



**T.C.**  
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ATIK TAVUK TÜYÜNDEN KERATİN ELDESİ,  
KERATİN-KİTOSAN TÜREVİ FİLMLEİNİN  
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**MEDİHA GÜL ÇELİK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**KAHRAMANMARAŞ 2020**

**T.C.**  
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ATIK TAVUK TÜYÜNDEN KERATİN ELDESİ,  
KERATİN-KİTOSAN TÜREVİ FİLMLEİNİN  
ÖZELLİKLEİNİN İNCELENMESİ**

**MEDİHA GÜL ÇELİK**

**YÜKSEK LİSANS**  
**Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı**

**KAHRAMANMARAŞ 2020**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Mediha Gül ÇELİK



Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2020/4-2 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

# ATIK TAVUK TÜYÜNDEN KERATİN ELDESİ, KERATİN-KİTOSAN TÜREVİ FİMLERİNİN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

MEDİHA GÜL ÇELİK

## ÖZET

Bir ülkenin kalkınabilmesi o ülkenin sanayi gelişmişliğine bağlıdır. Ne yazık ki ülkemiz kimyasal madde bakımından büyük ölçüde dışa bağımlıdır. Dolayısıyla ülkemizin kalkınabilmesi için atık durumundaki hammaddelerin kullanılabilirliğine yönelik Ar-Ge çalışmaları yapılmalıdır.

Tavuk tüyleri, tavuk üretim tesislerinde atık madde olarak açığa çıkmaktadır. Hâlihazırda hayvan yemi olarak kullanılmakta ya da gömülerek imha edilmektedirler. Bu çalışmada; atık tavuk tüyleri ön fiziksel işlemlerden geçirilerek temizlenmiştir. Daha sonra keratin ekstraksiyonu için boyutu küçültülmüştür. Belirli bir boyuta getirilen tüyler sodyum sülfür ( $\text{Na}_2\text{S}$ ) ile farklı konsantrasyon, sıcaklık, karıştırma hızı ve süreye bağlı olarak keratin ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen keratin partiküllerinden keratin çözeltisi hazırlanmış ve belirli oranlarda kitosan ile karıştırılarak homojen bir hale gelene kadar karıştırılmış ve plastikleştirici görevi gören PVA (polivinil alkol) eklenerek film oluşturulmuştur. Elde edilen keratin partiküllerinin ve filmlerin yapısı FT-IR, SEM, XRD ile aydınlatılmış ve filmlerin antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. Tez çalışması sonunda veriler ışığında kullanım alanları araştırılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Tavuk tüyü, keratin, kitosan, antibakteriyel film, PVA (polivinil alkol)

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Temmuz/ 2020

Danışman: Doç. Dr. Mehmet Hakan MORCALI

Sayfa sayısı: 83

# **EXTRACTION KERATIN FROM CHICKEN FEATHERS, INVESTIGATION OF PROPERTIES OF KERATIN-CHITOSAN FILMS**

**(M.SC. THESIS)**

**MEDİHA GÜL ÇELİK**

## **ABSTRACT**

The development of a country depends on the industrial development of that country. Unfortunately, our country is largely foreign-dependent in terms of chemicals. Therefore, in order to develop our country, projects should be carried out for the further use of waste raw materials.

Chicken feathers pose a problem as waste material in chicken production facilities. They are currently used as animal feed or are buried and destroyed. In this study; waste chicken feathers were cleaned by pre-physical treatment. It was then reduced in size for keratin extraction. For this aim, chicken feathers obtained from poultry factories and keratin obtained with sodium sulfide ( $\text{Na}_2\text{S}$ ) depending on different concentration, temperature and mixing speed and time. The keratin solution was prepared from the keratin particles obtained and mixed with chitosan in certain ratio until it became homogeneous and PVA (polyvinyl alcohol), which acts as a plasticizer, was added and the film was formed. The structure of the keratins obtained and films formed were characterized by SEM, XRD, FT-IR and antibacterial properties of films were examined. In the light of this information, their usage areas were researched.

**Keywords:** Chiken feather, keratin, chitosan, antibacterial film, PVA (Polyvinyl Alcohol)

University of Kahramanmaraş Sütçü İmam  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Environmental Engineering, July / 2020

Supervisor: Doç. Dr. Mehmet Hakan MORCALI

Page Numbers: 83

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca bilgi birikiminden ve deneyimlerinden her zaman faydalandığım Sayın Danışman Hocalarım **Dr. Öğr. Üyesi Cengiz Ayhan ZIBA**'ya ve **Doç. Dr. Mehmet Hakan MORCALI**'ya sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen ve her daim yanımda olan, bilgi birikiminden istifade ettiğim, Sayın Hocam **Prof. Dr. Mustafa DOLAZ**'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bugün bu tezi savunmama ve bu başarıyı elde etmeme vesile olan buraya kadar gelmemi sağlayan Sayın Hocam **Prof. Dr. Zeynep ZAIMOĞLU**'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca bana yardımcı olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen laboratuvar ekip arkadaşlarım **Nuran ÇELİKCI**'ye ve **Ecenaz Merve NAMLI**'ya teşekkür ederim.

Tez yazımında ve almış olduğumuz analizlerde bize maddi ve manevi her türlü imkânı sunan **ÜSKİM** personellerine ve Üskim stajeri **Alican PEKGÖZ**'e teşekkür ederim.

Tez aşaması boyunca benimle birlikte olan beni motive eden, güldüren, ilham veren, heyecanlandıran değerli ablam **Birsen ÇELİK**'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, bu zamana kadar gelmemde bana maddi manevi her türlü yardımı sağlayan, desteklerini hiç esirgemeyen değerli annem **Birgül ÇELİK** ve değerli babam **Medeni ÇELİK**'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	I
ABSTRACT .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	V
TABLolar DİZİNİ.....	VII
EKLER DİZİNİ .....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. TAVUK TÜYÜ .....	2
1.2. Protein ve Keratin Hakkında Bilgi.....	3
1.2.1. Protein Yapısı.....	3
1.2.2. Keratin Yapısı .....	8
1.2.3. Keratin-Kitosan .....	13
1.2.4. Keratin-Kitosan Uygulama Alanları .....	15
2. KONU İLE İLGİLİ LİTERATÜR ÇALIŞMALARI .....	18
3. MATERYAL VE METOT .....	28
3.1. Materyal .....	28
3.1.1. Kullanılan kimyasallar .....	28
3.1.2. Kullanılan cihazlar .....	28
3.2. Metot.....	29
3.2.1. Deney Akış Planı.....	29
3.2.2. Tüylerin Ön İşlemi .....	30
3.2.3. Keratin Ekstraksiyonu .....	31
3.2.4. Protein Konsantrasyonun Belirlenmesi .....	34
3.2.5. Film Hazırlama.....	34
3.2.6. Çekme Testi .....	35
3.2.7. Antibakteriyel Test.....	35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	37
4.1. Keratin Ekstraksiyonu ve Protein Konsantrasyonu .....	37
4.2. Keratin-Kitosan Film Hazırlama ve Mekanik Özellikler.....	39
4.3. Antibakteriyel Test .....	41
4.4. Keratinin FT-IR Spektrumu .....	42
4.5. Keratin ve Filmlerin SEM Görüntüleri .....	44
4.6. XRD Kırınım Desenleri .....	46
SONUÇLAR.....	47
KAYNAKLAR.....	49
EKLER .....	58
ÖZGEÇMİŞ.....	71

