
| 1. GİRİŞ .....                                                                   | 1     |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                          | 2     |
| 2.1. Hidrojeller .....                                                           | 2     |
| 2.2. Polisakkaritler .....                                                       | 2     |
| 2.2.1. Aljinat .....                                                             | 2     |
| 2.2.1.1. Aljinat Bazlı Hidrojellerin Kullanım Alanları .....                     | 3     |
| 2.2.1.1.1. Biyomedikal Alanda Kullanımı .....                                    | 3     |
| 2.2.1.1.2. Kıkırdak Doku Mühendisliği Alanında Kullanımı .....                   | 3     |
| 2.2.1.1.3. Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı .....                              | 3     |
| 2.2.2. Hyaluronik Asit .....                                                     | 4     |
| 2.2.2.1. Hyaluronik Asit Bazlı Hidrojellerin Kullanım Alanları .....             | 4     |
| 2.2.2.1.1. Kemik Doku Mühendisliğinde Kullanımı .....                            | 4     |
| 2.2.2.1.2. Cilt Doku Mühendisliğinde Kullanımı .....                             | 5     |
| 2.2.2.1.3. Göz Hastalıkları Tedavisinde Kullanımı .....                          | 6     |
| 2.2.3. Karboksimetil Selüloz (CMC).....                                          | 6     |
| 2.2.3.1. Karboksimetil Selüloz (CMC) Bazlı Hidrojellerin Kullanım Alanları ..... | 6     |
| 2.2.3.1.1. Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı .....                              | 6     |
| 2.2.3.1.2. Yara İyileşmesinde Kullanımı .....                                    | 7     |
| 2.2.3.1.3. Tarımda Kullanımı.....                                                | 7     |
| 2.2.4. Nişasta.....                                                              | 7     |
| 2.2.4.1. Nişasta Bazlı Hidrojellerin Kullanım Alanları .....                     | 7     |
| 2.2.4.1.1. Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı .....                              | 7     |
| 2.2.4.1.2. Gıda Endüstrisinde Kullanımı .....                                    | 7     |
| 2.2.4.1.3. Kişisel Hijyen Uygulamalarında Kullanımı .....                        | 8     |
| 2.2.5. Kitosan.....                                                              | 8     |
| 2.2.5.1. Kitosan Bazlı Hidrojellerin Kullanım Alanları.....                      | 10    |
| 2.2.5.1.1. Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı .....                              | 10    |
| 2.2.5.1.2. Yara İyileştirmede Kullanımı .....                                    | 10    |
| 2.2.5.1.3. Tarımda Kullanımı.....                                                | 11    |
| 2.2.5.1.4. Diğer Kullanım Alanları .....                                         | 11    |
| 2.3. Killer .....                                                                | 12    |
| 2.3.1. Kaolin Grubu Kil Mineralleri.....                                         | 12    |
| 2.3.2. Klorit Grubu Kil Mineralleri.....                                         | 13    |
| 2.3.3. Mika Grubu Kil Mineralleri.....                                           | 13    |
| 2.3.4. Simektit Grubu Kil Mineralleri.....                                       | 13    |
| 2.3.5. Killerin Kullanım Alanları .....                                          | 13    |

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3. MATERYAL VE YÖNTEMLER .....                                                                                                               | 15 |
| 3.1. Materyal .....                                                                                                                          | 15 |
| 3.2. Yöntem .....                                                                                                                            | 15 |
| 3.2.1. Protein Tayini .....                                                                                                                  | 15 |
| 3.2.2. Kitosan, GLA-kitosan, Kitosan-kil, GLA-kitosan-kil Hidrojel<br>Boncuklarının Hazırlanması .....                                       | 16 |
| 3.2.2.1. Nanokilin Aktivasyonu .....                                                                                                         | 16 |
| 3.2.3. Spektroskopik Karakterizasyon .....                                                                                                   | 16 |
| 3.2.3.1. FTIR, SEM, TGA .....                                                                                                                | 16 |
| 3.2.4. Adsorpsiyon Çalışmalarının Optimizasyonu .....                                                                                        | 17 |
| 3.2.4.1. Temas Süresinin Etkisi .....                                                                                                        | 17 |
| 3.2.4.2. pH Etkisi .....                                                                                                                     | 17 |
| 3.2.4.3. Sıcaklık Etkisi .....                                                                                                               | 18 |
| 3.2.4.4. BSA Konsantrasyonunun Etkisi .....                                                                                                  | 18 |
| 3.2.5. Adsorpsiyon İzotermi .....                                                                                                            | 18 |
| 3.2.5.1. Langmuir İzotermi .....                                                                                                             | 18 |
| 3.2.5.2. Freundlich İzotermi .....                                                                                                           | 19 |
| 3.2.6. Adsorpsiyon Kinetiği .....                                                                                                            | 19 |
| 3.2.6.1. Yalancı Birinci Mertebe Kinetiği .....                                                                                              | 20 |
| 3.2.6.2. Yalancı İkinci Mertebe Kinetiği .....                                                                                               | 20 |
| 3.2.6.3. Parçacık İçin Difüzyon Etkisi .....                                                                                                 | 20 |
| 3.2.7. Adsorpsiyon Termodinamiği .....                                                                                                       | 21 |
| 3.2.8. Şisme Testi .....                                                                                                                     | 21 |
| 3.2.9. Tekrar Kullanılabilirlik Testi .....                                                                                                  | 22 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....                                                                                                     | 22 |
| 4.1. Protein Standart Grafiği .....                                                                                                          | 22 |
| 4.1.1. Protein Standart Grafiğinin Oluşturulması .....                                                                                       | 22 |
| 4.2. Spektroskopik Karakterizasyon .....                                                                                                     | 23 |
| 4.2.1. Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopi Analizi (FTIR) .....                                                                          | 23 |
| 4.2.2. SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) Analizi .....                                                                                      | 25 |
| 4.2.3. TGA (Termogravimetrik Analiz) .....                                                                                                   | 26 |
| 4.3. Kitosan, GLA-kitosan, Kitosan-kil, GLA-kitosan-kil Hidrojel Boncuklar<br>Üzerine BSA'nın Adsorpsiyon Çalışmalarının Optimizasyonu ..... | 27 |
| 4.3.1. Sürenin Etkisi .....                                                                                                                  | 27 |
| 4.3.2. pH Etkisi .....                                                                                                                       | 28 |
| 4.3.3. Sıcaklık Etkisi .....                                                                                                                 | 29 |
| 4.3.4. BSA Konsantrasyonunun Etkisi .....                                                                                                    | 30 |
| 4.4. Adsorpsiyon İzotermi .....                                                                                                              | 31 |
| 4.4.1. Langmuir İzotermi Grafikleri .....                                                                                                    | 31 |
| 4.4.2. Freundlich İzotermi Grafikleri .....                                                                                                  | 32 |
| 4.5. Adsorpsiyon Kinetiği .....                                                                                                              | 34 |
| 4.5.1. Yalancı Birinci Mertebe Kinetik Grafikleri .....                                                                                      | 34 |
| 4.5.2. Yalancı İkinci Mertebe Kinetik Grafikleri .....                                                                                       | 36 |
| 4.6. Parçacık İçerisi Difüzyon Etkisi Grafiği .....                                                                                          | 37 |
| 4.7. Adsorpsiyon Termodinamiği .....                                                                                                         | 39 |
| 4.8. Şisme Testi .....                                                                                                                       | 40 |
| 4.9. Tekrar Kullanılabilirlik Testi .....                                                                                                    | 43 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                                                                                                   | 44 |
| 6. KAYNAKLAR .....                                                                                                                           | 45 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|             |                                           |
|-------------|-------------------------------------------|
| <b>BSA</b>  | Sığır Serum Albumin                       |
| <b>CMC</b>  | Karboksimetil Selüloz                     |
| <b>FTIR</b> | Fourier Transform Infrared Spektroskopisi |
| <b>GLA</b>  | Glutaraldehit                             |
| <b>HA</b>   | Hyaluronik Asit                           |
| <b>KBr</b>  | Potasyum Bromür                           |
| <b>mg</b>   | Miligram                                  |
| <b>mL</b>   | Mililitre                                 |
| <b>SEM</b>  | Taramalı Elektron Mikroskobu              |
| <b>TGA</b>  | Termogravimetrik Analiz                   |
| <b>TPP</b>  | Tripolifosfat                             |
| <b>UV</b>   | Ultraviyole                               |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                  | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 1. Aljinatın yapısı .....                                                                                                                                  | 2     |
| Şekil 2. Hyaluronik asitin yapısı .....                                                                                                                          | 4     |
| Şekil 3. Hyaluronik asitin kemik dokusu mühendisliğinde kullanımının gösterimi .....                                                                             | 5     |
| Şekil 4. Hyaluronik asitin cilt dokusu mühendisliğinde kullanımına örnek.....                                                                                    | 5     |
| Şekil 5. Sodyum karboksimetil selülozun yapısı .....                                                                                                             | 6     |
| Şekil 6. Kitinin deasetilasyonu sonucu kitosan eldesi .....                                                                                                      | 8     |
| Şekil 7. Asetik asitte çözünmüş kitosanın açık formülü .....                                                                                                     | 9     |
| Şekil 8. Glutaraldehit ile çapraz bağlanmış kitosanın yapısı .....                                                                                               | 9     |
| Şekil 9. Kitosanın yara iyileştirmede kullanımına örnek .....                                                                                                    | 11    |
| Şekil 10. Kitosanın kontakt lens kullanımına örnek .....                                                                                                         | 12    |
| Şekil 11. Bradford yöntemine göre oluşturulan protein standart garfiği .....                                                                                     | 22    |
| Şekil 12. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojellerin FTIR spektrumları a)kitosan, b)GLA-kitosan, c)kitosan-kil, d) GLA-kitosan-kil ..... | 24    |
| Şekil 13. Kitosan hidrojel a) 100x b) 5000x, kitosan-kil hidrojel c)100x d)5000x GLA-kitosan-kil hidrojel e)100x f)5000x büyütme sonrası SEM görüntüleri.....    | 26    |
| Şekil 14. Kitosan, kitosan-kil, GLA-kitosan-kil hidrojellerinin TGA analizi....                                                                                  | 26    |
| Şekil 15. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine BSA adsorpsiyonunda sürenin etkisi .....                               | 27    |
| Şekil 16. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine BSA adsorpsiyonunda pH'nın etkisi.....                                 | 28    |
| Şekil 17. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine BSA adsorpsiyonunda sıcaklığın etkisi.....                             | 29    |
| Şekil 18. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine BSA adsorpsiyonunda konsantrasyonun etkisi .....                       | 30    |
| Şekil 19. BSA'nın kitosan ve GLA-kitosan hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait Langmuir izoterm grafiği.....                                                    | 31    |
| Şekil 20. BSA'nın kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait Langmuir izoterm grafiği.....                                            | 31    |
| Şekil 21. BSA'nın kitosan ve GLA-kitosan hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait Freundlich izoterm grafiği .....                                                 | 32    |
| Şekil 22. BSA'nın kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait Freundlich izoterm grafiği .....                                         | 33    |
| Şekil 23. BSA'nın kitosan ve GLA-kitosan hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı birinci mertebe kinetik grafiği.....                                     | 34    |
| Şekil 24. BSA'nın kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı birinci mertebe kinetik grafiği.....                             | 35    |
| Şekil 25. BSA'nın kitosan ve GLA-kitosan hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı ikinci mertebe kinetik grafiği .....                                     | 36    |
| Şekil 26. BSA'nın kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı ikinci mertebe kinetik grafiği .....                             | 36    |
| Şekil 27. BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait parçacık içi difüzyon etkisi grafiği.....          | 37    |
| Şekil 28. BSA'nın kitosan ve GLA-kitosan hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait LnKc'ye karşı 1/T grafiği .....                                                  | 39    |

|                                                                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 29. BSA ‘nın kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine<br>adsorpsiyonuna ait LnKc’ye karşı 1/T grafiği .....                                                                                | 39 |
| Şekil 30. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojellerin<br>A)0,025M pH 4.0 asetat B) 0,025M pH 5.5 asetat C) 0,025M pH 6.5<br>fosfat tamponunda zamana karşı % şişme grafikleri ..... | 42 |
| Şekil 31. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojellerinin<br>tekrar kullanılabilirlik testi grafiği .....                                                                             | 43 |



## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                                                                                  | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Tablo 1. $R_L$ değerleri ve izoterm tipleri .....                                                                                                                | 19    |
| Tablo 2. BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait $R_L$ (dağılma) sabiti değerleri .....              | 32    |
| Tablo 3. BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait Langmuir ve Freundlich izoterm parametreleri .....  | 33    |
| Tablo 4. BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı birinci mertebe kinetik parametreleri ..... | 35    |
| Tablo 5. BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı ikinci mertebe kinetik parametreleri .....  | 37    |
| Tablo 6. BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait parçacık içi difüzyon etkisi parametraleri .....    | 38    |
| Tablo 7. BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait termodinamik parametler .....                       | 40    |

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

"Polisakkarit Bazlı Hidrojeller Üzerine Protein Adsorpsiyon Özelliklerinin İncelenmesi" adlı tez çalışmasında polisakkarit bazlı hidrojeller sentezlenmiştir. BSA'nın hidrojeller üzerine adsorpsiyonu optimize etmek üzere temas süresi, pH, sıcaklık, BSA konsantrasyonu parametreleri incelenmiştir. Optimize edilen koşullarda adsorpsiyon izotermi, adsorpsiyon kinetikleri ve adsorpsiyon termodinamiği parametreleri çalışıldı ve hidrojeller için şişme testi ve tekrar kullanılabilirliği çalışması yapılmıştır.

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında bilimsel katkıları ile bana yardımcı olan tez danışmanım ve hocam Prof. Dr. Ayşe DİNÇER'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tüm hayatım boyunca beni yalnız bırakmayan, tez çalışmam süresince büyük bir sabır ve anlayış göstererek maddi ve manevi yardımlarını benden esirgemeyen, beni destekleyerek bu günlere gelmemi sağlayan annem Nilgün GÜLER'e, ablam Seminay GÜLER'e ve kardeşim İrem GÜLER'e sonsuz teşekkür ederim.

Setenay GÜLER  
Manisa, 2024

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

Setenay GÜLER

Manisa Celal Bayar Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayşe DİNÇER

Bu çalışmada, kitosan (%2 w/v) ve ayrı olarak hazırlanan kitosan-kil karışımı tripolifosfat (%2 w/v, pH 8.2) içine damlatılarak hidrojel boncuklar oluşturuldu. Kitosan ve kitosan-kil boncuklarının bir kısmı ayrılarak %1 (v/v) glutaraldehit (GLA) ile çapraz bağlandı. Deneysel çalışmalarda liyofilize hidrojel boncuklar kullanıldı. Hidrojel boncukların protein adsorpsiyon özellikleri model protein olarak seçilen sığır serum albumin (BSA) ile incelendi. BSA'nın hidrojel boncuklar üzerine adsorpsiyonu optimize etmek üzere temas süresi, pH, sıcaklık, başlangıç BSA konsantrasyonu gibi parametreler çalışıldı. Hidrojeller Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR), SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) ve TGA (Termogravimetrik Analiz) ile analiz edildi. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojellerin optimizasyon koşulları 120 dakika temas süresinde, pH 5.5'da, 25 °C ve 25 mg/mL protein konsantrasyonu olarak bulunmuştur. Hidrojellerin adsorpsiyon izotermi ve adsorpsiyon kinetikleri ve adsorpsiyon termodinamiği parametreleri incelendi. Adsorpsiyon izotermi ve Langmuir İzotermi ile uyumlu olduğu görüldü. Hazırlanan hidrojel boncuklar içerisinde maksimum BSA adsorpsiyonunun kitosan-kil hidrojellerde gerçekleştiği görüldü. Adsorpsiyon kinetiklerinin de yalancı ikinci derece kinetik modeliyle uyumlu olduğu belirlendi. Termodinamik hesaplamalarda  $\Delta H$  ve  $\Delta S$  değerlerinin negatif ve  $\Delta G$  değerinin ise pozitif olduğu görüldü. Buna göre adsorpsiyonun ekzotermik olduğu ve sıcaklık artışının adsorpsiyon üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** (Hidrojel, kitosan, adsorpsiyon, kil, sığır serum albümin)

2024, 51 sayfa

## **ABSTRACT**

**M.Sc. Thesis**

**Setenay GÜLER**

**Manisa Celal Bayar University  
Graduate School of Education  
Department of Chemistry**

**Supervisor: Prof. Dr. Ayşe DİNÇER**

In this study, hydrogel beads were formed by dropping chitosan (2% w/v) and a separately prepared chitosan-clay mixture into tripolyphosphate (%2 w/v, pH 8.2). Some of the chitosan and chitosan-clay beads were separated and crosslinked with 1% (v/v) glutaraldehyde (GLA). Lyophilized hydrogel beads were used in the experimental studies. Protein adsorption properties of hydrogel beads were investigated with bovine serum albumin (BSA) selected as a model protein. Parameters such as contact time, pH, temperature, and initial BSA concentration were studied to optimize the adsorption of BSA on hydrogel beads. The hydrogels were analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), SEM (Scanning Electron Microscope) and TGA (Thermogravimetric Analysis). Optimization conditions for chitosan, GLA-chitosan, chitosan-clay and GLA-chitosan-clay hydrogels were found as 120 minutes of contact time, pH 5.5, 25°C and 25 mg/mL protein concentration. Adsorption isotherms, adsorption kinetics and adsorption thermodynamics were studied under the optimised conditions. The adsorption isotherms were found to be compatible with Langmuir Isotherm. Among the prepared hydrogel beads, maximum adsorption of BSA was observed in chitosan-clay hydrogels. The adsorption kinetics were found to be compatible with the pseudo-second order kinetic model. Thermodynamic calculations showed that  $\Delta H$  and  $\Delta S$  values were negative and  $\Delta G$  value was positive. Accordingly, it was concluded that adsorption was exothermic and temperature increase had a negative effect on adsorption.

**Keywords: (Hydrogel, chitosan, adsorption, clay, bovine serum albumin)**

**2024, 51 pages**

## 1. GİRİŞ

Hidrojeller, yüksek şişme özelliği ile bilinen polimerlerdir. Hidrojellerin şişme özellikleri, pH, sıcaklık gibi etkenlere göre değişim göstermektedir. Polisakkaritler, monosakkarit birimlerinden oluşan polimerlerdir. Polisakkarit bazlı hidrojellerin toksik olmaması, yüksek şişme kapasitesi, biyobozunur ve biyouyumlu yapıda olması gibi özellikleri bulunmaktadır. Polisakkarit bazlı hidrojeller farmasötik uygulamada, mühendislikte ve biyomedikal araştırmalarda kullanılmaktadır.

Kitosan kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilmiş bir polisakkarittir. Kitosan,  $\beta$  (1-4) glikosidik bağlarla bağlanmış 2-amino-2-deoksi-D-glukopiranoz birimlerinden oluşan polimerik bir yapıya sahiptir. Kitosanın toksik olmaması, biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir olması gibi özelliklerinden dolayı bilim insanları tarafından biyomedikal alanda yoğun bir şekilde araştırmaların yapıldığı bir polisakkarittir.

Killer ince yapılı ve doğal olup, yapısında alüminyum ve silika bulunan bir maddedir. Killer, kayaçları oluşturan esas minerallerin ayrışmasıyla elde edilir. Kil mineralleri farmakolojik uygulamalarda, hastalıklarının tedavisinde ve estetik tıp olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Kil mineralleri ayrıca kaplıcalarda çimento, tuğla, kiremit, çanak, çömlek, çini, ve porselen yapımında da kullanılmaktadır.

Tez çalışmasında öncelikle kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil-ve GLA-kitosan-kil hidrojelleri hazırlandı. BSA'nın hidrojel boncuklar üzerine adsorpsiyonu optimize etmek üzere temas süresi, pH, sıcaklık, başlangıç protein konsantrasyonu gibi parametreler çalışıldı. Bununla birlikte adsorpsiyon termodinamiği, adsorpsiyon kinetiği ve izoterm parametreleri hesaplandı. Ayrıca hidrojellerin tekrar kullanılabilirliği ve şişme potansiyeli test edildi.