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Tüyün yapısı.....	3
Şekil 1.2. Bir peptit bağı segmenti .....	4
Şekil 1.3 Tekli, ikili, üçlü ve dördü protein yapıları .....	4
Şekil 1.4. Bir $\alpha$ -sarmalının boşluk doldurma modeli .....	5
Şekil 1.5 (a) Paralel olmayan bir $\beta$ -sarmal. (b) Paralel bir $\beta$ -sarmal .....	6
Şekil 1.6 $\beta$ -sarmalının katlanmış görünümü.....	7
Şekil 1.7 Kolajen üçlü sarmal.....	8
Şekil 1.8 $\alpha$ -keratin ve $\beta$ -keratin .....	10
Şekil 1.9 Sert alfa keratinin 3-D yapısı.....	11
Şekil 1.10 Peptitlerin kısımlarını çapraz bağlayan disülfür köprüleri.....	12
Şekil 2.11 Işınlandırılmamış kitosan ve kitosan-keratin karışımlarının UV-vis spektrumları Sionkowska ve ark. ....	21
Şekil 2.2 UV ışınlamasından önce ve sonra kitosan / keratin filminin (95/5) FTIR spektrumları. Işınlama zamanı çizelgede verilmiştir .....	21
Şekil 2.3 CF, MCF-I, MCF-II ve MCF-III'ün FT-IR spektrumları. CF, MCF-I, MCF-II ve MCF-III için, yoğunluk 3200 cm <sup>-1</sup> 'de normalleştirilir .....	22
Şekil 2.4 Dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan Keratin kompozityapı iskelesi .....	24
Şekil 2.5 Sülfütoz ekstraksiyonundan keratin verimleri .....	25
Şekil 3.1 (a) Ham tavuk tüyü, (b) Temizlenmiş tavuk tüyü, (c) Doğranmış tüyler.....	30
Şekil 3.2 Öğütücü ve öğütülmüş tavuk tüyü.....	30
Şekil 3.3 Soxhlet cihazı ve petroeterinden geçirilmiş tavuk tüyleri .....	31
Şekil 3.4 Tavuk tüyü ekstraksiyonun kimyasal reaksiyonu .....	33
Şekil 3.5 Farklı Na <sub>2</sub> S konsantrasyonlarında ekstrakte edilen keratin partiküllerinin fotoğraf görüntüsü .....	34
Şekil 3.6 Oluşturulan filmlerin petri kabına dökümü.....	35
Şekil 3.7 Antibakteriyel için hazırlanan numuneler .....	36
Şekil 4.1 Farklı kimyasallar kullanılarak ekstrakte edilen protein konsantrasyonunu .....	37
Şekil 4.2 Tavuk tüyünü ekstrakte ederken sülfür bağlarının kopması.....	38
Şekil 4.3 Farklı sıcaklıklardaki protein konsantrasyonu .....	38
Şekil 4.4 Zamanın verim üzerine etkisi .....	39
Şekil 4.5 Karıştırma hızlarının kuru ağırlık üzerine etkisi .....	39
Şekil 4.6 PVA eklemeyen oluşturulan film.....	40



Şekil 4.7 PVA ile oluşturulan filmlerin kurumuş hali .....	40
Şekil 4.8 Kontrol grubu bakteriler ve PVA filminin hücre yoğunluklarının kıyaslanması ..	41
Şekil 4.9 Filmlerdeki keratin konsantrasyon değişkenlerinin kontrol grubu bakteri ile karşılaştırılması.....	42
Şekil 4.10 Filmlerdeki kitosan konsantrasyon değişkenlerinin kontrol grubu bakteri ile karşılaştırılması.....	42
Şekil 4.11 Keratin partiküllerinin FT-IR Spektrumları .....	43
Şekil 4.12 Keratin-kitosan türevleri filmlerin FT-IR Spektrumları.....	44
Şekil 4.16 Tavuk tüyünün SEM görüntüsü .....	45
Şekil 4.17 Keratin tozuna ait SEM görüntüsü .....	45
Şekil 4.18 Keratin-kitosan filminin SEM görüntüsü .....	45
Şekil 4.19 XRD kırınım desenleri .....	46

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.1.Amino-Asit Bileşimi (Mol / 100 Mol) Kütikül (Üst Deri), Korteks Ve Keratin ..	9
Tablo 2.1 Hazırlanan Keratinlerin Temel Özellikleri.....	19
Tablo 3.1. Ekstraksiyonda Kullanılan Farklı Kimyasallar .....	31
Tablo 3.2. Farklı Na <sub>2</sub> S Konsantrasyonları.....	32
Tablo 3.3. Farlı Karıştırma Hızları .....	33
Tablo 4.1. Keratin-Kitosan Filmlerin Kopma Anındaki Uzama Yüzdeleri Ve Kalınlıkları	41



## EKLER DİZİNİ

Şekil 1. Tavuk tüyünün Na <sub>2</sub> S ile ekstraksiyon sonucu keratin partiküllerinin FT-IR spektrumu .....	58
Şekil 2. Tavuk tüyünün Na <sub>2</sub> S+NaOH ile ekstraksiyon sonucu keratin partiküllerinin FT-IR spektrumu .....	58
Şekil 3. 0,25M Na <sub>2</sub> S konsantrasyonunda ekstrakte sonucu keratin partiküllerinin FT-IR spektrumu .....	59
Şekil 4. 0,5M Na <sub>2</sub> S konsantrasyonunda ekstrakte sonucu keratin partiküllerinin FT-IR spektrumu .....	59
Şekil 5. 0,75M Na <sub>2</sub> S konsantrasyonunda ekstrakte sonucu keratin partiküllerinin FT-IR spektrumu .....	60
Şekil 6. Oluşturulan PVA filmin FT-IR spektrumu .....	60
Şekil 7. K-5-C-0 filmin FT-IR spektrumu.....	61
Şekil 8. K-0-C-5 filmin FT-IR spektrumu.....	61
Şekil 9. K-5-C-5 filmin FT-IR spektrumu.....	62
Şekil 10. K-15-C-5 filmin FT-IR spektrumu.....	62
Şekil 11. K-20-C-5 (ker:20mL, kitosan:5mL) filmin FT-IR spektrumu .....	63
Şekil 12. K-5-C-15 filmin FT-IR spektrumu.....	63
Şekil 13. K-25-C-5 filminin SEM görüntüsü .....	64
Şekil 14. K-25-C-5 filminin SEM görüntüsü .....	64
Şekil 15. K-25-C-5 filminin SEM görüntüsü .....	65
Şekil 16. Keratin tozunun SEM görüntüsü.....	65
Şekil 17. Keratin tozunun SEM görüntüsü.....	66
Şekil 18. Tavuk tüyü SEM görüntüsü .....	66
Şekil 19. Tavuk tüyü SEM görüntüsü .....	67
Şekil 20. Tavuk tüyü SEM görüntüsü .....	67
Şekil 21. Tavuk tüyü SEM görüntüsü .....	68
Şekil 22. Tavuk tüyü kırınım deseni.....	69
Şekil 23. Keratin-kitosan filminin kırınım deseni .....	69
Şekil 24. Keratin tozunun kırınım deseni .....	70