Bu tezde amaç ise, model protein olarak seçilen BSA'nın adsorpsiyonuna yönelik polisakkarit temelli etkili bir adsorban geliştirmektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hidrojeller

Hidrojeller üç boyutlu yapıda olan ve suda çözünmezlik ile karakterize edilen hidrofilik yapılardır. Hidrojeller şişebilme özelliğine sahip olmasının yanında yumuşak ve esnek yapıda olmaları gibi özellikleri bakımından canlı dokular ile büyük benzerlik göstermektedirler [1]. Hidrojellerin şişme özellikleri, pH, sıcaklık gibi etkenlere göre değişim göstermektedir. [2].

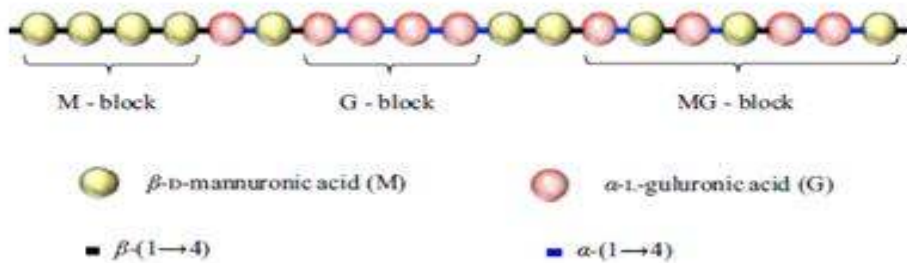
### 2.2. Polisakkaritler

Polisakkaritler, glikozidik bağlarla birbirine bağlanmış monosakkarit birimlerinden oluşan polimerlerdir [3]. Polisakkaritler için genel kimyasal formül  $C_x(H_2O)_y$ 'dir [4]. Polisakkarit bazlı hidrojellerin toksik olmaması, yüksek şişme kapasitesi, biyobozunur ve biyouyumlu yapıda olması gibi özellikleri ile polisakkarit bazlı hidrojellerin farmasötik uygulamada, mühendislikte ve biyomedikal araştırmalarda kullanılabilir olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [5].

Polisakkarit bazlı hidrojel bileşeninin hazırlanması için en sık kullanılan polisakkaritler kitosan, aljinat, karboksimetil selüloz, nişasta ve hyaluronik asittir [6].

#### 2.2.1. Aljinat

Deniz yosunlarından ekstrakte edilen aljinat  $\beta$  (1-4)-D- mannuronik asit ve  $\alpha$ -(1-4)-L-guluronik asitten oluşan polisakkarittir [7]. Aljinatın yapısı şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Aljinatın yapısı [8]

Aljinat, biyouyumlu ve biyobozunur yapıda olması nedeniyle biyomedikal, farmasötik ve doku mühendisliği gibi uygulamalarda kullanılabilen bir biyomalzemedir [7].

#### **2.2.1.1. Aljinat Bazlı Hidrojellerin Kullanım Alanları**

##### **2.2.1.1.1. Biyomedikal Alanda Kullanımı**

Aljinat hidrojellerinden üretilen yara örtüleri kullanımında, aljinat kalsiyum, magnezyum, çinko nikel gibi iyonlar ile jel haline getirilebilmektedir. Aljinat bazlı hidrojellerden elde edilen yara örtüleri yüksek sıvı adsorplama kapasiteleri sayesinde lezyonlu bölgenin, ideal nem ve sıcaklıkta kalmasını sağlayarak bakteriyel enfeksiyon riskini azaltır ve hızlı bir şekilde yeniden doku oluşumunu teşvik edebilmektedir. Geleneksel yara örtüleri (örneğin gazlı bezler), kuru bariyer fonksiyonu sağlayarak yara iyileşmesini geciktirmektedir. Aljinat bazlı yara örtüleri esnek fiberler olarak üretilmektedir. Aljinat bazlı hidrojeller yaraya uygun hazırlanabilmesi, yara bölgesine uygun şekil alabilmesi, yara ortamını nemlendirebilmesi, vücut yüzeyinden kolayca temizlenebilmesi gibi özelliklerinden dolayı yara iyileşmesini kolaylaştırır ve modern yara örtülerinde etkin olarak kullanılır [7].

##### **2.2.1.1.2. Kıkırdak Doku Mühendisliği Alanında Kullanımı**

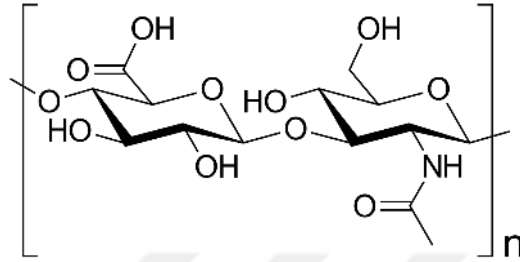
Aljinat bazlı hidrojeller, kıkırdak doku uygulaması için uygun fiziksel özellikleri bünyesinde bulunduran biyolojik olarak parçalanabilen doğal bir polimerdir. Yapılan çalışmalarda aljinat hidrojellerin, hayvan modellerinde kıkırdak hücrelerin, hasar görmüş kıkırdağı yenilemek için nakledilmesinde oldukça kullanılabilir olduğu belirtilmiştir [9].

##### **2.2.1.1.3. Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı**

Aljinat bazlı hidrojellerin hidrofilik ve porlu yapısı sayesinde, kanser ilaçlarının kontrollü salımı aljinat bazlı hidrojel kullanılarak gerçekleştirilmektedir [10].

### 2.2.2. Hyaluronik Asit

Hyaluronik asit, N-asetil-D-glukozamin ve D-glukuronik asitten oluşan polisakkarittir [11]. Hyaluronik asitin yapısı şekil 2’de gösterilmiştir. Hyaluronik asit, biyouyumlu ve biyobozunur yapıda olması nedeniyle biyomedikal ve doku mühendisliği gibi uygulamalarda kullanılabilen bir biyomalzemedir [12].

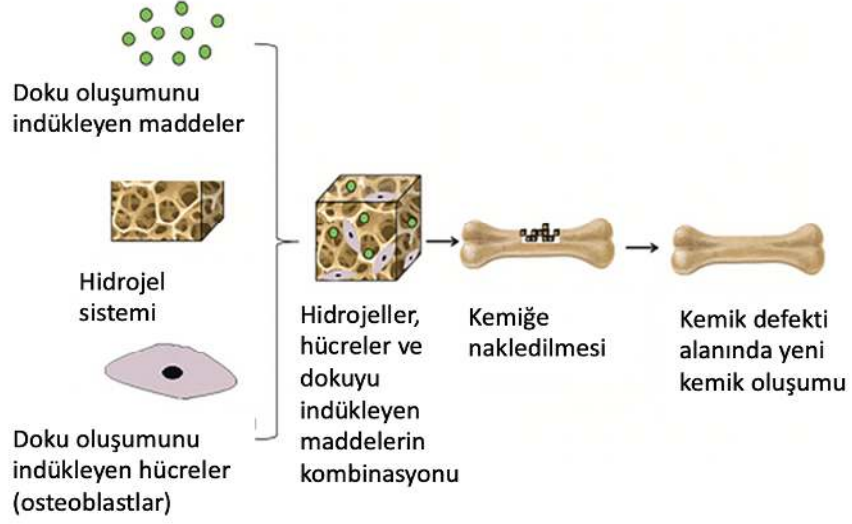


Şekil 2. Hyaluronik asitin yapısı [13]

#### 2.2.2.1. Hyaluronik Asit Bazlı Hidrojellerin Kullanım Alanları

##### 2.2.2.1.1. Kemik Dokusu Mühendisliği Kullanımı

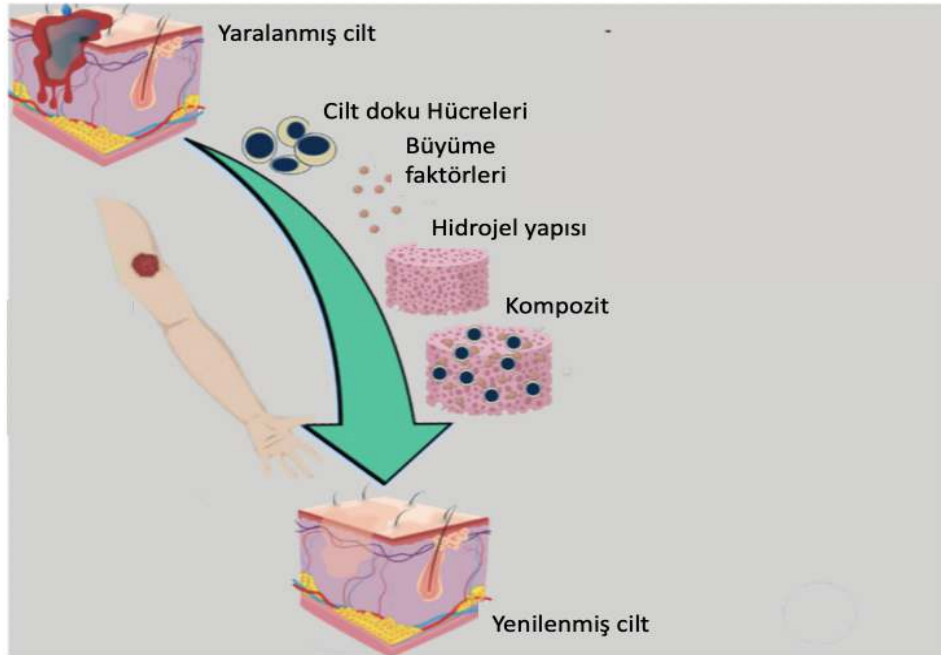
Farklı kemik hastalıklarının (ciddi yaralanmalar gibi) oluşması durumunda kemiğin iyileşmesi bozulur ve dışarıdan müdahale ile kemik onarımını ve yenilenmesini başlatabilir ve hızlandırabilir. Ancak hastalarda yabancı doku reaksiyonu oluşması ve doku bulunabilirliğinin düşük olması nedeniyle klinik kullanımları sınırlıdır. Bu soruna alternatif çözüm olarak hyaluronik asit bazlı hidrojeller kullanılabilir. Kemik dokusu mühendisliği için kullanılan hyaluronik asit bazlı hidrojeller, hücre bağlanmasını ve çoğalmasını teşvik etmek için hücreleri kapsülleyerek kemik kusurlarını iyileştirmek için uygun bir ortam yaratır (Şekil 3). HA bazlı hidrojeller, biyouyumlulukları ve hücresel çoğalmayı destekleme yetenekleri nedeniyle kemik dokusu mühendisliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır [14].



**Şekil 3.** Hyaluronik asitin kemik dokusu mühendisliğinde kullanımının gösterimi [15]

#### 2.2.2.1.2. Cilt Dokusu Mühendisliği kullanımı

Cilt dokusundaki hasarlar ve damar sistemi kaybı nedeniyle doğal olarak iyileşmekte zorluk çeker ve bu yaralar, bakteriyel enfeksiyonlara karşı da oldukça hassastır. HA bazlı hidrojellerin toksik olmaması ve biyouyumlu yapıda olması gibi özellikleri ile damar oluşumu ve yara kapanmasının desteklenmesi için gerekli ortamı sağlamaktadır [16]. Şekil 4’de hyaluronik asitin cilt dokusu mühendisliğinde kullanımı gösterilmiştir.



**Şekil 4.** Hyaluronik asitin cilt dokusu mühendisliğinde kullanımına örnek [16]



#### **2.2.3.1.2. Yara İyileşmesinde Kullanımı**

CMC Hidrojelleri, antioksidan ve hücre onarıcı özellikler gösteren bir molekülle yüklenerek yara kronikliğinde rol oynayan iltihaplanmayı azaltarak dermatolojik uygulamalar için kullanılabilirliği çalışmalarda gösterilmiştir [22].

#### **2.2.3.1.3. Tarımda Kullanımı**

Toprağın CMC hidrojelleriyle işlenmesi toprağın su tutma kapasitesini artırır. Yapılan bir çalışmada kumlu toprağa karıştırdıkları biyobozunur süper emici CMC bazlı hidrojelin bitkiler üzerindeki etkisini belirli şartlarda incelemişler ve yapılan çalışma sonucunda salatalık bitkisinin gelişiminin, bitki boyunun ve yaprak genişliğinin arttığı belirlenmiştir [23].

#### **2.2.4. Nişasta**

Nişasta amiloz ve amilopektinden meydana gelmektedir [24]. Nişasta bazlı hidrojellerin biyobozunur ve biyoyumlu yapıda olması gibi özellikleri ile farklı araştırmalarda kullanılmaktadır [25].

#### **2.2.4.1. Nişasta Bazlı Hidrojellerin Kullanım Alanları**

##### **2.2.4.1.1. Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı**

Nişasta bazlı hidrojeli toksik olmaması ve biyoyumlu olması bakımından kontrollü ilaç salımı teknolojisinde kullanılabilmektedir. Yapılan çalışmalarda çeşitli ilaç etken maddeleri (anti kanser ilaçlar) nişasta bazlı hidrollere yüklenerek kontrollü ilaç salımında kullanılabilirliği incelenmiş ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir [26].

##### **2.2.4.1.2. Gıda Endüstrisinde Kullanımı**

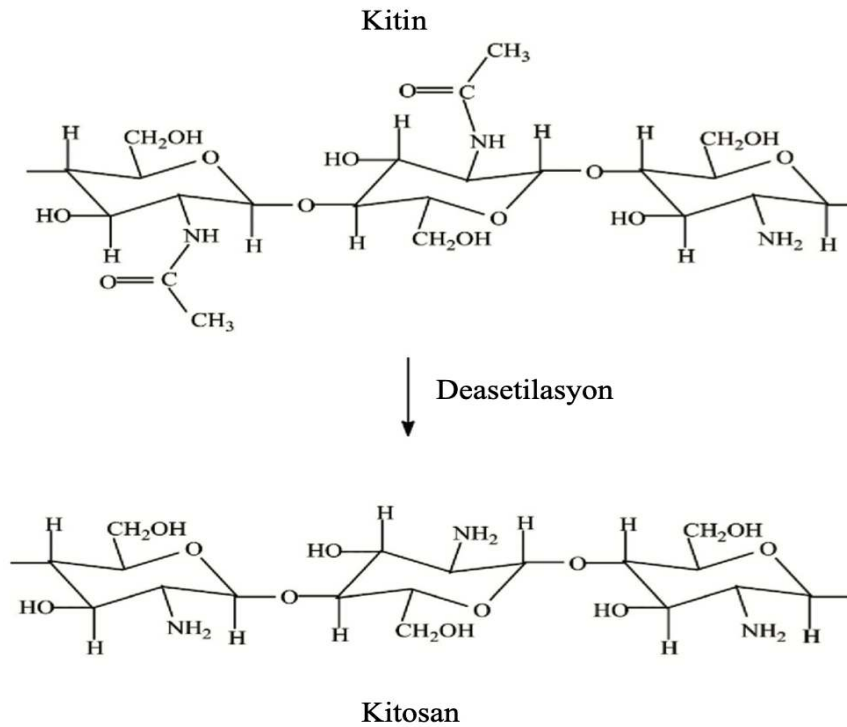
Günümüzde gıdaların paketlenmesinde nişasta bazlı biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin kullanımı dikkat çekmektedir. Gıda endüstrisinde nişasta bazlı hidrojeller gıda ambalajı için kullanılabilir. Geleneksel olarak polietilen yapıda olan gıda ambalajları çevre dostu değildir ve doğada parçalanması uzun zaman alır. Nişasta bazlı biyolojik olarak parçalanabilen hidrojeller bu ambalaj malzemesine iyi bir alternatif olabilmektedir [27].

#### 2.2.4.1.3. Kişisel Hijyen Uygulamalarında Kullanımı

Nişasta bazlı hidrojel­ler çocuk bezlerinde, yetişkin idrar kaçırma bezleri ürünlerinde, su emici olarak kullanılır. Bu kişisel bakım ürünleri, bireylerde kullanım süresince özellikle kuru ve hijyenik kalması açısından çok önemlidir. Kumaş ve pamukla yapılan geleneksel ürünler düşük su emme kapasitesi ve geri dönüştürülebilirlik gibi sınırlamalara sahiptir. Nişasta bazlı hidrojel­ler büyük miktarda vücut atıklarını, sıvıları emebilir ve bunları uzun süre bünyesinde tutabilir. Bu özelliklerden dolayı nişasta bazlı hidrojel­ler kişisel hijyen ürünlerinde kullanımı için uygun malzemelerden biri olarak gösterilebilir [28].

#### 2.2.5. Kitosan

Kitosan,  $\beta$  (1-4) glikosidik bağlarla bağlanmış 2-amino-2-deoksi-D-glukopiranoz birimlerinden oluşan polimerik bir yapıya sahiptir [29]. Şekil 6’da kitinin deasetilasyonu sonucu kitosan eldesi gösterilmiştir. Kitosan kitinin deasetilasyonu ile oluşan polisakkarittir [30].



**Şekil 6.** Kitinin deasetilasyonu sonucu kitosan eldesi [30]

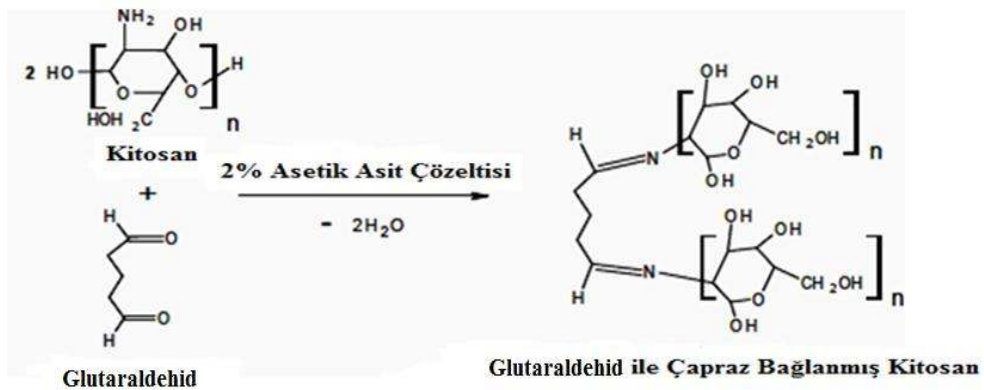
Kitosanın toksik olmaması, biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir olması gibi özelliklerinden dolayı bilim insanları tarafından biyomedikal alanda yoğun bir şekilde araştırmaların yapıldığı bir polisakkarittir [7]. Kitosan ayrıca birçok endüstri dalında kullanım alanı bulmuştur [31].

Kitosan sulu asidik ortamlarda çözünür. Kitosan formik asit, sitrik asit ve asetik asitte çözünmektedir [32]. Kitosanın kitin ve selülozdan farklı olarak sahip olduğu amin gurubu, çözünme sırasında protonlanır ve bundan dolayı da kitosan pozitif yüklenmiş olur [33]. Şekil 7’de asitte çözünmüş kitosanın yapısı gösterilmiştir.



**Şekil 7.** Asetik asitte çözünmüş kitosanın yapısı [34]

Kitosanın şişme kabiliyeti gibi fiziksel özelliklerini belirlemek için glutaraldehid, oksalik asit, formaldehid ve genipin gibi çapraz bağlayıcılar kullanılmaktadır [35]. En çok kullanılan çapraz bağlayıcı glutaraldehittir [36]. Kitosanın glutaraldehit ile çapraz bağlama sonucunda glutaraldehidin –CHO grupları ve kitosanın –NH<sub>2</sub> grupları arasında imin bağı oluşmaktadır [37]. Şekil 8’de glutaraldehit ile çapraz bağlanmış kitosanın yapısı gösterilmiştir.



**Şekil 8.** Glutaraldehit ile çapraz bağlanmış kitosanın yapısı [38]

### **2.2.5.1. Kitosan Bazlı Hidrojellerin Kullanım Alanları**

#### **2.2.5.1.1. Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı**

Kitosan bazlı hidrojeller biyobozunur ve biyolojik olarak uyumlu olmasından dolayı kontrollü ilaç salımında kullanılmaktadır. Bu bağlamda kitosan bazlı hidrojeller, farklı ilaç geliştirmelerinde uygun bir polisakkarit olarak karşımıza çıkmaktadır. Çeşitli ilaç etken maddeleri, kitosan bazlı hidrojeller içerisine (hidrojel boncuk vb.) yerleştirilmektedir [39].

Yapılan bir çalışmada poli(akrilamid)-g-dekstran ve kitosandan oluşan hidrojeller hazırlanmıştır. Acyclovir model ilaç olarak seçilmiştir. İlacın yarılanma ömrü ise çok kısa olup oral yolla günde 5 kere alınması gerekmektedir. Yapılan çalışmanın amacı, ilacın kontrollü salımını geliştirerek günde 2 defa alınmasıdır. Yapılan çalışma sonunda ilaç salım süresi 12 saate kadar çıkarılmıştır [40].

#### **2.2.5.1.2. Yara iyileştirmede Kullanımı**

Kitosan bazlı hidrojellerden elde edilen yara örtüleri yarada hücre çoğalmasını sağlarken yara izi oluşmasını azaltmak için nemli bir ortam sağlamaktadır. Gazlı bez gibi geleneksel yara örtüleri, yara bölgesine güçlü yapışıklar ve pansuman sırasında ağrı oluşturlar. Kitosan bazlı hidrojelden elde edilen yara örtüleri ise dokuya düşük yapışma ve soğutma özelliği ile ağrıyı azaltır [41].

Yapılan çalışmalar sonucunda kitosan-PVA hidrojellerinin yara örtüsü olarak yaygın bir şekilde kullanılabildiği belirtilmiştir. Ayrıca ikinci derece yanıkların geleneksel yöntemlere kıyasla (yara parafin gazlı bez ve pamuklu gazlı bezle tedavi) daha erken iyileştirdiği araştırmalarda gösterilmiştir [42]. Şekil 9'da kitosanın yara iyileştirmede kullanımına örnek gösterilmiştir.



**Şekil 9.** Kitosanın yara iyileştirmede kullanımına örnek [43]

#### **2.2.5.1.3. Tarımda Kullanımı**

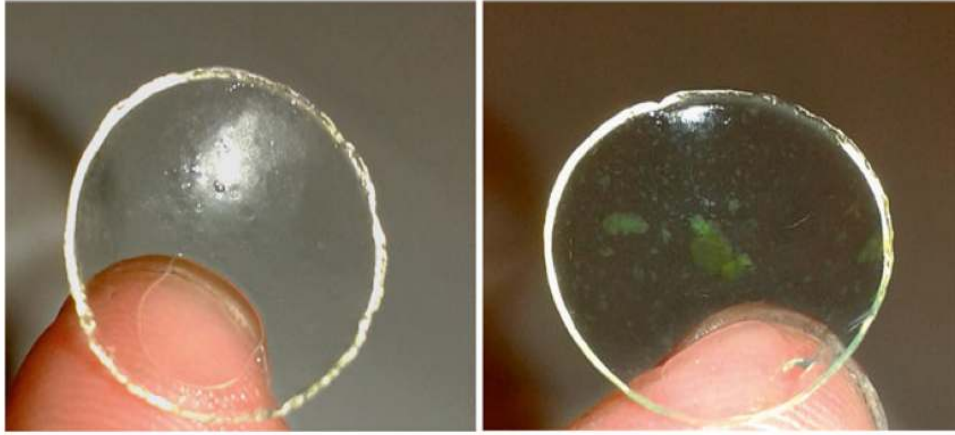
Günümüzde su kaynaklarının bilinçsiz kullanılması su kıtlığına sebep olmaktadır. Fazla miktarda suyu tutma ve suyu salma gibi özellikleri nedeniyle hidrojellerin tarımda kullanılması su kıtlığını önlemek için alternatif bir çözüm yolu olarak görülmektedir [44].

Hidrojellerin doğru ve bilinçli kullanımı tarımda verimliliğin artmasını sağlamaktadır. Hidrojeller, yağmur ve sulama sularını tutarak tarım mahsullerinin ihtiyacına bağlı olarak yavaş bir şekilde salınmasını sağlar. Toprağın kitosan bazlı hidrojel ile işlenmesi toprağın su tutma kapasitesini artırır [45].

Yapılan bir çalışmada, toprağa kitosan-polivinil alkol hidrojel eklemişler ve hidrojin karpuz bitkisinin gelişimi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda hidrojel varlığında bitkinin daha iyi büyüdüğü ve geliştiği, ayrıca gövde uzunluğunun %7 civarında yükseldiği bulunmuştur [46].

#### **2.2.5.1.4. Diğer Kullanım Alanları**

Kitosan bazlı hidrojellerin kontakt lens yapımında kullanılabilirliği araştırılmıştır. Yapılan bir çalışmada kitosan/jelatin hidrojel filmi hazırlanmış ve oksijen geçirgenliği, optik geçirgenlik, su emiciliği ve mekanik özellikler açısından incelenmiş ve karakterize edilmiştir. Elde edilen sonuçların ise kitosan/jelatin hidrojel filminin geçirgen, şeffaf, esnek ve biyouyumlu filmler olduğu ve kontakt lens malzemesi için güçlü bir şekilde kullanılabileceği ortaya konulmuştur [47]. Şekil 10'da kitosanın kontakt lens kullanımına örnek gösterilmiştir.



**Şekil 10.** Kitosanın kontakt lens kullanımına örnek [59]

Kitosan bazlı hidrojeller atık sulardan ağır metalleri ve değerli metalleri ayırmak için kullanılabilir. Yapılan bir çalışmada atık sulardan gümüş metalini geri kazanmak için kitosan, poliakrilamit ve selüloz kullanılarak hidrojeller hazırlanmış ve hazırlanan bu hidrojellerin adsorbent olarak kullanımıyla gümüş metali geri kazanılmıştır [48].

### **2.3. Killer**

Kil doğada doğal olarak bulunan ince yapılı olan bir mineraldir. Kil mineralleri, kayaçları oluşturan esas minerallerin ayrışmasıyla elde edilir. Killer yapılarında  $\text{SiO}_2$  ve  $\text{Al}_2\text{O}_3$  kristal yapıları (tetrahedral ve oktahedral) bulundurmaktadır [49]. Yapı ve bileşimlerine göre kaolin, mika, klorit ve simektit olmak üzere başlıca dört grup kil minerali bulunmaktadır [50].

#### **2.3.1. Kaolin Grubu Kil Mineralleri**

Kaolin, volkanik kayaçların bozunmaları sonucu elde edilmektedir [51]. Kaolinin rengi beyazdır ve çok küçük tane boyutludur [52]. Kaolin grubu kil mineralleri,  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ya da  $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$  molekül formülleri ile ifade edilmektedir [53]. Kaolin grubu kil mineralleri bir oktahedral ve bir tetrahedral tabakadan oluşmaktadır. Kaolin grubunda katmanlar arası ~0,7 nm bazal mesafe bulunmaktadır [54]. Kaolin grubu kil mineralleri doğada değişik türde bulunmaktadır. En yaygın olanı kaolinittir. Kaolinit kil mineralinin kristal kafes yapısı ile oluşum kökeni sonucu halloysit, dikit ve nakrit gibi farklı türleride bulunmaktadır [55].

### 2.3.2. Klorit Grubu Kil Mineralleri

Klorit Grubu Kil Minerallerinin katman yapıları iki tetrahedral ve bir oktahedralden katmandan oluşur ve katmanlarında  $Mg(OH)_2$  veya  $Al(OH)_3$  bulunur. [56]. Ayrıca, klorit grubuna ait kil minerallerinde katmanlar arasında  $\sim 0,14$  nm bazal mesafe bulunmaktadır [57]. Klorit grubu kil minerallerine hidratlanmış magnezyumlu alüminyum silikatlar denilmektedir [58]. Klorit grubu kil mineralleri,  $Mg_5(Al,Fe)(OH)_8(AlSi)_4O_{10}$  molekül formülü ile ifade edilmektedir [59].

### 2.3.3. Mika Grubu Kil Mineralleri

Mika grubu kil minerallerinin molekül formülü  $KAl_2(OH)_2[AlSiO_3(O,OH)_{10}]$  olarak ifade edilmektedir [59]. Mika grubu kil mineralleri iki tetrahedral ve bir oktahedral katmandan meydana gelmektedir. Mika grubu kil minerallerinde katmanlar arası  $\sim 0,1$  nm bazal mesafe bulunmaktadır [60]. Mika grubu kil minerallerinin illit, muskovit, biyotit, flogopit gibi türleri bulunmaktadır [61].

### 2.3.4. Simektit Grubu Kil Mineralleri

Simektit grubu kil mineralleri doğada çeşitli türlerde bulunmaktadır. En yaygın olanı montmorillonittir. Simektit grubu kil minerallerinin bidellit, nontronit, hektorit ve saponit gibi türleri bulunmaktadır [62]. Simektit grubu kil mineralleri iki tetrahedral ve bir oktahedral katmandan meydana gelmektedir [63]. Simektit grubu kil minerallerinde katmanlar arası  $\sim 0,96$  nm bazal mesafe bulunmaktadır [57]. Simektit ailesinin bir diğer önemli üyesi Bentonit'tir [64]. Bentonit kili montmorillonit ailesine bağlı bir kil minerali olup lav ve volkanik küllerin kimyasal olarak ayrışması veya bozulması ile oluşmaktadır. [65].

### 2.3.5. Killerin Kullanım Alanları

Kil mineralleri farmakolojik uygulamalarda, hastalıklarının tedavisinde ve estetik tıp olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Hastalıkların tedavisi için kullanımına örnek olarak ishalin önlenmesinde kullanabilirliği araştırılmıştır. İshal için kullanılan ilaç etken maddelerinin çoğu, ince bağırsaktan kolon rektuma geçen sıvıyı azaltmaktır. Bu yüzden suyu emici ajanların kullanılması tavsiye edilir. İshale

karşı kil mineralleri içeren bileşimler kullanılabilir. Bunlar oral yolla vücuda alınabilmektedir.

Kil mineralleri farmakolojik uygulamalarda lokal olarak, vücudun belirli yüzeylerine sürülerek dermatolojik olarak kullanılabilir. Kil mineralleri yüz temizleyicilerinde veya yüz maskelerinde kullanılabilir. Kil mineralleri kaplıcalarda ve çamur tedavisinde, akut patolojilerde (iltihaplı veya şişmiş) yaraların tedavisinde kullanılmaktadır [61]. Killer çimento, tuğla, kiremit, çanak, çömlek, çini ve porselen yapımında, kaplıcalarda, çamur banyolarında kullanılmaktadır [66]. Killer ayrıca kağıt endüstrisinde de kullanılmaktadır [67].



### 3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Materyal

Deneyde kullanılan kimyasallar; Kitosan, sığır serum albümin (BSA), coomassie brilliant blue G-250, fosforik asit ( $H_3PO_4$ ), etanol ( $C_2H_5OH$ ), sodyum asetat ( $CH_3COONa$ ), asetik asit ( $CH_3COOH$ ), sodyum trifosfat pentabazik (TPP), gluteraldehit, tris (hidroksimetil) aminometan (Tris), kil (bentonit), hidroklorik asit (HCl), sodyum fosfat dibazik ( $Na_2HPO_4$ ), sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ( $NaH_2PO_4$ ), potasyum bromür (KBr). Tüm kimyasallar Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan cihazlar; UV-vis Spektrofotometre (Perkin Elmer Lambda 365), FTIR (Fourier Transform Infrared Spektroskopisi) (Perkin Elmer Spectrum BX), liyofilizatör (Setra), yatay karıştırıcı (Heidolph), pH metre (Inolab WTW Series), Terazi (Sartorius).

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Protein Tayini

Protein tayini Bradford yöntemi ile yapılmıştır. Bradford yöntemde Coomassie Brilliant Blue G-250 boyası kullanılmaktadır. Bu yöntemin prensibi ise organik boyaların asidik grupları ile proteinlerin bazik gruplarının etkileşerek renk oluşturmaya dayanmaktadır [68].

Bradford reaktifi hazırlanmasında 40 mg Coomassie Brilliant Blue, 50 mL % 95 lik etanolde çözülüp, karıştırıcıda 1 saat karıştırıldı. Üzerine 55 mL fosforik asit eklendi ve daha sonra saf su ile hacmi 1 litreye tamamlandı ve filtre edildikten sonra koyu renkli şişeye koyuldu.

Standart protein eğrisi oluşturulmasında ilk olarak sığır serum albuminin (BSA) saf su ile 1 mg/mL'lik çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan 1 mg/mL'lik çözeltiden 0,05-0,45 mg/mL arasında standart protein çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan protein çözeltilerinden 0,1 mL alındı ve üzerlerine 2 mL Bradford reaktifi eklendi. Oda sıcaklığında 15 dk beklendi ve 595 nm de spektrofotometrik cihazda ölçüm alındı.

Elde edilen absorbans deęerlerine karşı konsantrasyon deęerlerini grafiği çizilerek standart protein eğrisi oluşturuldu.

### **3.2.2. Kitosan, GLA-kitosan, Kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil Hidrojel Boncuklarının Hazırlanması**

Protein adsorpsiyon çalışmalarında kullanılmak üzere sırasıyla kitosan, çapraz bağlı kitosan, kitosan-kil, ve çapraz bağlı kitosan-kil hidrojel boncuklar hazırlandı. Bunun için ilk olarak kitosan (%2 (w/v)), asetik asit (%1 (v/v)) özeltisinde çözüldü. Ardından kitosan ve GLA-kitosan hidrojel boncukları için kitosan özeltisi TPP (%2 w/v, pH 8.2) özeltisine damlatıldı ve boncukların sertleşmesi için 2 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda hidrojel boncuklar bol miktarda saf su ile yıkandı ve iki kısma ayrıldı. GLA-kitosan boncuklar için 0,05 g kitosan hidrojel boncuk tartıldı ve %1 (v/v) 'lık glutaraldehit çözeltisi içinde 2 saat bekletildi. Süzme işleminin ardından GLA-kitosan hidrojel boncuklar bol saf su ile yıkandı. Kitosan-kil boncukların hazırlanması için hazırlanan kitosan çözeltisinden (%2 w/v) 50 mL alındı ve 1 g nanokil ilave edilip karıştırıldı. Hazırlanan kitosan-kil özeltisi, TPP (%2 w/v, pH 8.2) özeltisine damlatıldı. Boncukların sertleşmesi için 2 saat TPP çözeltisinde bekletilmesinin ardından kitosan-kil boncuklar süzüldü ve saf su ile yıkandı. GLA-kitosan-kil boncuklar için 0,05 g kitosan-kil hidrojel boncuk tartıldı ve %1 (v/v)'lık glutaraldehit çözeltisi içinde 2 saat bekletildi. Süzme işleminin ardından, boncuklar bol saf su ile yıkandı. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil, GLA- kitosan-kil boncuklar deneysel çalışmalarda kullanılmadan önce liyofilize edilerek kurutuldu.

#### **3.2.2.1. Nanokilin Aktivasyonu**

50 g NC, 80 C'de 4 saat boyunca 1 M 250 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile aktive edildi. Süspansiyon daha sonra soğutuldu ve filtrelendi. ökelti deiyonize su ile yıkandı. Aktifleřtirilen nanokil kurutuldu [29].

### **3.2.3. Spektroskopik Karakterizasyon**

#### **3.2.3.1. FTIR, SEM, TGA**

Hidrojellerin yapısal karakterizasyonu Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) ile, yüzey morfolojilerinin analizi taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ile ve

hidrojellerin ısıya karşı dayanıklılıkları ise TGA (Termogravimetrik Analiz) ile yapıldı.

#### 3.2.4. Adsorpsiyon Çalışmalarının Optimizasyonu

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların BSA bağlama kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla adsorpsiyon koşulları optimize edildi. Bu amaçla temas süresi, pH, sıcaklık ve protein konsantrasyonu parametrelerinin etkisi incelendi. Bradford yöntemine göre spektrofotometrik olarak 595 nm’de alınan ölçümler ile protein tayini yapıldı. Hidrojel boncuklar üzerine adsorbe edilen protein miktarı denklem 1’e göre hesaplandı [69].

$$q_e = \frac{(C_o - C_e) \times V}{m} \quad (1)$$

m(g): Kullanılan hidrojel miktarı

C<sub>o</sub> (mg/mL): Başlangıç protein konsantrasyonu

C<sub>e</sub> (mg/mL): Üst faz (adsorbe olmayan) protein konsantrasyonu

V (mL): Protein çözeltisinin hacmi

##### 3.2.4.1. Temas Süresinin Etkisi

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine maksimum proteinin bağlandığı süreyi belirlemek için 30-180 dakika aralığında çalışıldı. 10 mg hidrojel boncuk üzerine 0,25 mg/mL BSA çözeltisi (25 mL) eklendi. 25°C’ de yatay karıştırıcıda 30-60-90-120-180 dakikada ölçümler alınarak bağlanan protein miktarı hesaplandı ve optimum adsorpsiyon süresi belirlendi.

##### 3.2.4.2. pH Etkisi

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel üzerine BSA’nın maksimum bağlandığı pH değerinin belirlemesi için farklı pH değerlerinde hazırlanan tampon çözelti (0,025 M pH: 4.0-5.5 asetat tamponu; 0,025 M pH: 6.5-7.0 fosfat tamponu) kullanıldı. Farklı pH’larda hazırlanan 0,25 mg/mL BSA çözeltisi (25 mL) hidrojel boncuklar (10 mg) üzerine eklendi. Optimize edilen süre sonunda (120 dk) her bir pH değerinde bağlanan protein miktarı hesaplandı ve BSA’nın maksimum bağlandığı pH değeri bulundu.

#### **3.2.4.3. Sıcaklık etkisi**

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine proteinin maksimum miktarda bağlandığı sıcaklık değerini belirlemek için optimum pH (pH 5.5) ve sürede (120 dk) çalışıldı. 0,25 mg/L BSA çözeltisi 10 mg hidrojel boncuklar üzerine eklenerek farklı sıcaklık değerlerinde (25-35-45 °C) karıştırılarak bekletildi. Hidrojeller üzerine bağlanan protein miktarı hesaplanarak BSA'nın maksimum miktarda bağlanması için optimum sıcaklık değeri bulundu.

#### **3.2.4.4. BSA Konsantrasyonunun Etkisi**

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların maksimum BSA bağlama kapasitesinin belirlenmesi için optimize edilmiş süre, pH ve sıcaklık değerlerinde (120 dk, pH 5.5, 25°C) BSA konsantrasyonunun etkisi incelendi. Bunun için 0,10- 0,40 mg/mL aralığında hazırlanan BSA çözeltileri (25 mL) hidrojel boncuklar (10 mg) üzerine eklenerek adsorpsiyon gerçekleştirildi. Hidrojeller üzerine bağlanan protein miktarı üzerinden, optimize koşullar altında boncukların maksimum BSA bağlama kapasiteleri bulundu.

#### **3.2.5. Adsorpsiyon İzotermi**

Adsorpsiyon izotermi açıklamak için en çok kullanılan eşitlikler Langmuir ve Freundlich eşitlikleridir. Bu eşitlikler adsorbent yüzey özellikleri hakkında bilgi verir [70].

##### **3.2.5.1. Langmuir İzotermi**

Langmuir izotermi; adsorbent yüzeyinin tamamen aynı olduğunu ve adsorbent yüzeyindeki adsorpsiyonun homojen olduğunu kabul etmektedir.  $C_e/q_e$ 'nin  $C_e$ 'ye karşı grafiğe geçirilmesiyle oluşan denklem 2'de, grafiğin eğimi  $1/Q_{max}$ 'ı vermektedir (Şekil 17,18). Langmuir izotermi eşitliğinde  $q_e$ : Denge anında birim kütle başına adsorplanan protein miktarı (mg/g),  $C_e$ : Çözeltideki proteinin denge derişimi (mg/mL),  $Q_{max}$ : Maksimum protein adsorpsiyon kapasitesi (mg/g),  $K_L$ : Langmuir sabitidir (mL/mg) [69].

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Q_{\max} \cdot K_L} + \frac{C_e}{Q_{\max}} \quad (2)$$

Adsorpsiyonun elverişli olduğunu anlamak için aşağıdaki formülden  $R_L$  değeri hesaplanır. Denklem 3'e göre  $C_o$  maddenin çözeltideki başlangıç konsantrasyonu (mg/mL) ve  $K_L$  langmuir sabitidir (mL/mg) ve bu sabitin 0 ile 1 arasında olması adsorpsiyonun elverişli olduğunu gösterir (Tablo 1) [69].