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>%</b>	: Yüzde
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>DTA</b>	: Diferansiyel Termal Analiz
<b>FT-IR</b>	: Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi
<b>g</b>	: Gram
<b>g/cm<sup>3</sup></b>	: Yoğunluk
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>kPa</b>	: Kilopaskal
<b>L</b>	: Litre
<b>m</b>	: Metre
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>°C</b>	: Derece Santigrat
<b>SEM</b>	: Taramalı Elektron Mikroskobu
<b>TGA</b>	: Termal Gravimetrik Analiz
<b>v</b>	: Frekans
<b>XRD</b>	: X-Işını Difraksiyonu
<b>NMR</b>	: Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
<b><math>\alpha</math></b>	: Alfa
<b><math>\beta</math></b>	: Beta
<b><math>\gamma</math></b>	: Gama
<b><math>\theta</math></b>	: Teta
<b>TT</b>	: Tavuk tüyü
<b>PVA</b>	: Polyvinyl Alkol

## 1. GİRİŞ

Dünya genelinde artan nüfus ile ticari gelişmeler, atık miktarında her türlü üretimden açığa çıkan büyük bir artışa neden olmuştur (Martelli ve ark. 2006). Bu sorunu en aza indirmek için plastik ürünlerin geri dönüşümü ve biyolojik olarak parçalanabilen geleneksel plastiklerin yerine konması gibi alternatif çözümler araştırılmaktadır. Doku mühendisliği ve rejeneratif tıp, gen terapisi, yeni ilaç verme sistemleri, implante edilebilir cihazlar ve nanoteknoloji gibi teknolojilerdeki gelişmeler biyolojik olarak bozunabilir polimerlere olan talebin artmasına neden olmuştur. Biyopolimerlerin yenilenebilir ana kaynakları proteinler, polisakkaritler ve lipitlerdir. Atık tüyler kümesi hayvanları endüstrisi için önemli bir sorun olmaktadır. Son 15 yılda, kanatlı hayvan üretimi, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, yılda yaklaşık %5 artmıştır (Moore vd., 2006). Bu tüylerin bertarafı için en kolay çözüm yolu; onları düşük besin değeri olan hayvan yemlerine dahil etmektir (Barone ve Schmidt, 2006).

Tüyler yaklaşık %91 protein (keratin), %1 lipit ve %8 sudan oluşmaktadır. Keratin kullanılması kozmetik endüstrisi uygulamalarında en çok kullanılan maddelerden biridir. (Reddy ve Yang, 2007). Bu ilginç protein, çeşitli türdeki kompozitlerin bir bileşeni, biyolojik olarak bozunabilir nonwovenların(dokunulmamış) bir bileşeni ve diğer birçok alanlarda özellikle biyoteknolojide kullanılmaktadır. Keratinin hidrofilik özellikleri nedeniyle tüyler elyaf üretimi için kullanılması uygun olacaktır. Sağlık ve tıbbi uygulamalara adanmış tekstil ürünleri ve teknik bir emme malzemesi olarak üretilmesinde yararlı olabilecek emme özelliklerini artırmaktadır. Tavuk tüylerinden bu tür keratin uygulamaları şüphesiz yeni kullanım alanlarıdır. Değiştirilmemiş indirgenmiş keratin çözeltisinin ekstraksiyonu, dengesizliği nedeniyle hiç yapılmamıştır. Herhangi bir katkı maddesi olmadan keratin çözeltisi dökülerek hazırlanan bir keratin film oluşturmak için çok kırılgan olması nedeniyle, gliserol, PVA, PLA, PEG gibi plastikleştiricilerin kullanılması bu filmlerin özelliklerini saydam, oldukça güçlü, esnek ve biyolojik olarak parçalanabilir bir film olacak şekilde geliştirilmiştir (Yamauchi K ve ark. 1996). Fare fibroblast hücreleri keratin filmi üzerinde iyi çoğalabilmiş (Yamauchi K ve ark. 1997) ve bu da keratinin biyoyumluluğunu göstermiştir. Bu nedenle keratinin kollajen ve jelatine benzer şekilde biyomedikal kullanım için uygulanabilir olması beklenir. Her ne kadar gliserol içeren keratin filmi uygun mukavemet ve esneklik gösterse de gliserol sulu ortamda çözülmüş ve tekrar kırılgan bir yapı ile sonuçlanmıştır. Son zamanlarda,

biyomalzeme için kitin ve kitosanın uygulanması için kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Çünkü bu karbonhidrat biyopolimerleri yüksek biyoyumumluluğa ve yara iyileşmesi, antibakteriyel aktivite (Tsai ve ark 1999 ve 2000) ve benzeri gibi çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahiptir.

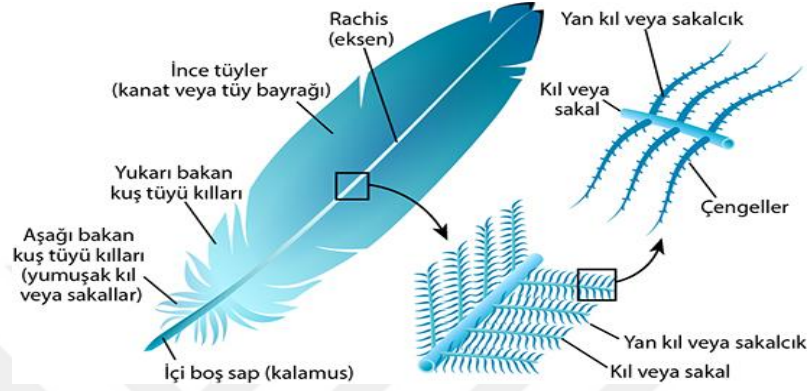
### **1.1. Tavuk Tüyü**

Tavuk tüyleri, büyük miktarlarda bulunan ve çok az kullanım alanına sahip tüyler bir yan üründür. Kanatlı hayvan eti üretimindeki artışla bağlantılı olarak bu atık miktarı sürekli artmaktadır. Keratin içeren tavuk tüyleri, tavukçuluk endüstrisinin çok rahatsız edici ve zahmetli bir atık ürünüdür ve bu nedenle şu anda birçok araştırmada çok fazla araştırmaların yapıldığı bir noktadır. Bu yoğun araştırma çalışmaları nedeniyle biyopolimer ile ilgili yayınlanan birçok yayın ve patent bulunmaktadır (Wrzeźniewska ve ark. 2006).