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_o} \quad (3)$$

**Tablo 1.**  $R_L$  değerleri ve izoterm tipleri

| <b><math>R_L</math> Değerleri</b> | <b>İzoterm Tipi</b> |
|-----------------------------------|---------------------|
| $R_L > 1$                         | Elverişli Olmayan   |
| $R_L = 1$                         | Lineer              |
| $0 < R_L < 1$                     | Elverişli           |
| $R_L = 0$                         | Tersinmez           |

### 3.2.5.2. Freundlich İzotermi

Freundlich izotermininde ise adsorbent yüzeyindeki adsorpsiyonun homojen olmadığını açıklamaktadır [69].  $\log q_e$ 'nin  $\log C_e$ 'ye karşı grafiğe geçirilmesiyle oluşan denklem 4'de, y ekseninin kesim noktası  $\log K_F$ 'yi ve eğimi de  $1/n$ 'i vermektedir (Şekil 19,20). Freundlich izotermi eşitliğinde  $q_e$ : Denge anında birim kütle başına adsorplanan protein miktarı (mg/g),  $C_e$ : Çözeltideki proteinin denge derişimi (mg/mL),  $n$ : Adsorpsiyon şiddeti,  $K_F$ : Freundlich sabitidir (mg/g) [71]

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (4)$$

### 3.2.6. Adsorpsiyon Kinetiği

Adsorpsiyon kinetik çalışmaları adsorbent yüzeyine göç eden ve adsorplanan maddenin dengeye gelene kadar ki süreçteki mekanizmayı anlamamızı sağlamaktadır [69].

### 3.2.6.1. Yalancı Birinci Mertebe Kinetiği

Yalancı Birinci Mertebe Kinetiği eşitliğinde adsorpsiyon hızının zamana ve adsorpsiyon kapasitesine bağlı olmadığını açıklamaktadır [72].

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{K_1}{2,303} t \quad (5)$$

Yalancı birinci mertebe kinetiği denklemi 5’de  $q_e$ : adsorbanın denge durumundaki adsorpsiyon kapasitesidir (mg/g),  $q_t$ : adsorbanın  $t$  zamanındaki adsorpsiyon kapasitesidir (mg/g),  $K_1$ : yalancı ikinci dereceden adsorpsiyon için hız sabitidir [70].

### 3.2.6.2. Yalancı İkinci Mertebe Kinetiği

Yalancı ikinci mertebe kinetiği eşitliğinde adsorpsiyon hızının zamana ve adsorpsiyon kapasitesine bağlı olduğunu açıklamaktadır. Yalancı ikinci mertebe kinetiği denklemi 6’da  $q_e$ : adsorbanın denge durumundaki adsorpsiyon kapasitesidir (mg/g),  $q_t$ : adsorbanın  $t$  zamanındaki adsorpsiyon kapasitesidir (mg/g),  $K_2$ : yalancı ikinci mertebe adsorpsiyon için hız sabitidir (g/mg.dk<sup>-1</sup>) [73].

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{K_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (6)$$

### 3.2.6.3. Parçacık İçi Difüzyon Etkisi

Parçacık İçi Difüzyon Etkisi adsorbatın, adsorbentin gözeneklerine doğru ilerlemesini açıklamaktadır. Parçacık içi difüzyon etkisinde  $t^{0,5}$  karşılık  $q_t$ (mg/g) değerlerinin grafiğe geçirilmesiyle bulunur [74].

$$K_p = \frac{q_t}{t^{0,5}} \quad (7)$$

Parçacık içi difüzyon etkisi denklemi 7’de  $q_t$ : adsorbanın  $t$  zamanındaki adsorpsiyon kapasitesidir (mg/g),  $K_p$ : yalancı birinci dereceden adsorpsiyon için hız sabitidir (mg/g.dk<sup>0,5</sup>) [74].

### 3.2.7. Adsorpsiyon Termodinamiği

Adsorpsiyon termodinamiğini Standart serbest enerji değişimi ( $\Delta G$ ), entalpi değişimi ( $\Delta H$ ) ve entropi değişimi ( $\Delta S$ ) gibi termodinamik parametreler belirlemektedir.  $\Delta G$  değerlerinin negatif olması ise adsorpsiyonun kendiliğinden gerçekleştiğini göstermektedir. Entalpinin pozitif olması endotermik tepkime olduğunu, entalpinin negatif olması ise egzotermik tepkime olduğunu göstermektedir [70].

$$\ln K_c = \frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{R} \times \frac{1}{T} \quad (8)$$

Adsorpsiyon termodinamiği denklemi 8’de  $\ln K_c$ ’nin  $1/T$  değerine karşı grafiğe geçirilmesiyle grafik oluşturulmaktadır (Şekil26,27). Elde edilen grafiğin denkleminde  $\Delta H$  (entalpi değişimi) ve  $\Delta S$  (entropi değişimi) değerleri bulunmaktadır [75].

$$K_c = \frac{C_a}{C_e} \quad (9)$$

$$\Delta G = -RT \ln K_c \quad (10)$$

Adsorpsiyon termodinamiği denklemi 9 ve 10’da  $K_c$ : Denge sabiti,  $C_a$  (mg/mL): Adsorbe edilen protein konsantrasyonu,  $C_e$  (mg/mL): Çözeltide kalan protein konsantrasyonu,  $\Delta G$ (J/mol): Gibbs serbest enerji değişimi,  $R$ = Gaz sabiti (8,314 J/molK),  $T$  (Kelvin): Mutlak sıcaklıktır [76].

### 3.2.8. Şişme Testi

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların farklı pH ortamlarında şişme testi yapıldı. Belirli zaman aralıklarında (30-60-90-120-150-180 dk) tampon çözelti içerisinde alınan hidrojel boncuklar dikkatli bir şekilde süzgeç kağıdı ile kurulandıktan sonra tartıldı.  $M_t$  (mg):  $t$  süre sonundaki şişmiş hidrojin kütlesinden  $M_o$  (mg): başlangıçtaki kuru hidrojin kütlesi çıkarılarak denklem 11’e göre % şişme değeri belirlenmiştir [77].

$$\% \text{ Şişme } (\%S) = \frac{M_t - M_o}{M_o} \times 100 \quad (11)$$

### 3.2.9. Tekrar Kullanılabilirlik Testi

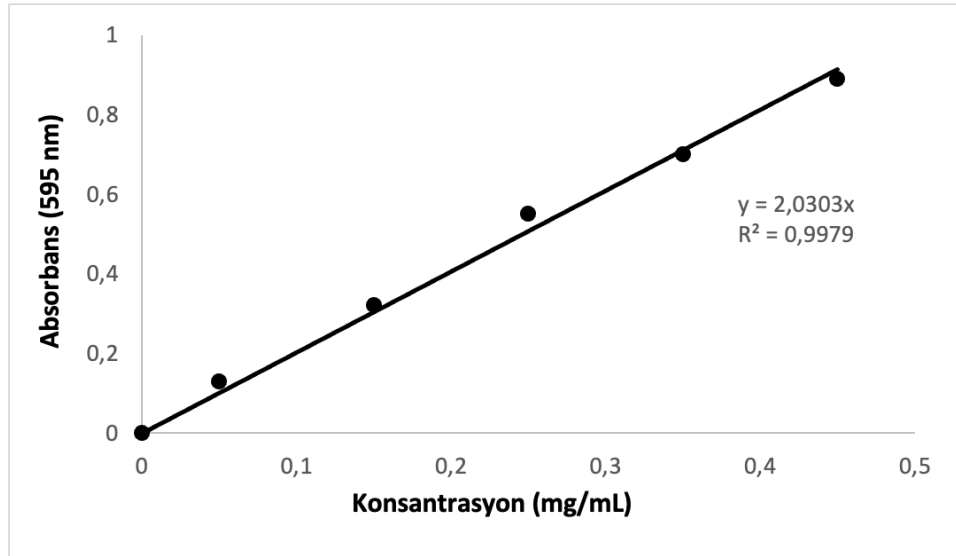
Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojellerin tekrar kullanılabilirliklerini test etmek için aynı hidrojeller kullanılarak optimum koşullarda (120 dk temas süresinde, pH 5.5 asetat tamponunda, 25°C ve 0,25 mg/mL BSA konsantrasyonunda) 5 kez protein adsorpsiyon-desorpsiyon çalışmaları yapıldı. BSA'nın desorpsiyonu için hidrojel boncuklar önce 0,025 M pH 8 TRIS tamponunda 2 saat bekletildi sonrasında liyofilize edildi. Bradford yöntemine göre protein miktarı tespit edildi.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Protein Standart Grafiği

#### 4.1.1. Protein Standart Grafiğinin Oluşturulması

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorbe olan BSA miktarının hesaplanması için Bradford yöntemine göre standart eğrisi oluşturuldu. Bu amaçla 0,05-0,45 mg/mL arasında BSA'nın standart protein çözeltileri hazırlandı ve standart protein eğrisi oluşturuldu (Şekil 11).

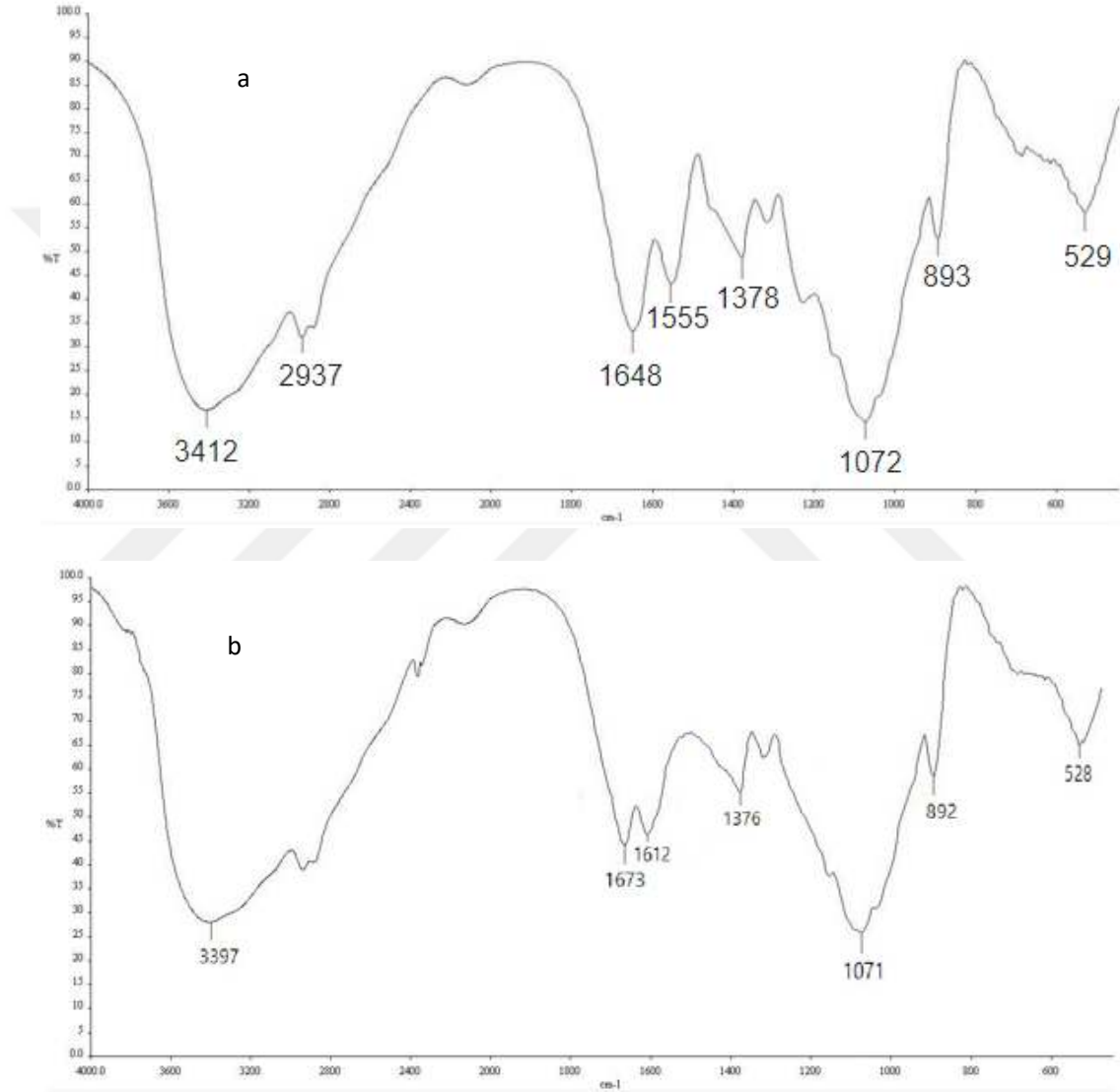


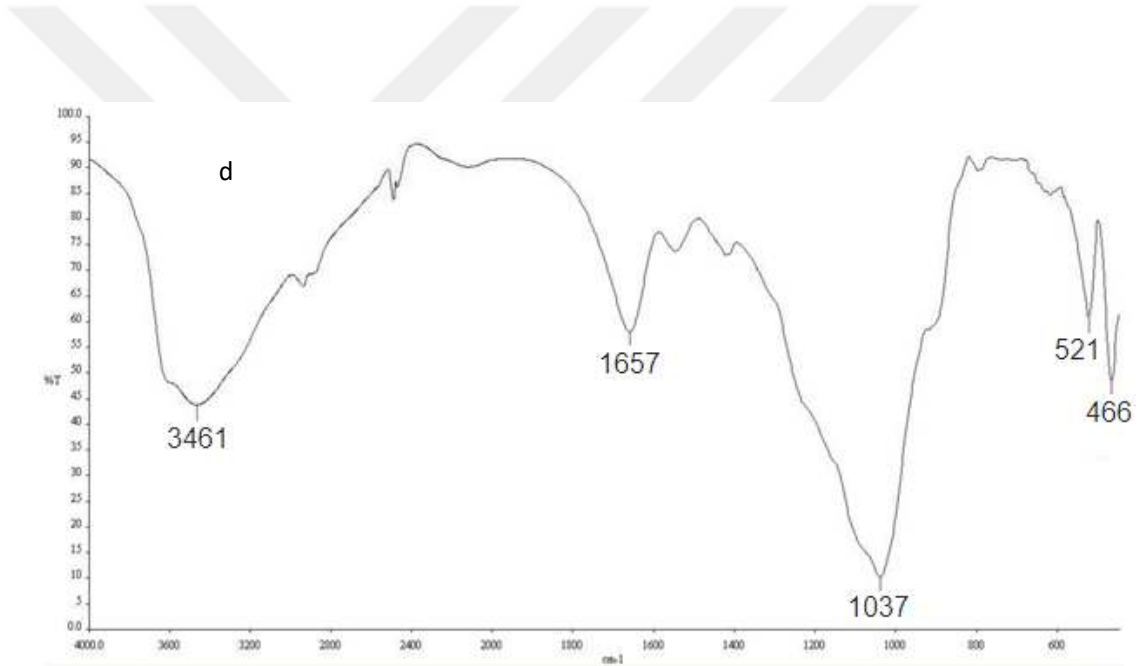
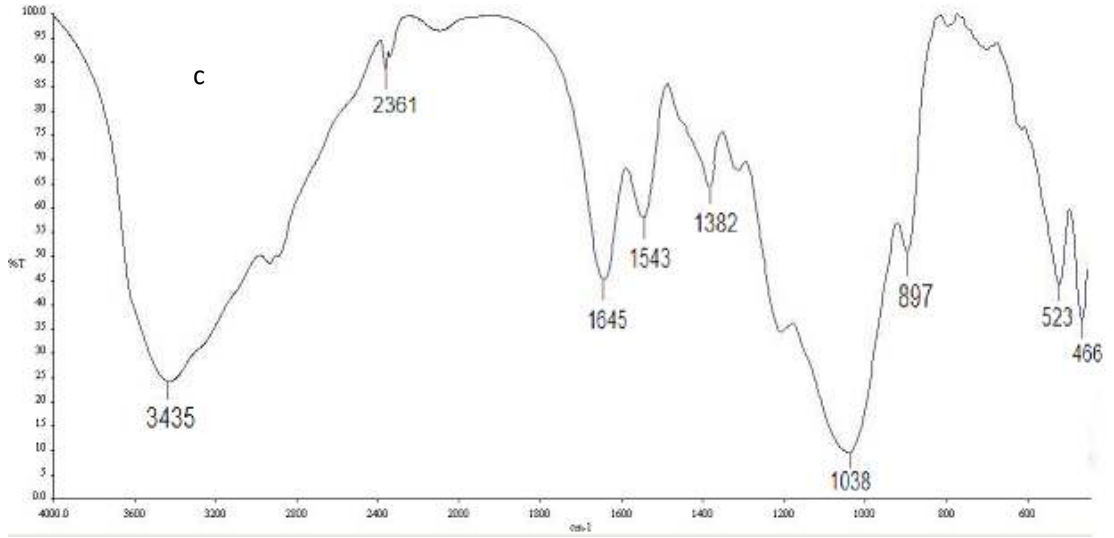
Şekil 11. Bradford yöntemine göre oluşturulan protein standart grafiği

## 4.2. Spektroskopik Karakterizasyon

### 4.2.1. Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopi Analizi (FTIR)

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklarının FTIR spektrumları 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  aralığında alındı. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklarının FTIR spektrumları Şekil 12’de verildi.





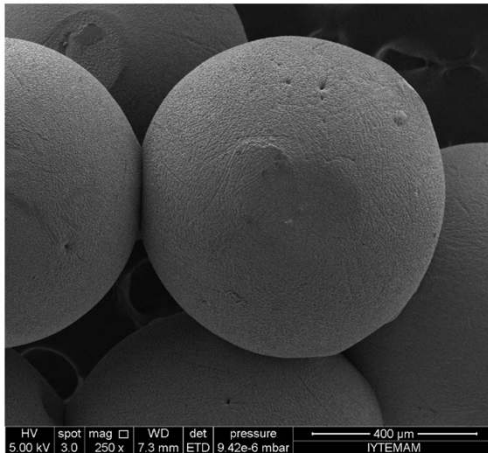
**Şekil 12.** Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel­lerin FTIR spektrumları

a) Kitosan, b) GLA-kitosan, c) kitosan-kil d) GLA-kitosan-kil

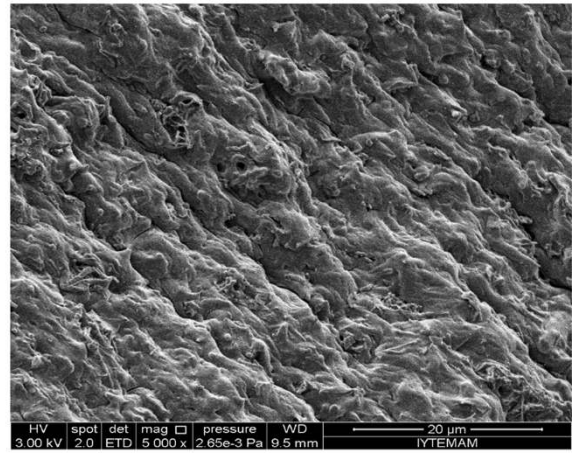
Şekil 12’de kitosan ve GLA-kitosanda görüldüğü gibi,  $3412\text{ cm}^{-1}$  ve  $3397\text{ cm}^{-1}$  piki -OH grubunu temsil eder. Polimer omurgasının C-H gerilme titreşimi  $2935\text{ cm}^{-1}$  civarındaki pikler aracılığıyla kendini gösterir. C-O’nun gerilme titreşimleri kitosan, GLA-kitosanda görüldüğü gibi sırasıyla  $1072\text{ cm}^{-1}$ ,  $1071\text{ cm}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Kitosanda görülen (C-N) işlevselliğine karşılık gelen  $1250\text{ cm}^{-1}$  civarındaki pik, GLA-kitosanda GLA ve (C-N) gruplarının bağlanma etkileşiminin bir sonucu olarak çapraz

bağlanma sonrasında kaybolmuştur. Kitosan-kil ve GLA-kitosanda-kil görüldüğü gibi,  $3435\text{ cm}^{-1}$  ve  $3461\text{ cm}^{-1}$  piki -OH grubuna temsil eder. C-O'nun gerilme titreşimleri kitosan-kil, GLA-kitosan-kil görüldüğü gibi sırasıyla  $1038\text{ cm}^{-1}$  ve  $1037\text{ cm}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Kitosan-kil ve GLA-kitosan-kilde,  $600\text{--}400\text{ cm}^{-1}$  arasındaki pikler Si-O gerilmesi ve Al-O gerilmesi ile ilişkilendirilebilir. Kitosan-kilde görülen (C-N) işlevselliğine karşılık gelen  $1250\text{ cm}^{-1}$  civarındaki pik, GLA-kitosan-kilde GLA ve (C-N) gruplarının bağlanma etkileşiminin bir sonucu olarak çapraz bağlanma sonrasında kaybolmuştur.