Tüylerin sekonder ve üçüncül yapıları, yani dikenler ve barbullar, çeşitli uygulamalar için kompozitlerde takviye veya dolgu maddesi olarak kullanım için uygun hale getiren morfolojiye ve özelliklere sahiptir. Çok düşük yoğunluklu, mükemmel sıkıştırılabilirlik ve esneklik, ısı tutma ve tipik morfolojisi nedeniyle, kümes hayvan tüyü doğal ve sentetik liflere kıyasla tercih edilmektedir. Tipik yapıya ve özelliklere ek olarak tüyler lifleri ucuzdur, bol miktarda bulunur ve hayvan lifleri için yenilenebilir bir kaynak oluşturmaktadır (Salhi ve ark. 2011). Kanatlı kuş tüyü yoğunluğu yaklaşık  $0,8 \text{ g/cm}^3$ 'tür. Yün için yaklaşık  $1,3 \text{ g/cm}^3$  ve selüloz elyaf için yaklaşık  $1,5 \text{ g/cm}^3$ . Günümüzde ticari olarak temin edilebilen doğal veya sentetik liflerin hiçbiri, tavuk tüylerinin kadar düşük bir yoğunluğa sahip değildir. Bu tür benzersiz özellikler, otomotiv uygulamaları için kullanılan tekstil ve kompozitler gibi birçok uygulama için tüyleri tercih edilir hale getirmiştir. Eşsiz yapıya ve özelliklere ek olarak, tüyler ucuz, bol miktarda bulunur ve protein lifleri için yenilenebilir bir kaynaktır (Reddy ve ark. 2007).

Kümes hayvanları tüyleri yaklaşık %90 protein içermektedir ve protein lifleri için ucuz ve yenilenebilir bir kaynaktır (Wrzeźniewska ve ark. 2006). Tüylerin ikincil yapıları, tüyler lifli formdadır ve protein lifleri olarak potansiyel bir kaynak olabilir. Dünyada her yıl 1,814,369 ton dan fazla tavuk tüyü üretilmektedir (Barone ve ark. 2006). Ayrıca Türkiye'de yaklaşık 30000 ton tavuk tüyü üretilmektedir (TÜİK 2009). Tüylerin ağırlığının yaklaşık %50'si tüylü ve diğer %50'si rachidir (tüyün orta kısmında tüylerin tutunmasını sağlayan yapı). Bu, her yıl dünyada tüketilen protein liflerinin %8'inin kullanılabilirliği

anlamına gelmektedir. İki doğal protein lifi, yün ve ipek nispeten pahalı lifler olduğundan, düşük maliyetli dikenleri protein lifi olarak kullanmak birçok protein lifi ürününü ekonomik hale getirecek ve tüylere yüksek değer katmaktadır (Reddy ve ark. 2007). Dikenlerin %20'sinin tekstil uygulamaları için 1 inçten daha uzun uzunluklara sahip olduğu varsayılsa bile, her yıl yaklaşık 400 milyon pound diken doğal protein lifleri olarak bulunmaktadır.



Şekil 1.1. Tüyün yapısı (Stettenheim, 2000)

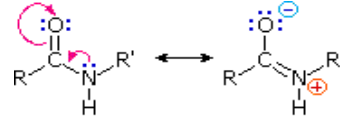
Rachis birincildir, tüyler ikincildir ve tüylere bağlanan tüyler (bu büyütmeye görünmez) tüylerin üçüncül yapılarıdır (Şekil 1.1).

## 1.2. Protein ve Keratin Hakkında Bilgi

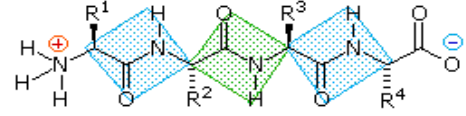
### 1.2.1. Protein Yapısı

Proteinler, oksijenin vücutta taşınması ve depolanması ve kasların kasılması gibi birçok fizyolojik fonksiyondan sorumludur. Peptitler ve proteinler, amid bağları ile birbirine bağlanan amino asitlerin polimerleridir (Jinan Cao, 1999). Tekrarlanan birimlere amino asit kalıntıları denir. Amino asit polimerleri herhangi bir sayıda monomerden oluşmaktadır. Bir dipeptit iki amino asit kalıntısı içerir, bir tripeptit üç içerir, bir oligopeptit üç ila 10 içerir ve bir polipeptit birçok amino asit kalıntısı içermektedir. Proteinler, 40 ila 4000 amino asit kalıntısından oluşan doğal olarak oluşan polipeptitlerdir (Şekil 1.2). Proteinler, işlevleri için önemli olan karmaşık bir yapıya sahip makromoleküllerdir (polipeptitler).

C-N double bond character in amide (peptide) bonds



Düzlemsel peptit bağ segmentleri

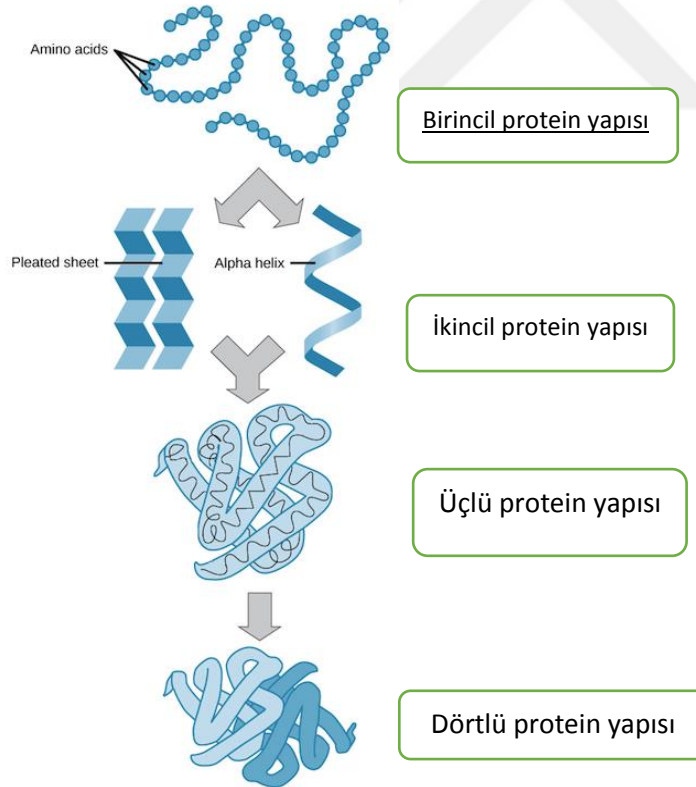


Şekil 0.1. Bir peptit bağı segmenti (Canpolat, 2013)