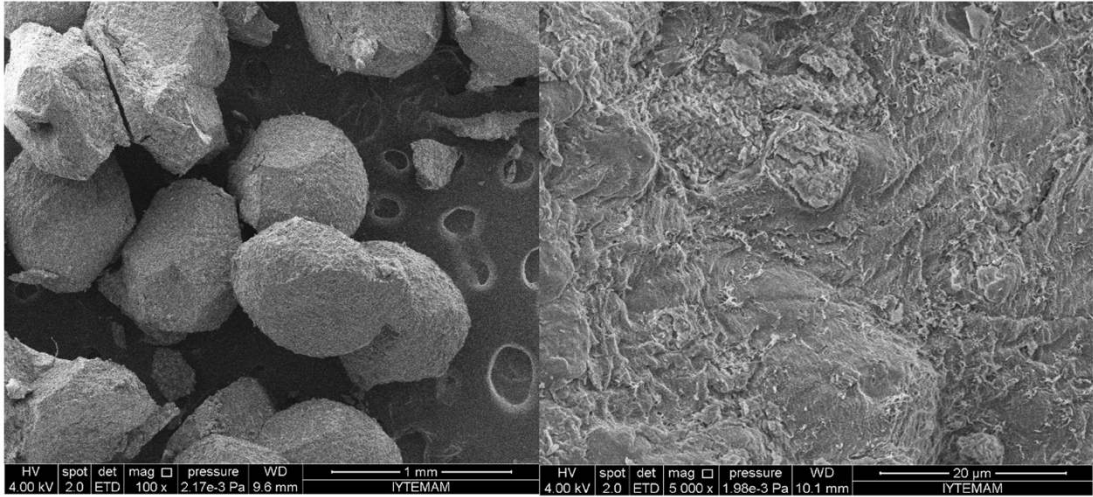
#### 4.2.2. SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) Analizi



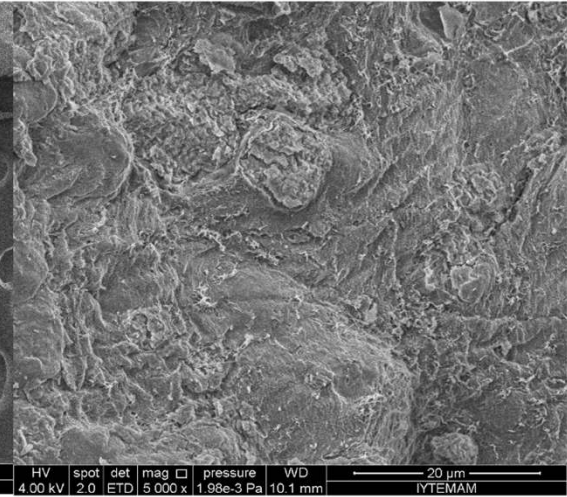
a



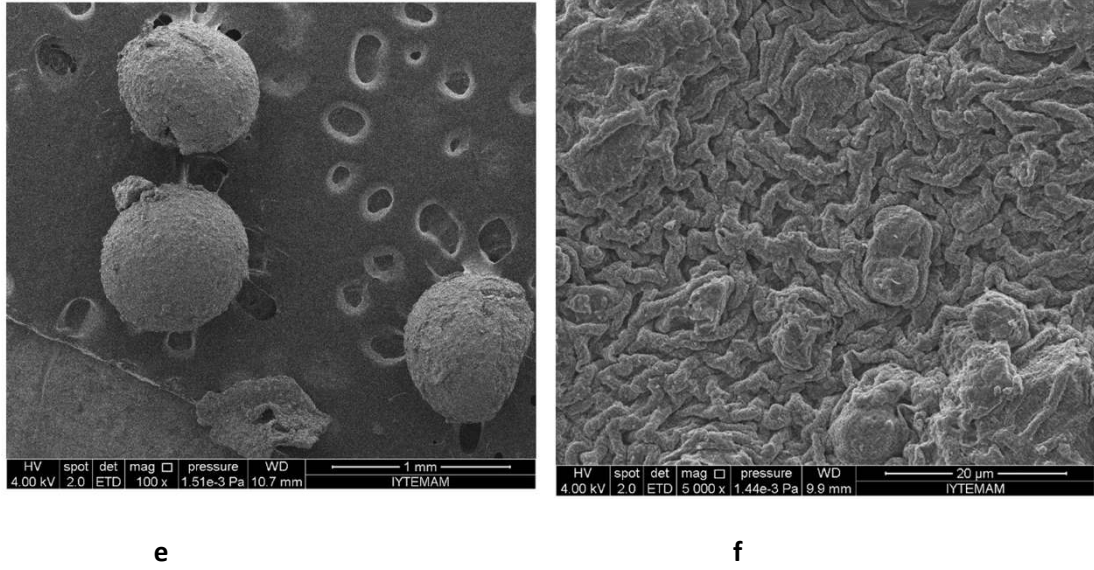
b



c



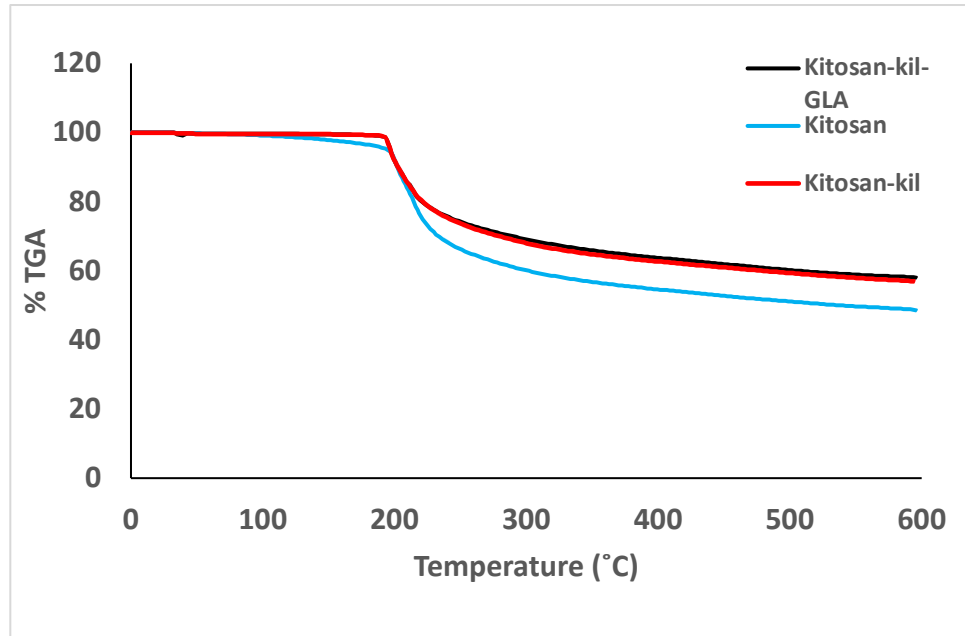
d



**Şekil 13.** Kitosan hidrojel a) 100x b) 5000x, kitosan-kil hidrojel c) 100x d) 5000x, GLA-Kitosan-kil hidrojel e) 100x f) 5000x büyütme sonrası SEM görüntüleri

Şekil 13’de kitosan boncuklarda daha pürüzsüz bir yapı görülürken kitosan-kil boncuklarda daha pürüzlü bir yapı görülmüştür. GLA-kitosan-kil boncuklarda boncukların boyutlarının küçüldüğü ve daha sıkı bir yapı oluştuğu görülmüştür.

#### 4.2.3. TGA (Termogravimetrik Analiz)



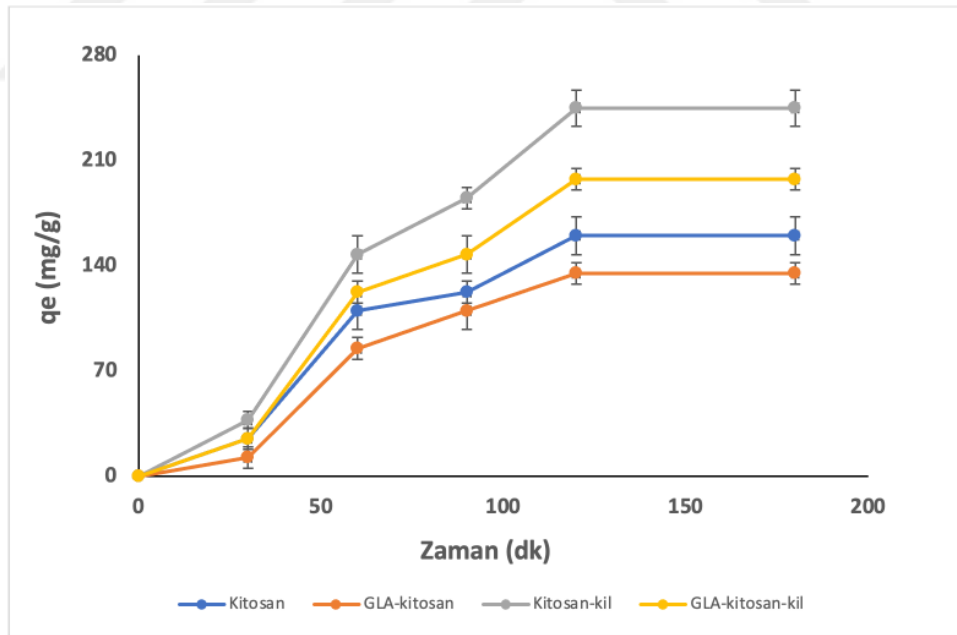
**Şekil 14.** Kitosan, kitosan-kil, GLA-Kitosan-kil hidrojelinin TGA analizi

Şekil 14’de kitosan, Kitosan-kil ve GLA-Kitosan-kil boncukların TGA incelemesi yapılırken iki basamakta gerçekleştiği görülmektedir. TGA incelemesi sonucunda kitosan-kil boncuklar %44, GLA-kitosan-kil boncuklar %43 ve kitosan boncuklar ise %52 kütle kaybına uğramıştır. Kitosanın kütle kaybının killi boncuklara göre daha fazla olduğu görülmüştür.

### 4.3 Kitosan, GLA-Kitosan, Kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil Hidrojel Boncuklar Üzerine BSA’nın Adsorpsiyon Çalışmalarının Optimizasyonu

#### 4.3.1. Sürenin Etkisi

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine proteinin maksimum miktarda bağlandığı süre 120 dakika olarak belirlendi. Şekil 15’de 30. dakikadan sonra adsorpsiyonun yükseldiği ve 120 dakikada adsorpsiyonun dengeye geldiği görülmektedir. Kitosan-kil hidrojel boncukların BSA adsorpsiyonu diğer hidrojel boncuklara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. En düşük BSA adsorpsiyonu ise GLA-kitosan hidrojel boncuklarda görülmüştür.



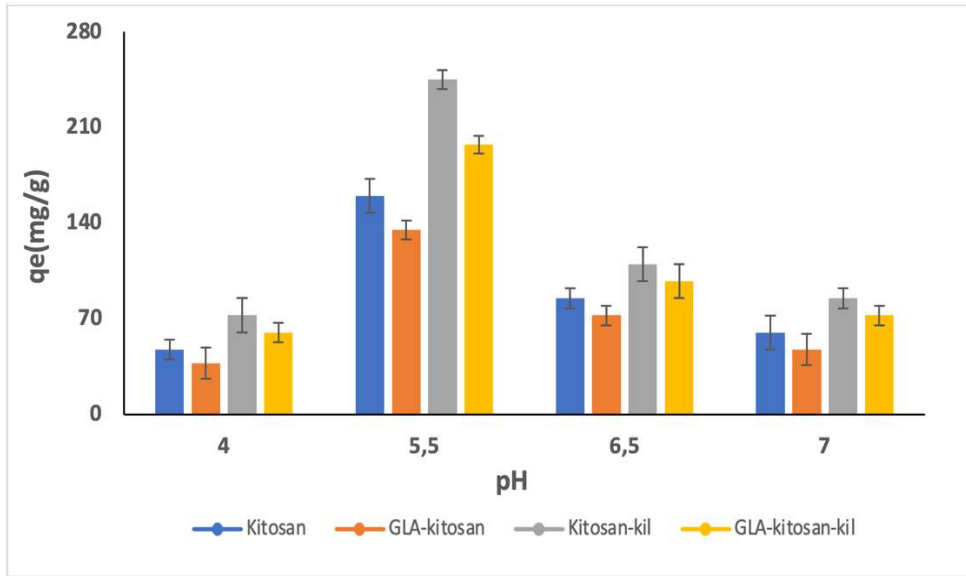
Şekil 15. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine BSA adsorpsiyonunda sürenin etkisi

Yapılan literatür araştırmasında, Mahdavinia ve ark. manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojeller sentezlemişlerdir ve BSA adsorpsiyonunda sürenin

etkisini incelemişlerdir. Manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojel ile yaptıkları çalışmalar sonucunda, BSA'nın optimum bağlanması için gereken süreyi 60 dakika olarak bulmuşlardır [78].

#### 4.3.2. pH Etkisi

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel üzerine proteinin maksimum bağlandığı pH sını belirlemek için farklı pH değerlerinde adsorpsiyon çalışması yapıldı. Protein adsorpsiyonu sonuçlarına göre hidrojel boncuklar için en yüksek BSA adsorpsiyonu pH 5.5 asetat tamponunda görüldü (Şekil 16). Sonuçlara göre kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların pH 5.5 asetat tamponunda qe değerleri 160 mg/g, 135 mg/g, 245 mg/g ve 197 mg/g olarak bulundu. Kitosanın asit ayrışma sabiti (pKa) 6.5 ve BSA'nın izoelektrik noktası (pI) 4.7'dir. Bu nedenle pH 5.5 değerinde gözlenen daha yüksek BSA adsorpsiyonu, protonlanmış kitosan amino grupları ile BSA arasındaki maksimum elektrostatik etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. GLA ile çapraz bağlamanın hidrojellerin gözeneklerini sıkılaştırdığı bu nedenle de çapraz bağlı hidrojel boncuklarda çapraz bağlı olmayanlara göre BSA adsorpsiyonun daha düşük kaldığı görüldü.



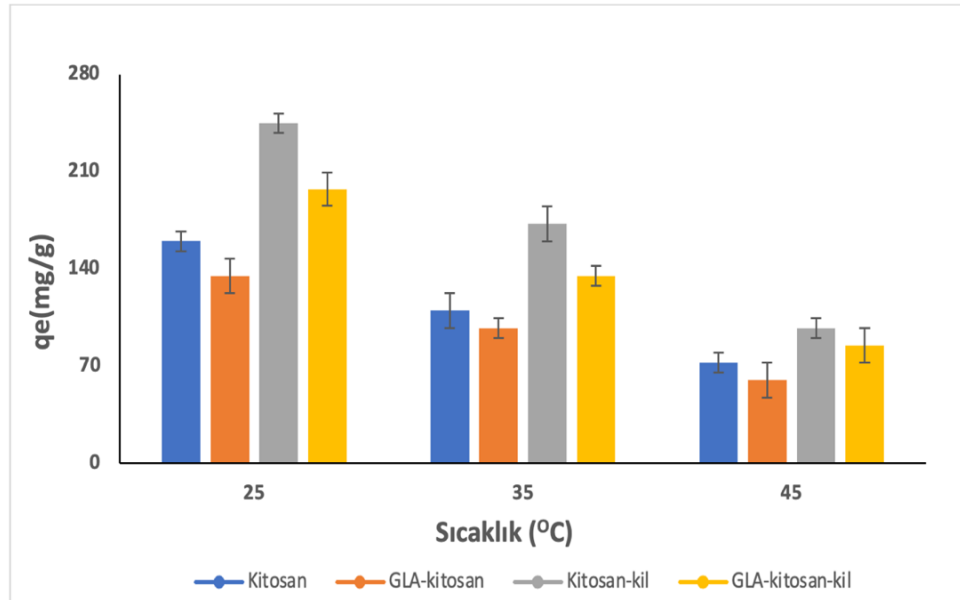
**Şekil 16.** Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine BSA adsorpsiyonunda pH'nın etkisi

Yapılan literatür araştırmalarında, Mondal ve ark. kitosan hidrojel boncukları ve çağraz bağlı kitosan hidrojel boncukları sentezlemişlerdir ve BSA adsorpsiyonunda pH'nın etkisini incelemişlerdir. Kitosan hidrojel boncukları ve çağraz bağlı kitosan hidrojel boncukları ile yaptıkları çalışmalar sonucunda, BSA'nın en yüksek bağlandığı pH değerini 5.5 olarak bulmuşlardır [79].

Mahdavinia ve ark. manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojeller sentezlemişlerdir ve BSA adsorpsiyonunda pH'nın etkisini incelemişlerdir. Manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojeller ile yaptıkları çalışmalar sonucunda, BSA'nın en yüksek bağlandığı pH değerini 5 olarak bulmuşlardır [78].

#### 4.3.3. Sıcaklık Etkisi

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine proteinin maksimum bağlandığı sıcaklığı belirlemek için farklı sıcaklık değerlerinde (25-35-45°C) adsorpsiyon çalışması yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar için en yüksek BSA adsorpsiyonu 25°C'de görüldü (Şekil 17). Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların 25°C'de BSA adsorpsiyon kapasiteleri (qe değerleri) sırasıyla 160 mg/g, 135 mg/g, 245 mg/g ve 197 mg/g olarak bulundu.

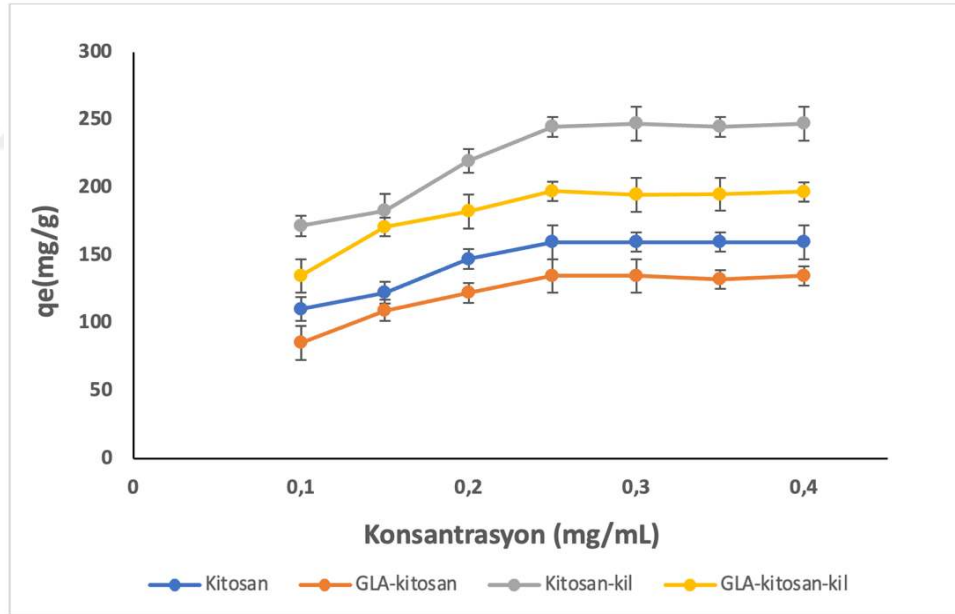


**Şekil 17.** Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine BSA adsorpsiyonunda sıcaklığın etkisi

Yapılan literatür araştırmasında Murguía-Flores ve ark. kitosan-aljinat membranı sentezlemişlerdir. Sentezledikleri kitosan-aljinat membranının 30 °C’de BSA adsorpsiyonunun özelliklerini incelemişler ve termodinamik parametreleri hesaplamışlardır [80].