Proteinler dört seviye ile tarif edilebilir;

- Bir proteinin birincil protein yapısı, amino asitlerin lineer sekansıdır.
- İkincil yapı, bir polipeptitin omurga atomlarının yan zincirlerinin uyumlarına bakılmaksızın lokal uzamsal düzenlemesidir.
- Üçüncül yapı, tüm bir polipeptidin üç boyutlu yapısını ifade eder.
- Birçok protein, gevşek bir şekilde altbirimler olarak adlandırılan iki veya daha fazla polipeptit zincirinden oluşur. Bir proteinin dördüncü yapısı, alt birimlerinin uzamsal düzenlemesini ifade eder.

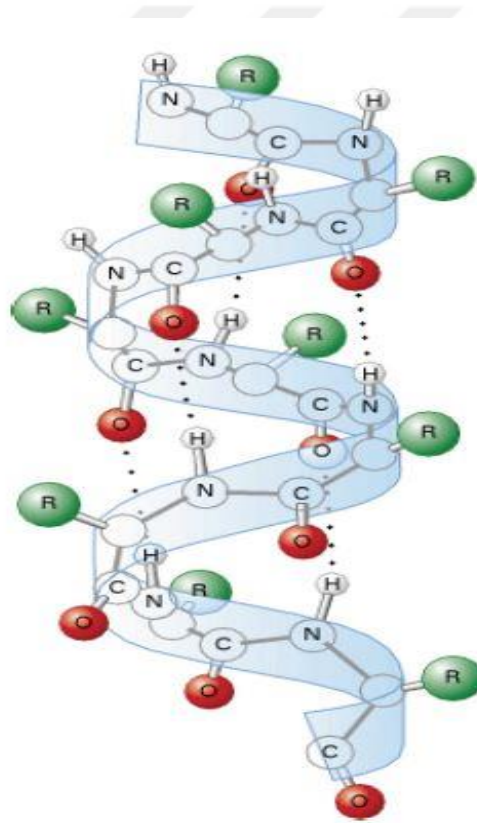
Şekil 1.3'te özetlenen dördüncü protein yapısının seviyesi



Şekil 0.2 Tekli, ikili, üçlü ve dördüncü protein yapıları (Ulusal İnsan Genomu Araştırma Enstitüsü)



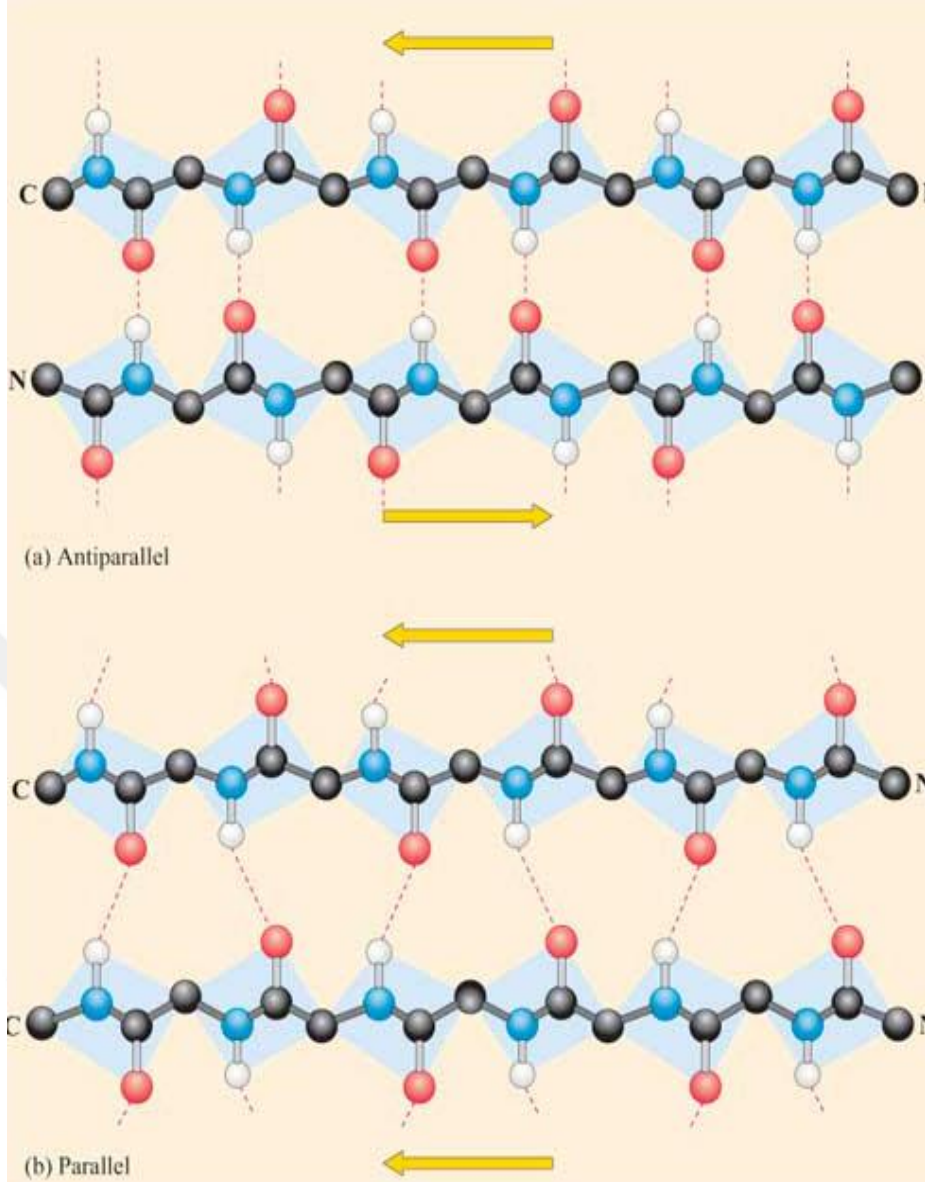
Protein ikincil yapısı, helisler, tabakalar ve dönüşler gibi düzenli polipeptit katlama modellerini içermektedir. Protein sekonder yapısının birkaç elementi o kadar yaygındır ki, çok farklı amino asit sekanslarına sahip proteinlerde hemen görülebilmektedirler. Hem  $\alpha$ -sarmal hem de  $\beta$ -tabakası bu tür elementlerdir; düzenli ikincil yapıları olarak adlandırılmaktadırlar.  $\alpha$  sarmalında, omurga hidrojen bağları, nth kalan peptit C = O bağı, sarmal eksenine boyunca (n + 4)th kalıntısına peptit N-H grubuna bakacak şekilde dizilmektedir. Bu neredeyse optimum N...O mesafesine 2.8 Å olan güçlü bir hidrojen bağı ile sonuçlanmaktadır. Amino asit yan zincirleri sarmaldan dışarıya ve aşağıya doğru uzanır (Şekil 1.4), böylece polipeptit omurgası ve birbiriyle sterik etkileşimi önlemektedir. (Pauling ve ark. 1951). Sarmalın çekirdeği sıkıca paketlenmiştir; yani atomları van der Waals temasındadır.



Şekil 0.3. Bir  $\alpha$ -sarmalının boşluk doldurma modeli (Canpolat, 2013)

Sarmallar iki çeşittir:

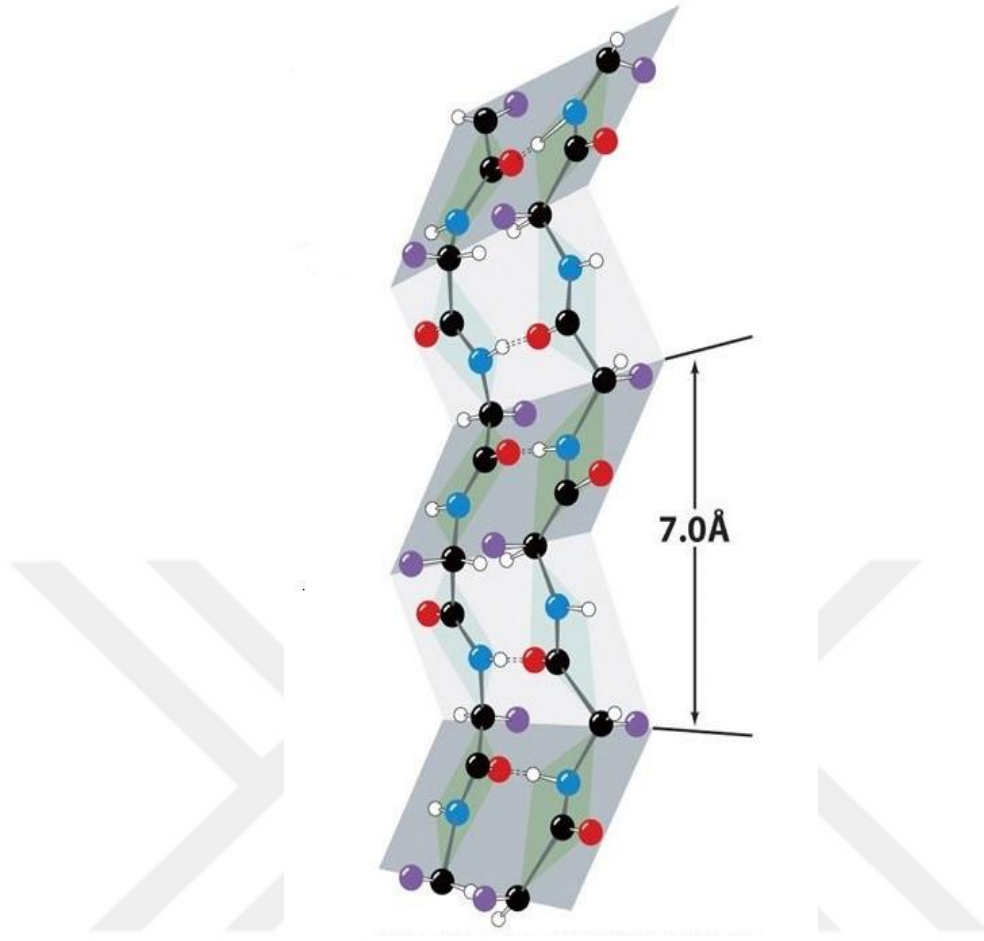
1. Komşu hidrojen bağı polipeptit zincirlerinin zıt yönlerde ilerlediği antiparalel  $\beta$ -tabaka (Şekil 1.5a)
2. Hidrojen bağı zincirlerin aynı yönde uzandığı paralel  $\beta$ -tabaka (Şekil 1.5b)



Şekil 0.4 (a) Paralel olmayan bir  $\beta$ -sarmal. (b) Paralel bir  $\beta$ -sarmal (Canpolat, 2013)

Kesik çizgiler polipeptit şeritleri arasındaki hidrojen bağlarını gösterir. Açıklık için yan zincirler çıkarılmıştır.

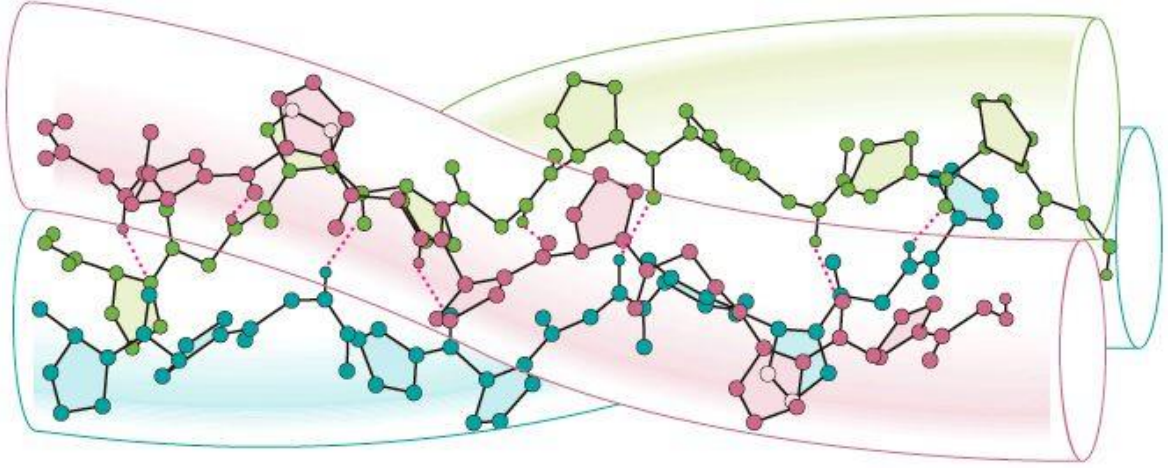
Bu  $\beta$  yapılarının optimal olarak hidrojen bağlı olduğu konformasyonlar, tamamen genişletilmiş polipeptidinkinden biraz farklıdır. Bu nedenle, dalgalı veya kıvrımlı kenar görünümü vardır (Şekil 1.6) ve bu nedenle bazen “kıvrımlı sarmallar” olarak adlandırılmaktadır.  $\beta$ -sarmalı bir polipeptit zincirinin ardışık yan zincirleri, 7.0 Å'lık iki kalıntı tekrar mesafesiyle tabakanın karşı taraflarına uzanmaktadır.