#### 4.3.4. BSA Konsantrasyonunun Etkisi

Protein konsantrasyonunun etkisini incelemek amacıyla, kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklara (10 mg) 0,025M pH 5,5 asetat tamponunda 0,10-0,40 mg/mL arasında hazırlanan enzim çözeltileri (25 mL) eklenerek adsorpsiyon kapasitesi belirlendi. Sonuçlara göre 0,25 mg/mL protein çözeltisi kullanıldığında kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller boncukların maksimum adsorpsiyon kapasitesine ulaşıldığı görüldü. (Şekil 18). Sonuçlara göre kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların qe değerleri 160 mg/g, 135 mg/g, 245 mg/g ve 197 mg/g olarak bulundu.



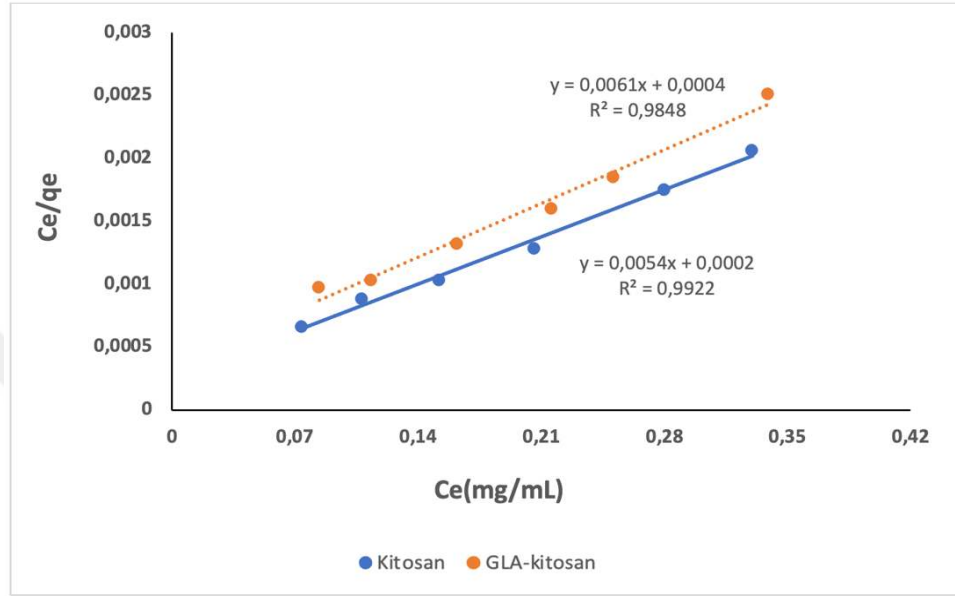
**Şekil 18.** Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine BSA adsorpsiyonunda konsantrasyonun etkisi

Yapılan literatür araştırmasında Mahdavinia ve ark. manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojeller sentezlemişlerdir ve BSA adsorpsiyonunda BSA konsantrasyonunun etkisini incelemişlerdir. Manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojeller

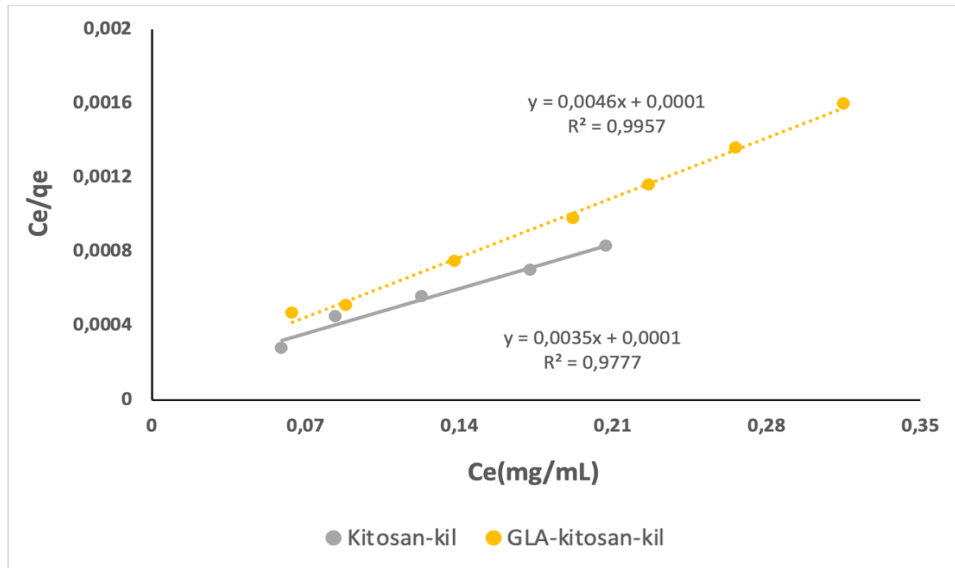
ile yaptıkları çalışmalar sonucunda, BSA'nın en yüksek bağlandığı konsantrasyon değerini 0,1 mg/mL olarak bulmuşlardır [78].

#### 4.4. Adsorpsiyon İzotermi

##### 4.4.1. Langmuir İzotermi Grafikleri



Şekil 19. BSA'nın kitosan ve GLA-kitosan hidrojelere üzerine adsorpsiyonuna ait Langmuir izoterm grafiği



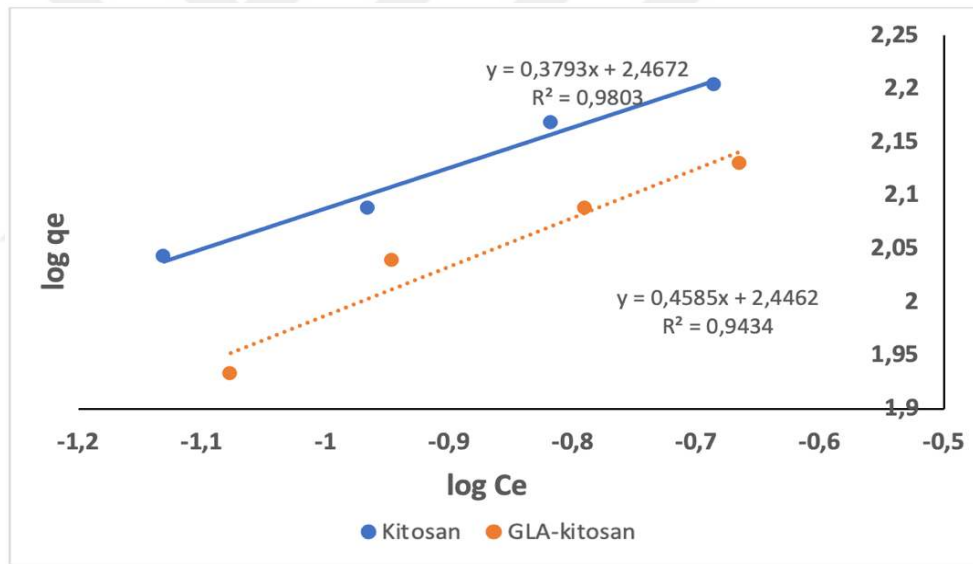
Şekil 20. BSA'nın kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojelere üzerine adsorpsiyonuna ait Langmuir izoterm grafiği

**Tablo 2.** BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait  $R_L$  (dağılma) sabiti değerleri

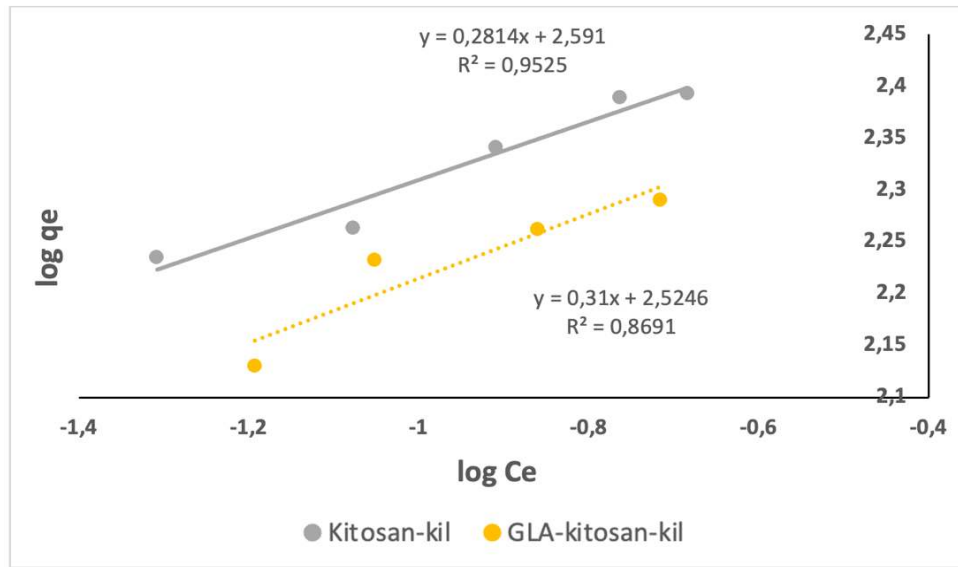
|                        | $R_L$ |
|------------------------|-------|
| <b>Kitosan</b>         | 0,120 |
| <b>GLA-kitosan</b>     | 0,198 |
| <b>Kitosan-kil</b>     | 0,088 |
| <b>GLA-kitosan-kil</b> | 0,076 |

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların  $R_L$  dağılma sabiti değerlerinin  $0 < R_L < 1$  aralığında olduğu ve izotermin elverişli olduğu görülmektedir (Tablo 2).

#### 4.4.2. Freundlich İzotermi Grafikleri



**Şekil 21.** BSA'nın kitosan ve GLA-kitosan hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait Freundlich izoterm grafiği



**Şekil 22.** BSA'nın kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait Freundlich izoterm grafiği

**Tablo 3.** BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait Langmuir ve Freundlich izoterm parametreleri

|                        | Langmuir Adsorpsiyon İzotermi |                           |                | Freundlich Adsorpsiyon İzotermi |      |                |
|------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------|---------------------------------|------|----------------|
|                        | Q <sub>max</sub><br>(mg/g)    | K <sub>L</sub><br>(mL/mg) | R <sup>2</sup> | K <sub>F</sub><br>(mg/g)        | n    | R <sup>2</sup> |
| <b>Kitosan</b>         | 185,15                        | 27,02                     | 0,9922         | 288,4                           | 2,64 | 0,9803         |
| <b>GLA-kitosan</b>     | 163,93                        | 15,33                     | 0,9848         | 279,3                           | 2,18 | 0,9434         |
| <b>Kitosan-kil</b>     | 285,71                        | 38,75                     | 0,9777         | 389,94                          | 3,55 | 0,9525         |
| <b>GLA-kitosan-kil</b> | 217,3                         | 45,04                     | 0,9957         | 334,6                           | 3,22 | 0,8691         |

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine BSA'nın adsorpsiyonuna ilişkin Langmuir ve Freundlich izoterm parametreleri hesaplandı (Tablo 3). Elde edilen sonuçlara göre 'n' değerleri kitosan için 2,64 GLA-kitosan için 2,18 kitosan-kil için 3,55 ve GLA-kitosan-kil için ise 3,22

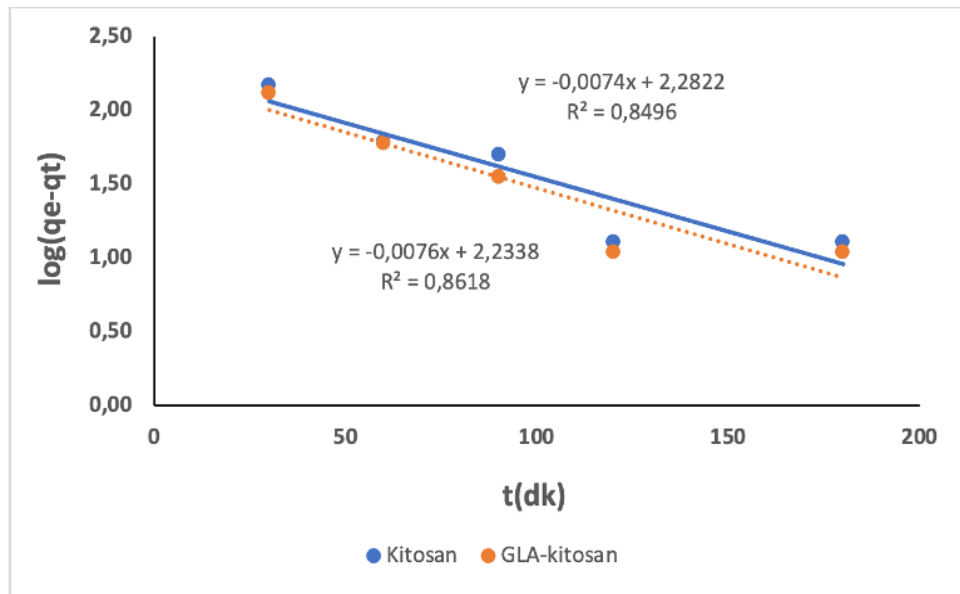
olarak bulunmuştur. Elde edilen verilere göre 'n' değerlerinin 1'den büyük olması adsorpsiyon işleminin elverişli olduğunu gösterir. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların Langmuir  $R^2$  değerinin Freundlich  $R^2$  değerinden daha büyük olması nedeniyle Langmuir izotermine uygun olduğu görülmüştür (Şekil 19, Şekil 20, Şekil 21 ve Şekil 22).

Yapılan literatür araştırmalarında Mondal ve ark. kitosan hidrojel boncukları ve çagraz bağı kitosan hidrojel boncukları sentezlemişlerdir ve hidrojel boncukların BSA adsorpsiyonunun özelliklerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmalar sonucunda, kitosan hidrojel boncukların ve çagraz bağı kitosan hidrojel boncukların Langmuir izotermine uygun olduğunu tespit etmişlerdir [79].

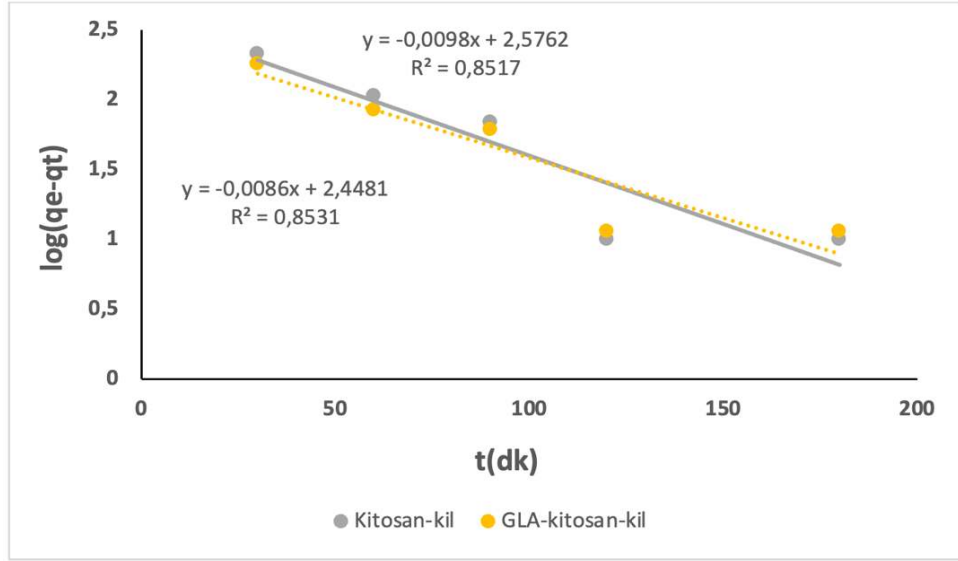
Mahdavinia ve ark. manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojeller sentezlemişlerdir ve hidrojellerin BSA adsorpsiyonunun özelliklerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmalar sonucunda, manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojellerin Langmuir izotermine uyduğunu tespit etmişlerdir [78].

#### 4.5. Adsorpsiyon Kinetiği

##### 4.5.1. Yalancı Birinci Mertebe Kinetik Grafikleri



**Şekil 23.** BSA'nın kitosan ve GLA-kitosan hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı birinci mertebe kinetik grafiği

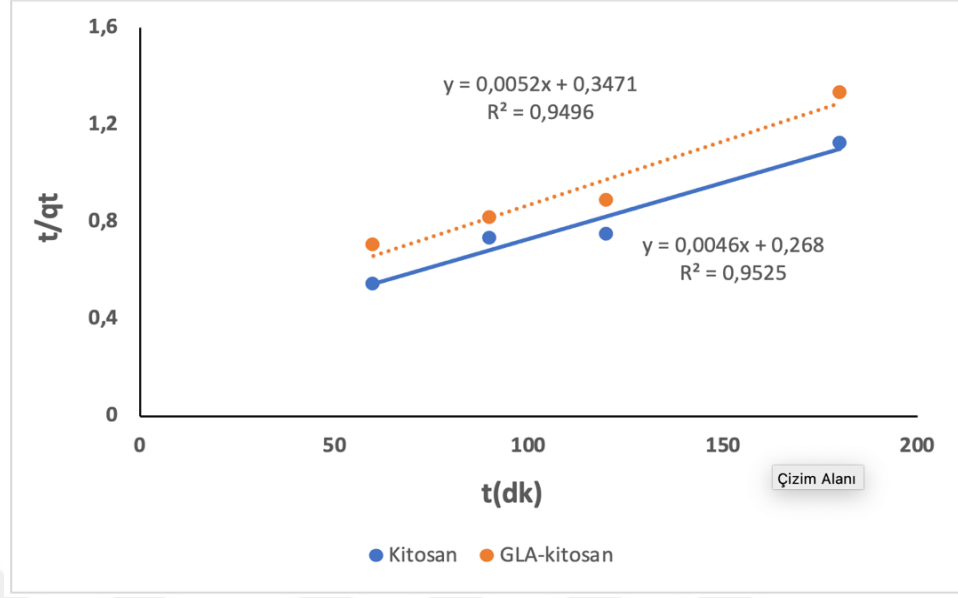


**Şekil 24.** BSA'nın kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı birinci merteye kinetik grafiği

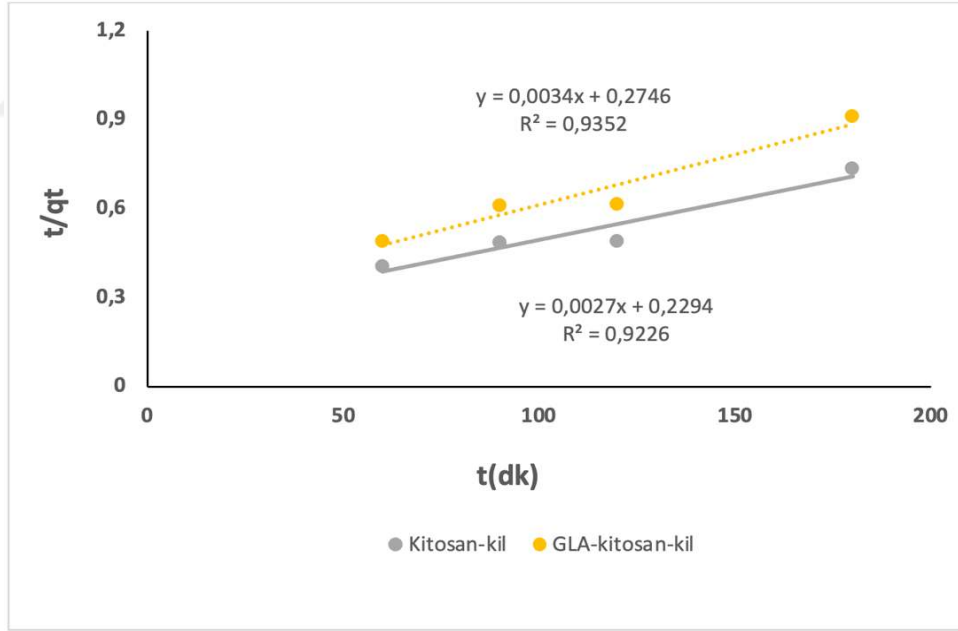
**Tablo 4.** BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı birinci merteye kinetik parametreleri

| Yalancı Birinci<br>Mertebe | $k_1$ (dk <sup>-1</sup> ) | qe (mg/g) | R <sup>2</sup> |
|----------------------------|---------------------------|-----------|----------------|
| <b>Kitosan</b>             | 0,0170                    | 191,5     | 0,8496         |
| <b>GLA-kitosan</b>         | 0,0175                    | 171,3     | 0,8618         |
| <b>Kitosan-kil</b>         | 0,0225                    | 376,8     | 0,8517         |
| <b>GLA-kitosan-kil</b>     | 0,0198                    | 280,6     | 0,8531         |

#### 4.5.2. Yalancı İkinci Mertebe Kinetik Grafikleri



Şekil 25. BSA'nın kitosan ve GLA-kitosan hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı ikinci mertebe kinetik grafiği

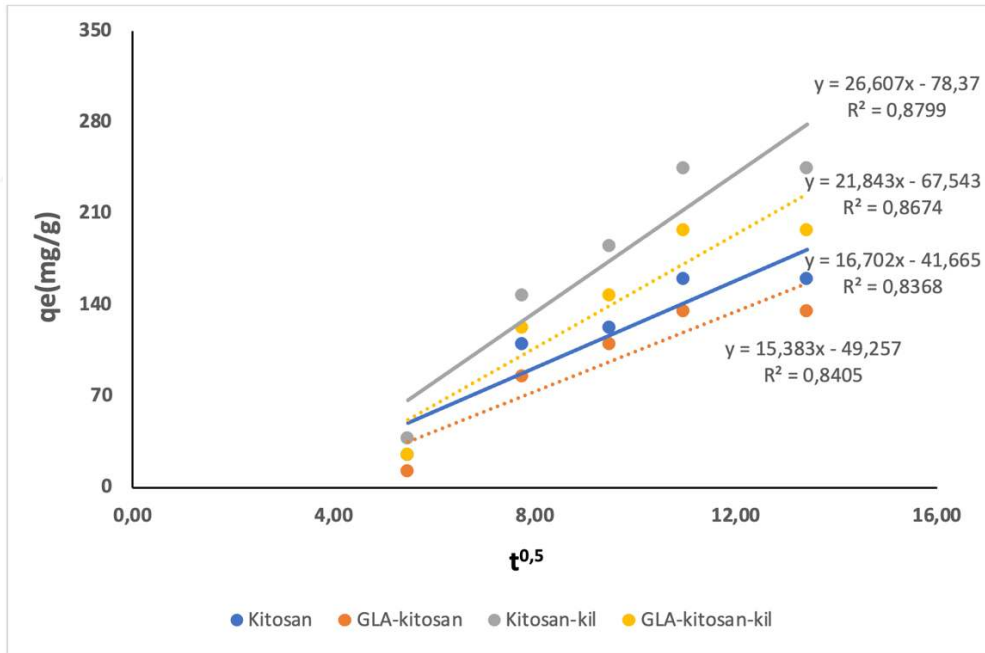


Şekil 26. BSA'nın kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı ikinci mertebe kinetik grafiği

**Tablo 5.** BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait yalancı ikinci mertebe kinetik parametreleri

| Yalancı İkinci Mertebe | $k_2$ (g/mg dk <sup>-1</sup> ) | $q_e$ (mg/g) | $R^2$  |
|------------------------|--------------------------------|--------------|--------|
| <b>Kitosan</b>         | $79 \times 10^{-6}$            | 217,3        | 0,9525 |
| <b>GLA-kitosan</b>     | $77 \times 10^{-6}$            | 192,3        | 0,9496 |
| <b>Kitosan-kil</b>     | $31 \times 10^{-6}$            | 370,3        | 0,9226 |
| <b>GLA-kitosan-kil</b> | $42 \times 10^{-6}$            | 294,1        | 0,9352 |

#### 4.6 Parçacık İçi Difüzyon Etkisi Grafiği



**Şekil 27.** BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait parçacık içi difüzyon etkisi grafiği

Parçacık içi difüzyon etkisi grafiğinde elde edilen düz çizgiler orjinden geçmemiştir (Şekil 27). Tablo 6'da görüldüğü gibi  $R^2$  değerlerinin 1'den uzak olduğu bu yüzden hidrojellerin üzerindeki tutunmanın yüzeyde gerçekleştiği ve parçacık içi difüzyonun etkili olmadığı görülmüştür.

**Tablo 6.** BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait parçacık içi difüzyon etkisi parametreleri

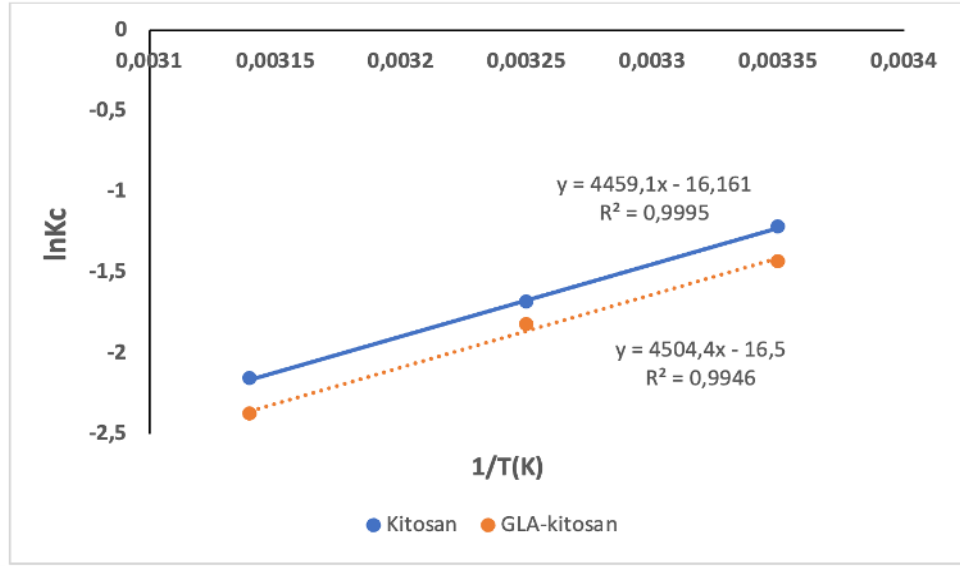
| Parçacık İçi Difüzyon Etkisi | $Kp(mg/g.dk^{0,5})$ | $R^2$  |
|------------------------------|---------------------|--------|
| <b>Kitosan</b>               | 16,702              | 0,8368 |
| <b>GLA-kitosan</b>           | 15,383              | 0,8405 |
| <b>Kitosan-kil</b>           | 26,607              | 0,8799 |
| <b>GLA-kitosan-kil</b>       | 21,843              | 0,8674 |

BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyon çalışmasında yalancı 2.mertebe  $R^2$  değerinin yalancı 1.mertebe  $R^2$  değerinden büyük olduğu (Şekil 23, Şekil 24, Şekil 25 ve Şekil 26) ve bu nedenle adsorpsiyon kinetiğinin yalancı ikinci mertebe kinetiğine uygun olduğu görülmüştür (Tablo 4 ve Tablo 5).

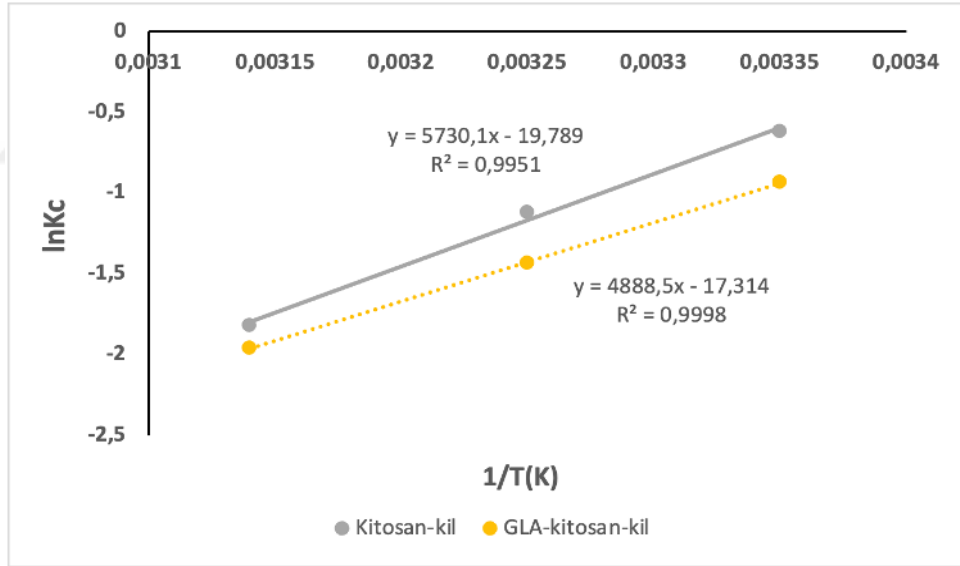
Yapılan literatür araştırmalarında, Mondal ve ark. kitosan hidrojel boncukları ve çağraz bağlı kitosan hidrojel boncukları sentezlemişlerdir ve hidrojel boncukların BSA adsorpsiyonunun özelliklerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmalar sonucunda, kitosan hidrojel boncukların ve çağraz bağlı kitosan hidrojel boncukların yalancı ikinci mertebe kinetiğine uygun olduğunu tespit etmişlerdir [79].

Mahdavinia ve ark. manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojeller sentezlemişlerdir ve hidrojellerin BSA adsorpsiyonunun özelliklerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmalar sonucunda, manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojellerin yalancı ikinci mertebe kinetiğine uygun olduğunu tespit etmişlerdir [78].

#### 4.7. Adsorpsiyon Termodinamiği



Şekil 28. BSA'nın kitosan ve GLA-kitosan hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait  $\ln K_c$ 'ye karşı  $1/T$  grafiği



Şekil 29. BSA'nın kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait  $\ln K_c$ 'ye karşı  $1/T$  grafiği

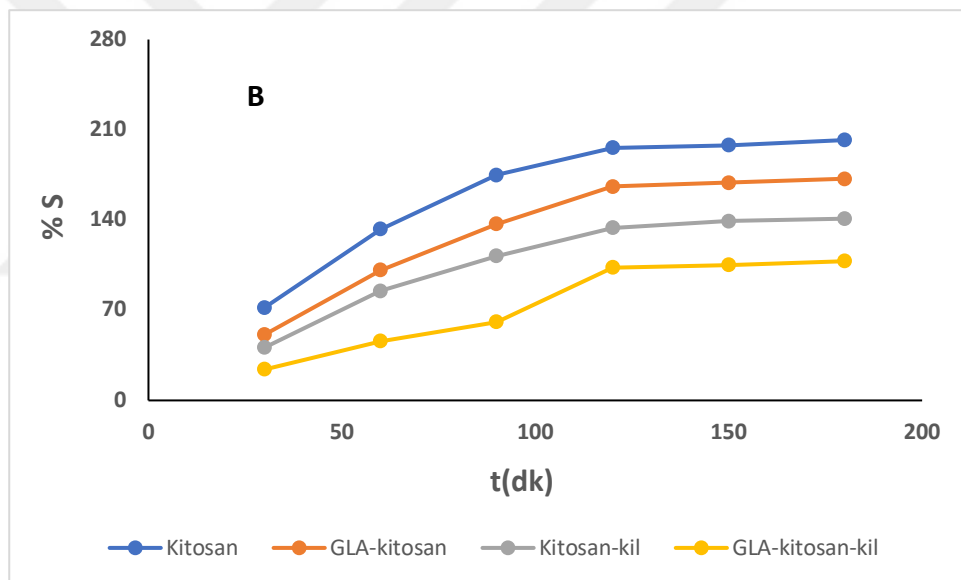
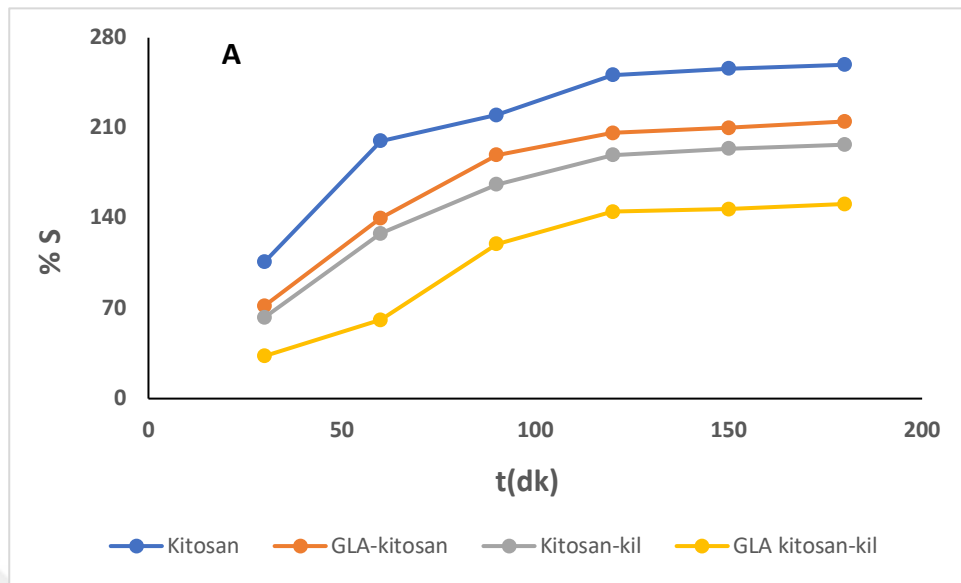
**Tablo 7.** BSA'nın kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojeller üzerine adsorpsiyonuna ait termodinamik parametreler

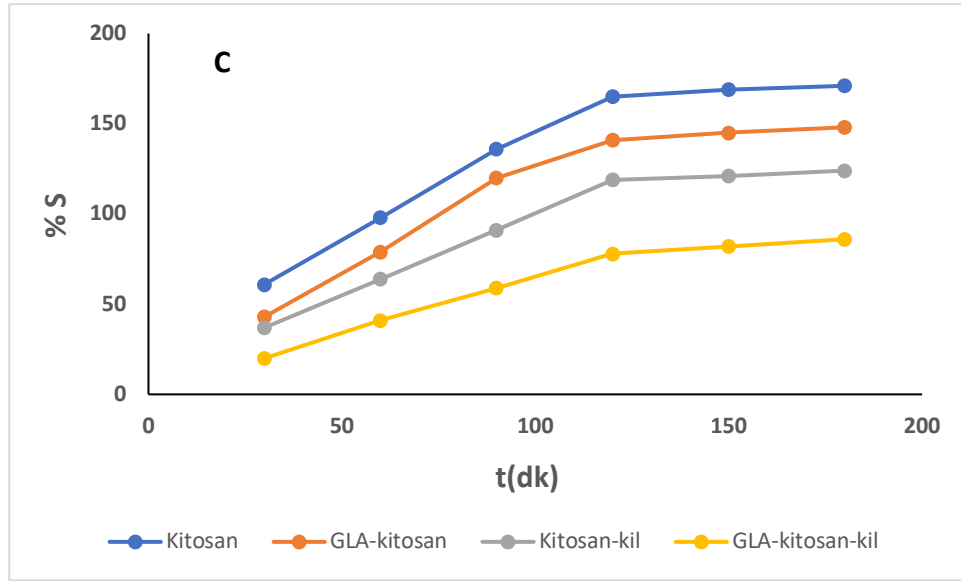
|                        | $\Delta S$ (J/molK) | $\Delta H$ (J/mol) | $\Delta G$ (J/mol) |
|------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Kitosan</b>         | -134,36             | -37072,95          | 3016,72            |
| <b>GLA-kitosan</b>     | -137,18             | -37449,58          | 3547,19            |
| <b>Kitosan-kil</b>     | -164,52             | -47640,05          | 1534,38            |
| <b>GLA-kitosan-kil</b> | -143,94             | -40642,98          | 2312,73            |

Tablo 7 verilerine göre kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar üzerine yapılan BSA'nın adsorpsiyon çalışmasında elde edilen termodinamik parametrelerde  $\Delta H$  ve  $\Delta S$  değerlerinin negatif ve  $\Delta G$  değerinin ise pozitif olduğu görüldü. Buna göre adsorpsiyonun ekzotermik olduğu adsorpsiyonla birlikte düzensizliğin azaldığı ancak sıcaklık artışının adsorpsiyon üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu sonucuna varıldı (Şekil 28 ve Şekil 29).

#### 4.8. Şişme Testi

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil, GLA-kitosan-kil hidrojellerin şişme testi 0,025 M pH 4.0-5.5 asetat ve 0.025 M pH 6.5 fosfat tampon ortamlarında yapıldı. Liyofilize hidrojellerin her birinden 10 mg tartılarak belirli zaman aralıklarında (30-60-90-120-150-180) bekletilerek yapılan çalışmanın grafikleri Şekil 30'da görülmektedir.





**Şekil 30.** Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil, GLA-kitosan-kil hidrojenlerin A) 0,025M pH 4.0 asetat B) 0,025 M pH 5.5 asetat C) 0,025 M pH 6.5 fosfat tamponunda zamana karşı % şişme grafikleri

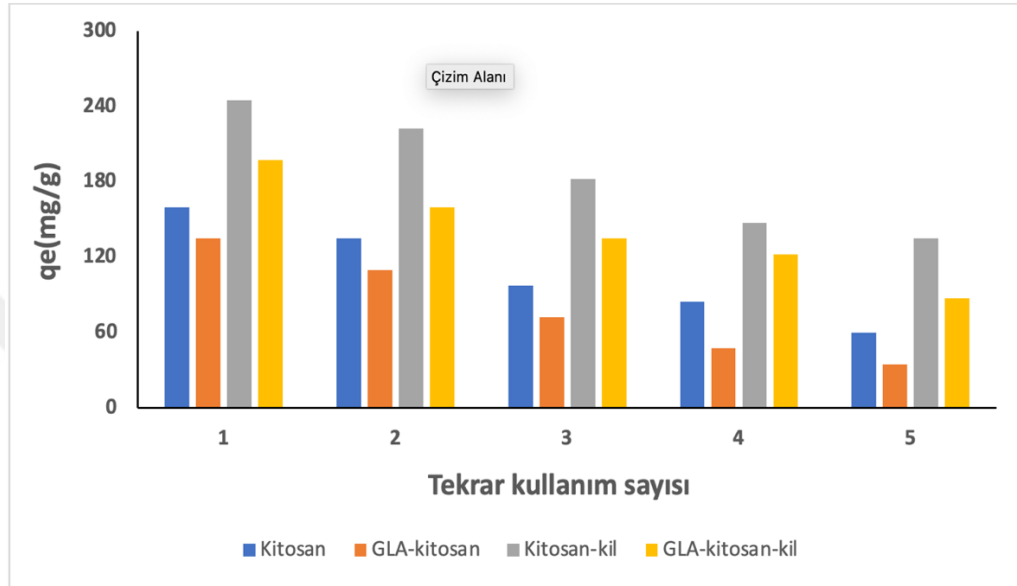
Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil, GLA-kitosan-kil hidrojenleriyle yapılan şişme testi sonucuna göre pH 4-5.5 asetat tamponunda ve pH 6.5 fosfat tamponlarında yapılan çalışmada 120. dakika sonunda şişme değerlerinin dengeye geldiği görülmüştür (Şekil 30). Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklarda en yüksek şişme değeri pH 4.0' de görülmüştür.

Yapılan literatür araştırmalarında, Mahdavinia ve ark. manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojenler sentezlemişlerdir ve sentezlenen hidrojenler için farklı pH'larda şişme testi yapmışlardır. Yaptıkları çalışmalar sonucunda, manyetik kitosan/PVA/laponite hidrojenlerin pH 3'de en yüksek şişme değerine ulaştığını bulmuşlardır [78].

Budianto ve ark. çapraz bağlı kitosan hidrojenleri sentezlemişlerdir ve sentezlenen hidrojenler için farklı pH'larda şişme testi yapmışlardır. Yaptıkları çalışmalar sonucunda, çapraz bağlı kitosan hidrojenlerin pH 4'de en yüksek şişme değerine ulaştığını bulmuşlardır [81].

#### 4.9. Tekrar Kullanılabilirlik Testi

Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil, GLA-kitosan-kil hidrojeller pH 5.5 asetat tamponunda optimum koşullarda (120 dk temas süresinde, 25°C ve 0,25 mg/mL protein konsantrasyonunda) 5 kez BSA adsorpsiyon-desorpsiyon çalışması yapılarak tekrar kullanılabilirliği test edildi.