Şekil 0.5  $\beta$ -sarmalının katlanmış görünümü (Canpolat, 2013)

Bir proteinin üçüncül yapısı, ikincil yapısal elemanlarının katlanmasını açıklar ve yan zincirlerininkiler dahil olmak üzere proteindeki her atomun pozisyonlarını belirlemektedir.

Proteinler, stabilitelelerini maksimuma çıkarmak için çözeltide kendiliğinden katlanmaktadır. Stabilize edici etkileşimler arasında kovalent bağlar, hidrojen bağları, elektrostatik atraksiyonlar ve van der Waals etkileşimi bulunmaktadır. Dengeleyici etkileşim, peptit grupları (proteinin omurgasındaki atomlar), yan zincir grupları arasında ve peptit ve yan zincir grupları arasında meydana gelebilmektedir. Yan zincir grupları bir proteinin nasıl katlandığının belirlenmesine yardımcı olduğundan, bir proteinin üçüncül yapısı birincil yapısı ile belirlenmektedir. Disülfür bağları, bir protein katlandığında oluşabilecek tek kovalent bağlardır. Katlanmada ortaya çıkan diğer bağlanma etkileşimleri çok daha zayıftır, ancak çok fazla olduğu için, bir proteinin nasıl katlandığını belirlemede önemli etkileşimler meydana gelmektedir. Şekil 1.7'de, bir tür üçüncül yapı olan bir kolajen üçlü sarmal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 0.6 Kolajen üçlü sarmal (Canpolat, 2013)

Çoğu protein, özellikle moleküler kütleyle sahip olanlar, birden fazla polipeptit zincirinden oluşur. Bu polipeptit alt birimleri, belirli bir geometri ile ilişkilidir. Bu alt birimlerin uzamsal düzenlemesi, bir proteinin dörtlü yapısı olarak bilinmektedir.

Bir proteinin birden fazla polipeptit zinciri varsa, dörtlü yapıya sahiptirler. Bir proteinin dörtlü yapısı, tek tek protein zincirlerinin birbirine göre düzenlenme şeklidir. Birden fazla peptit zincirine sahip olan proteinlere oligomer denir. Tek tek zincirlere alt birim denir. Alt birimler, belirli bir üç boyutlu yapıda bireysel protein zincirlerini tutan aynı tür etkileşimlerle bir arada tutulur: hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağı ve elektrostatik cazibe merkezleri.

### 1.2.2. Keratin Yapısı

Keratin, çeşitli canlı dokulara yapı sağlayan son derece dayanıklı bir proteindir. Memeli kılları ve toynakları, memeli ve sürüngen tırnakları ve boynuzları, sürüngen ve balık pulları, kuş tüyleri, kuş gagaları ve çoğu hayvanda en dıştaki deri tabakasının önemli bir bileşenidir. Keratin, bu dokulara sert, lifli bir matris sağlamaktadır. Keratin'in önemli bir kalitesi, yırtılmadan çoklu yönlerde esneme yeteneğini göstermesidir.

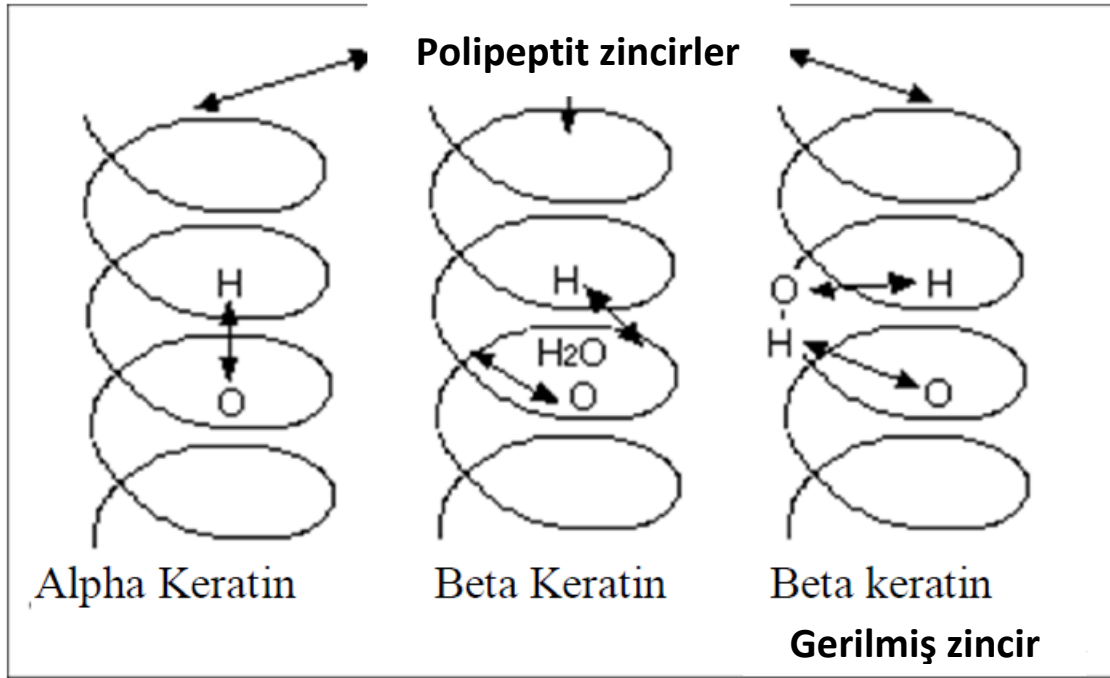
Tablo 1.1. Amino-asit bileşimi (mol / 100 mol) kütikül (üst deri), korteks ve keratin (Moore ve ark. 2006)

Amino asit	Kısaltma	Keratin	Üst deri	Korteks
Sisteik Asit	Cyso <sub>3</sub>	-	1,84	0,68
Aspartik Asit	Asp	4-6	3,47	5,73
Treonin	Thr	3-5	4,96	8,08
Serin	Ser	9-15	16,32	11,7
Glutamik Asit	Glu	8-11	11,06	13,9
Prolin	Pro	7-9	10,92	8,86
Glisin	Gly	6-11	9,66	6,37
Alanin	Ala	3-5	6,06	4,96
Lantiyonin	Lan	-	0,46	-
Valin	Val	5-7	8,05	6,13
Sistin	(Cys) <sub>2</sub>	7-20	9,39	8,94
Metiyonin	Met	0,3-1,3	0,47	0,29
İzolösin	Ile	3-5	2,22	2,86
Lösin	Leu	7-9	4,79	6,8
Tirosin	Tyr	2-5	1,29	1,68
Fenilalanin	Phe	4-5	1,67	1,92
Ornitin	Orn	-	0,25	1,49
Lizin	Lys	0,5-1,2	3,56	2,9
Histidin	His	0,4-1	0,57	0,99
Arginin	Arg	5-6	2,87	6,96