**Şekil 31.** Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojellerinin tekrar kullanılabilirlik testi grafiği

Şekil 31 verilerine göre kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojellerin 5 kez kullanım sonrasında kitosan ve GLA-kitosan hidrojellerin sırasıyla %38, %26 adsorpsiyon kapasitesini koruduğu kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojellerin ise sırasıyla %55 ve %44 adsorpsiyon kapasitesini koruduğu görülmüştür.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar oluşturuldu. Hidrojel boncukların karakterizasyonu FTIR, SEM ve TGA ile yapıldı. BSA adsorpsiyon çalışmalarının optimizasyonu amacıyla sıcaklık, temas süresi, pH ve başlangıç BSA konsantrasyonu etkileri incelendi. Her hidrojel tipi için maksimum BSA adsorpsiyonu 25 °C’de, pH 5.5’de, 120 dakikalık temas süresinde ve 0,25 mg/mL BSA konsantrasyonunda gerçekleşti. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların BSA adsorpsiyon kapasiteleri ( qe değerleri) sırasıyla 160 mg/g, 135 mg/g, 245 mg/g ve 197 mg/g olarak bulundu. Adsorpsiyon sürecinin termodinamik parametreleri, protein adsorpsiyonunun sıcaklık değişikliklerine göre nasıl değişebileceğini tahmin etmede yardımcı olur. Bu çalışmada hesaplanan  $\Delta G$  değerleri, incelenen sıcaklık aralığında pozitif ve sırasıyla kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncuklar için hesaplanan değerler sırasıyla 3016 J/mol, 3547 J/mol, 1534 J/mol ve 2312 J/mol’dür.  $\Delta H$  değerlerinin negatif olması, hidrojeller üzerine BSA adsorpsiyonunun ekzotermik olduğunu göstermektedir. BSA’nın hidrojeller üzerine adsorpsiyonu Langmuir ve Freundlich adsorpsiyon izoterm modelleri açısından değerlendirildi. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların Langmuir  $R^2$  değerinin Freundlich  $R^2$  değerinden daha büyük olması nedeniyle Langmuir izotermine uygun olduğu görülmüştür. Langmuir izoterm modelinde  $R^2$  değerleri kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA- kitosan-kil hidrojel boncuklar için sırasıyla 0,9922, 0,9848, 0,9777 ve 0,9957 olarak bulundu ve bu da adsorbent yüzeyindeki adsorpsiyonun homojen olduğunu açıklamaktadır. Adsorpsiyon kinetiği çalışmasında BSA’nın hidrojeller üzerine adsorpsiyonunun yalancı ikinci derece kinetik modeline uygun olduğu görüldü. Bu durum ise, tepkime hızının zamana bağlı olduğunu göstermektedir. Hidrojellerin şişme özelliklerini araştırmak amacıyla pH 4.0, 5.5 ve 6.5’de şişme testi uygulandı. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojellerin en yüksek şişme oranına pH 4.0’ de ulaştığı görüldü ve şişme oranı sırasıyla %259, %215, %197 ve %151 olarak bulundu. Kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojel boncukların tekrar kullanılabilirliği, optimum koşullarda aynı hidrojellerin 5 kez kullanılmasıyla test edildi. Çalışmalar sonucunda kitosan, GLA-kitosan, kitosan-kil ve GLA-kitosan-kil hidrojellerin sırasıyla %38, %26, %55 ve %44 oranında adsorpsiyon kapasitesini koruduğu görüldü.

## 6. KAYNAKLAR

1. Ho, T. C., Chang, C. C., Chan, H. P., Chung, T. W., Shu, C. W., Chuang, K. P., Duh, T. H., Yang, M. H., Tyan, Y. C. (2022). Hydrogels: properties and applications in biomedicine. *Molecules*, 27(9), 2902.
2. Ahmed, E. M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of advanced research*, 6(2), 105-121.
3. Devi, N., Sarmah, M., Khatun, B., & Maji, T. K. (2017). Encapsulation of active ingredients in polysaccharide–protein complex coacervates. *Advances in colloid and interface science*, 239, 136-145.
4. Chaudhary, S., Jain, V. P., & Jaiswar, G. (2022). The composition of polysaccharides: monosaccharides and binding, group decorating, polysaccharides chains. In *Innovation in nano-polysaccharides for eco-sustainability* (pp. 83-118). Elsevier.
5. Aminabhavi, T. M. (2015). Polysaccharide-based hydrogels as biomaterials in drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Care & Health Systems*, 2, 132.
6. Buwalda, S. J. (2020). Bio-based composite hydrogels for biomedical applications. *Multifunctional Materials*, 3(2), 022001.
7. Aderibigbe, B. A., & Buyana, B. (2018). Alginate in wound dressings. *Pharmaceutics*, 10(2), 42.
8. Alba, K., & Kontogiorgos, V. (2019). Seaweed polysaccharides (agar, alginate carrageenan). *Reference Module in Food Science Encyclopedia of Food Chemistry*, 240-250
9. Chang, S. C., Rowley, J. A., Tobias, G., Genes, N. G., Roy, A. K., Mooney, D. J., ... & Bonassar, L. J. (2001). Injection molding of chondrocyte/alginate constructs in the shape of facial implants. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 55(4), 503-511.
10. Uğur, S., Uğurlu, E., Saygılı, E. İ., Duysak, Ö., & Sayın, S. (2022). Aljinatin biyomedikal alanlarda kullanımı. *Marine and Life Sciences*, 4(1), 91-99.
11. Moreira, T. D., Martins, V. B., da Silva Júnior, A. H., Sayer, C., de Araújo, P. H. H., & Immich, A. P. S. (2024). New insights into biomaterials for wound dressings and care: Challenges and trends. *Progress in Organic Coatings*, 187, 108118.
12. Chircov, C., Grumezescu, A. M., & Bejenaru, L. E. (2018). Hyaluronic acid-based scaffolds for tissue engineering. *Rom. J. Morphol. Embryol*, 59(1), 71-76.

13. Di Mola, A., Landi, M. R., Massa, A., D'Amora, U., & Guarino, V. (2022). Hyaluronic acid in biomedical fields: New trends from chemistry to biomaterial applications. *International journal of molecular sciences*, 23(22), 14372.
14. Hwang, H. S., & Lee, C. S. (2023). Recent progress in hyaluronic-acid-based hydrogels for bone tissue engineering. *Gels*, 9(7), 588.
15. Xu, Q., Torres, J. E., Hakim, M., Babiak, P. M., Pal, P., Battistoni, C. M., ... & Liu, J. C. (2021). Collagen-and hyaluronic acid-based hydrogels and their biomedical applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 146, 100641.
16. Habibzadeh, F., Sadraei, S. M., Mansoori, R., Chauhan, N. P. S., & Sargazi, G. (2022). Nanomaterials supported by polymers for tissue engineering applications: A review. *Heliyon*, 8(12).
17. Chen, F., Le, P., Lai, K., Fernandes-Cunha, G. M., & Myung, D. (2020). Simultaneous interpenetrating polymer network of collagen and hyaluronic acid as an in situ-forming corneal defect filler. *Chemistry of Materials*, 32(12), 5208-5216.
18. Sahin, U. K. (2018). An easy and accurate method for determining degree of substitution on carboxymethylated cotton fabric. *Textile and Apparel*, 28(2), 118-124.
19. Tyagi, V., & Thakur, A. (2023). Applications of biodegradable carboxymethyl cellulose-based composites. *Results in Materials*, 100481.
20. Krizova, H., & Wiener, J. (2013). Development of carboxymethyl cellulose/polyphenols gels for textile applications. *Autex Research Journal*, 13(2), 33-36.
21. Zhang, W., Liu, Y., Xuan, Y., & Zhang, S. (2022). Synthesis and applications of carboxymethyl cellulose hydrogels. *Gels*, 8(9), 529.
22. Cometa, S., Licini, C., Bonifacio, M. A., Mastroianni, P., Mattioli-Belmonte, M., & De Giglio, E. (2022). Carboxymethyl cellulose-based hydrogel film combined with berberine as an innovative tool for chronic wound management. *Carbohydrate polymers*, 283, 119145.
23. Montesano, F. F., Parente, A., Santamaria, P., Sannino, A., & Serio, F. (2015). Biodegradable Superabsorbent Hydrogel Increases Water Retention Properties of Growing Media and Plant Growth. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 4, 451-458.
24. Apriyanto, A., Compart, J., & Fettke, J. (2022). A review of starch, a unique biopolymer—Structure, metabolism and in planta modifications. *Plant Science*, 318, 111223.
25. Lee, C. S., & Hwang, H. S. (2023). Starch-based hydrogels as a drug delivery system in biomedical applications. *Gels*, 9(12), 951.

26. Zhao, B., Li, L., Lv, X., Du, J., Gu, Z., Li, Z., ... & Hong, Y. (2022). Progress and prospects of modified starch-based carriers in anticancer drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 349, 662-678.
27. Zhao, D., Zhang, X., Zhang, Y., Xu, E., Yan, S., Xu, H., & Li, M. (2024). Recent advances in the fabrication, characterization and application of starch-based materials for active food packaging: hydrogels and aerogels. *Sustainable Food Technology*.
28. Llanes, L., Dubessay, P., Pierre, G., Delattre, C., & Michaud, P. (2020). Biosourced polysaccharide-based superabsorbents. *Polysaccharides*, 1(1), 51-79.
29. Çınar, S., Dinçer, A., Eser, A., & Aydemir, T. (2023). Application of crosslinked chitosan-nanoclay composite beads for efficient removal of Ponceau S azo dye from aqueous medium. *Toxin Reviews*, 42(3), 599-614.
30. Gomathysankar, S., Halim, A. S., & Yaacob, N. S. (2014). Proliferation of keratinocytes induced by adipose-derived stem cells on a chitosan scaffold and its role in wound healing, a review. *Archives of Plastic Surgery*, 41(05), 452-457.
31. Ozturk, A. A., & Sedef, A., (2023). Chitosan, a Natural Biocompatible and Biodegradable Polymer, and Drug Delivery Systems Where Chitosan is Used As a Remineralization Agent in Dentistry: Traditional Review, 12(2), 143-156.
32. Sikorski, D., Gzyra-Jagiela, K., & Draczyński, Z. (2021). The kinetics of chitosan degradation in organic acid solutions. *Marine Drugs*, 19(5), 236.
33. Yadav, M., Kaushik, B., Rao, G. K., Srivastava, C. M., & Vaya, D. (2023). Advances and challenges in the use of chitosan and its derivatives in biomedical fields: a review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 5, 100323.
34. Medina, V. F., Griggs, C. S., Petery, B., Mattei-Sosa, J., Gurtowski, L., Waisner, S. A., ... & Moser, R. (2017). Fabrication, characterization, and testing of graphene oxide and hydrophilic polymer graphene oxide composite membranes in a dead-end flow system. *Journal of Environmental Engineering*, 143(11), 04017072.
35. Giri, T. K., Thakur, A., Alexander, A., Badwaik, H., & Tripathi, D. K. (2012). Modified chitosan hydrogels as drug delivery and tissue engineering systems: present status and applications. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2(5), 439-449.
36. Berger, J., Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., Peppas, N. A., & Gurny, R. J. E. J. O. P. (2004). Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 57(1), 19-34.
37. Kamari, A., Pulford, I. D., & Hargreaves, J. S. J. (2011). Chitosan as a potential amendment to remediate metal contaminated soil A characterisation study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 82(1), 71-80.
38. Kumari, K. (2010). Swelling properties of cross linked chitosan & L-alanine semiinterpenetrating polymer network (semi-IPN). *J. Chem. Pharm. Res*, 2, 892-898.

39. Bhattarai, N., Gunn, J., & Zhang, M. (2010). Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 62(1), 83-99.
40. Rokhade, A. P., Patil, S. A., & Aminabhavi, T. M. (2007). Synthesis and characterization of semi-interpenetrating polymer network microspheres of acrylamide grafted dextran and chitosan for controlled release of acyclovir. *Carbohydrate Polymers*, 67(4), 605-613.
41. Liu, H., Wang, C., Li, C., Qin, Y., Wang, Z., Yang, F., ... & Wang, J. (2018). A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing. *RSC advances*, 8(14), 7533-7549.
42. Yergoz, F., Hastar, N., Cimenci, C. E., Ozkan, A. D., Tekinay, T., Guler, M. O., & Tekinay, A. B. (2017). Heparin mimetic peptide nanofiber gel promotes regeneration of full thickness burn injury. *Biomaterials*, 134, 117-127.
43. Cook, K. A., Martinez-Lozano, E., Sheridan, R., Rodriguez, E. K., Nazarian, A., & Grinstaff, M. W. (2022). Hydrogels for the management of second-degree burns: Currently available options and future promise. *Burns & trauma*, 10, tkac047.
44. Oladosu, Y., Rafii, M. Y., Arolu, F., Chukwu, S. C., Salisu, M. A., Fagbohun, I. K., ... & Haliru, B. S. (2022). Superabsorbent polymer hydrogels for sustainable agriculture: A review. *Horticulturae*, 8(7), 605.
45. Kaur, P., Agrawal, R., Pfeffer, F. M., Williams, R., & Bohidar, H. B. (2023). Hydrogels in agriculture: Prospects and challenges. *Journal of Polymers and the Environment*, 31(9), 3701-3718.
46. Gonzalez Gomez, H., Ramirez Godina, F., Ortega Ortiz, H., Benavides Mendoza, A., Robledo Torres, V., & Cabrera De la Fuente, M. (2017). Use of chitosan-PVA hydrogels with copper nanoparticles to improve the growth of grafted watermelon. *Molecules*, 22(7), 1031.
47. Xin-Yuan, S., & Tian-Wei, T. (2004). New contact lens based on chitosan/gelatin composites. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 19(6), 467-479.
48. Dertli, D. S., & Akkaya, H. Kitosan bazlı hidrojeller ile değerli metallerin geri kazanılması ve sistem kinetiğinin incelenmesi. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(2), 90-101.
49. Ghadiri, M., Chrzanowski, W., & Rohanizadeh, R. (2015). Biomedical applications of cationic clay minerals. *RSC advances*, 5(37), 29467-29481.
50. Kök, O. E., Vapur, H., & Erdoğan, Y. (2022). Sındırgı-Balıkesir Kaolenlerinin Termal Karakterizasyonu. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (42), 40-45.
51. Ece, Ö. I., & Ercan, H. Ü. (2024). Global Occurrence, Geology and Characteristics of Hydrothermal-Origin Kaolin Deposits. *Minerals*, 14(4), 353.

52. Jamo, H. U., & Abdu, S. G. (2014). Structural analysis and surface morphology of kaolin. *Science World Journal*, 9(3), 33-37.
53. Mukasa-Tebandeke, I. Z., Ssebuwufu, P. J. M., Nyanzi, S. A., Schumann, A., Nyakairu, G. W. A., Ntale, M., & Lugolobi, F. (2015). The elemental, mineralogical, IR, DTA and XRD analyses characterized clays and clay minerals of Central and Eastern Uganda. *Advances in Materials Physics and Chemistry*, 5(02), 67.
54. Bailey, S.W., (1980). Crystal Structures of Clay Minerals and Their X-Ray Identification. *American Mineralogist*, 65, 1-7.
55. Grimshaw, R. W. (1971). Physics and chemistry of clay. *LONDON, Ernest Benn Ltd*, 29-37
56. Worden, R. H., Griffiths, J., Wooldridge, L. J., Utley, J. E. P., Lawan, A. Y., Muhammed, D. D., ... & Armitage, P. J. (2020). Chlorite in sandstones. *Earth-Science Reviews*, 204, 103105.
57. Holtz, R. D., Kovacs, W. D., & Kayabalı, K. (2002). *Geoteknik mühendisliğine giriş*. Gazi Kitabevi.
58. Karakaya, M. Ç. (2006). *Kil minerallerinin özellikleri ve tanımlama yöntemleri*. ODTÜ.
59. Taşdemir, Ş., & Çınar, Ö. Ü. A. C. (2022). *Mühendislik alanında uluslararası araştırmalar*. Eğitim Yayınevi.
60. Castellini, E., Berthold, C., Malferrari, D., & Bernini, F. (2013). Sodium hexametaphosphate interaction with 2: 1 clay minerals illite and montmorillonite. *Applied clay science*, 83, 162-170.
61. Dalgıç, A., & Kavak, O. (2004). Kil Mineralleri ve Sağlık. *Dicle Tıp Dergisi*, 31(2), 73-78.
62. Kumari, N., & Mohan, C. (2021). Basics of clay minerals and their characteristic properties. *Clay Clay Miner*, 24(1).
63. Van Oss, C. J., & Giese, R. F. (1995). The hydrophilicity and hydrophobicity of clay minerals. *Clays and Clay minerals*, 43(4), 474-477.
64. Guggenheim, S., Brady, J., Mogk, D., & Perkins, D. (1997). Introduction to the properties of clay minerals. *Teaching Mineralogy (Eds: Brady, J. B, DW Mogk, D. Perkins)*. Mineralogical Society of America. Washington, DC, 371-388.
65. Aslan Topçuoğlu, Y., & Gürocak, Z. (2023). Sodyum bentonit kilini güçlendirmede maksimum dayanım için optimum bazalt fiber oranının belirlenmesi. *Dicle University Journal of Engineering/Dicle Üniversitesi Mühendislik Dergisi*, 14(3).

66. Alves de Oliveira, H., & Pereira dos Santos, C. (2021). Limestone Clays for Ceramic Industry. *Clay Science and Technology*.
67. Burst, J. F. (1991). The application of clay minerals in ceramics. *Applied Clay Science*, 5(5-6), 421-443.
68. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
69. Gözetin, İ., & Savran, A. (2018). Metil Kırmızısının Silikajel Üzerindeki Çözeltilerden Adsorpsiyonu: Denge İzotermi ve Kinetik İncelemeler. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 6(2), 581-589.
70. Okumuş, Z. Ç., & Doğan, T. H. (2019). Biyodizeldeki suyun reçine ile uzaklaştırılması: adsorpsiyon izotermi, kinetiği ve termodinamik incelemesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (15), 561-570.
71. Chiou, M. S., & Li, H. Y. (2002). Equilibrium and kinetic modeling of adsorption of reactive dye on cross-linked chitosan beads. *Journal of hazardous materials*, 93(2), 233-248.
72. Ho, Y. S., & Wang, C. C. (2004). Pseudo-isotherms for the sorption of cadmium ion onto tree fern. *Process Biochemistry*, 39(6), 761-765.
73. Ho, Y. S., & McKay, G. (1999). Pseudo-second order model for Sorption by peat. *Chemical Engineering Journal*, 70(2), 115-124.
74. Waranusantigul, P., Pokethitiyook, P., Kruatrachue, M., & Upatham, E. S. (2003). Kinetics of basic dye (methylene blue) biosorption by giant duckweed (*Spirodela polyrrhiza*). *Environmental pollution*, 125(3), 385-392.
75. Nollet, H., Roels, M., Lutgen, P., Van der Meeren, P., & Verstraete, W. (2003). Removal of PCBs from wastewater using fly ash. *Chemosphere*, 53(6), 655-665.
76. Dinçer, A., Karanfil, B. P., Menfaatli, E., & Zihnioğlu, F. (2021). Investigation on Adsorption Properties of Egg White Protein Polymers Using a Model Azo Dye Amaranth. *Journal of International Environmental Application and Science*, 16(1), 1-11.
77. Ishrat, U. (2012). Synthesis, characterization and electrical properties of Titanium molybdate composite membrane. *Desalination*, 286, 8-15.
78. Mahdavinia, G. R., Soleymani, M., Etemadi, H., Sabzi, M., & Atlasi, Z. (2018). Model protein BSA adsorption onto novel magnetic chitosan/PVA/laponite RD hydrogel nanocomposite beads. *International journal of biological macromolecules*, 107, 719-729.

79. Mondal, S., Li, C., & Wang, K. (2015). Bovine serum albumin adsorption on glutaraldehyde cross-linked chitosan hydrogels. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 60(8), 2356-2362.
80. Murguía-Flores, D. A., Bonilla-Ríos, J., Canales-Fiscal, M. R., & Sánchez-Fernández, A. (2016). Protein adsorption through Chitosan–Alginate membranes for potential applications. *Chemistry Central Journal*, 10, 1-22.
81. Budianto, E., Muthoharoh, S. P., & Nizardo, N. M. (2015). Effect of crosslinking agents, pH and temperature on swelling behavior of cross-linked chitosan hydrogel. *Asian Journal of Applied Sciences*, 3(5).