Presland ve ark. (1989a, 1989b), tüylü 3-keratinlerinin, embriyonik tüydeki büyüme ve farklılaşma sırasında koordinasyonla sentezlenen yaklaşık 20 proteinden oluşan çokgen bir aile oluşturduğunu bildirmişlerdir. O'Donnell'e (1973) göre, farklı tüy kısımlarının amino asit bileşiminde sadece küçük farklılıklar varmış. Tüy keratinlerinin moleküler kütlesi yaklaşık 10000 g / mol'dür. Şimdiye kadar belirlenen tüy proteinlerinin amino asit dizileri arasında yüksek derecede homoloji bulunmaktadır. Kalıntıların dağılımı oldukça homojen değildir, bazik ve asidik kalıntılar ve sistein kalıntıları N- ve C-terminal bölgelerinde konsantre edilmiştir. Sekans büyük ölçüde sistin, glisin, alanin, valin, prolin, glutamik asit, lösin ve serinden oluşur, ancak daha düşük miktarlarda lizin, metiyonin ve histidin oluşturmaktadır (Moore ve ark. 2006; Cheng ve ark. 2009). Keratinin amino asit içeriği, Tablo 0.1'de gösterilen ağırlıkça %2 ila ağırlıkça %18 ve önemli miktarda hidroksiaminoasit, özellikle serin olarak değişebilen yüksek bir sistin içeriği ile karakterize edilmiştir. Keratin, saç, yün, tüy, tırnak ve memeli, sürüngen ve kuş boynuzu gibi dış kaplama sağlayan başlıca yapısal lifli proteindir. Moleküler düzeyde, en belirgin özellik

sistein kalıntısındaki yüksek konsantrasyondur (toplam amino asit kalıntılarının %7-20 sayısı). Bu sistein kalıntıları, tavuk liflerinin mekanik, termal ve kimyasal özelliklerine karar veren moleküller arası ve moleküller arası disülfür bağları verecek şekilde oksitlenmiştir. Tavuk keratinleri kabaca iki gruba ayrılabilen bir protein ailesidir: ara filament proteinleri ve matris proteinleri.

Keratin'in mikroskopik yapısı dayanıklılığının ve esnekliğinin anahtarıdır. Bu proteinin molekülleri alfa helis adı verilen bobinlere bükülür ve birçok disülfür bağı (sülfür iyonu çiftleri arasındaki bağlar) içerir. Disülfür bağları özellikle stabildir ve proteinleri parçalamada uzmanlaşmış proteolitik enzimlerin etkisine karşı koyabilmektedir (Fraser ve ark. 1972).

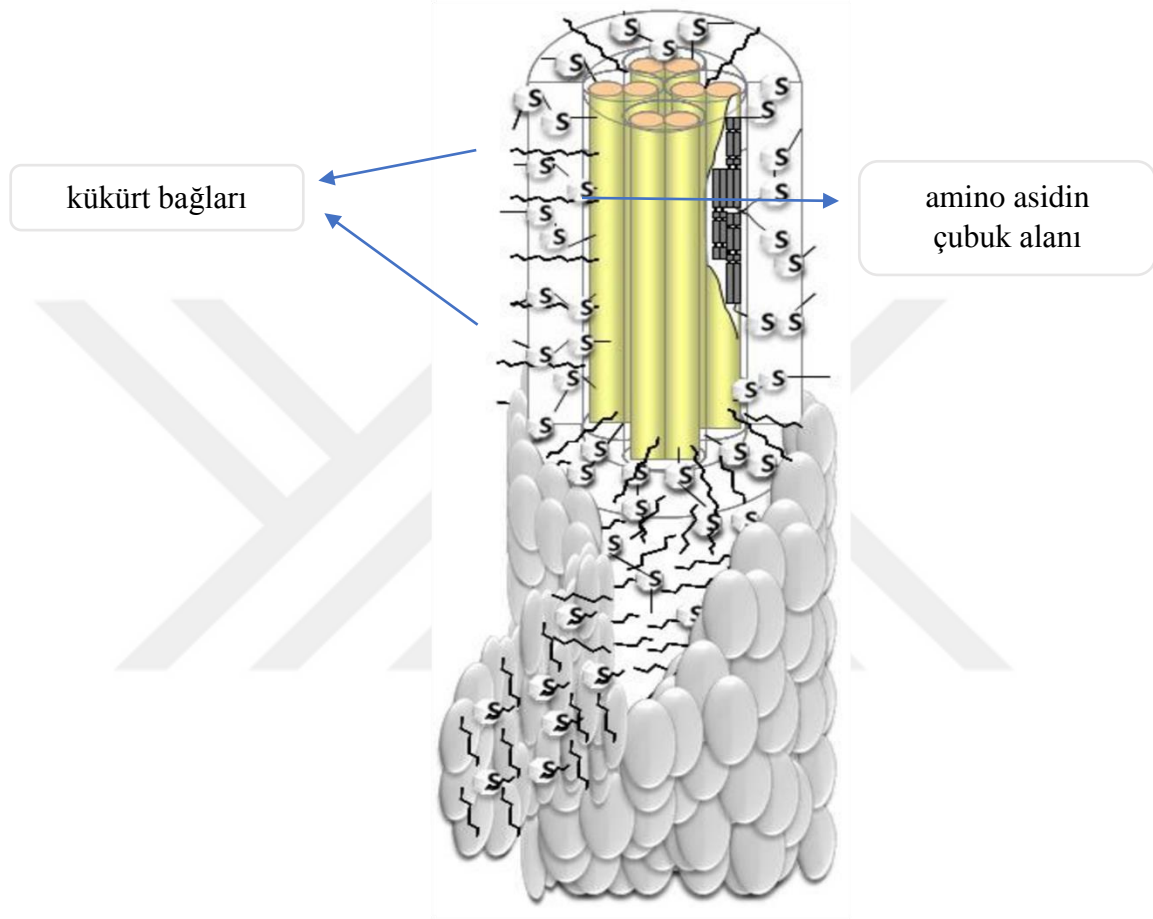


Şekil 0.7  $\alpha$ -keratin ve  $\beta$ -keratin (Canpolat, 2013)

$\beta$ -keratin veya beta-keratin ( $\beta$ -karoten ile karıştırılmamalıdır), alfa helisleri bakımından zengin lifli bir protein olan alfa-keratin'in aksine, yığılmış  $\beta$ -kıvrımlı tabakalar bakımından zengindir. (Şekil 1.8). Sert  $\alpha$  – keratin, memeli epidermal uzantılarında (kıllar, tüyler, boynuz, tırnaklar, vb.) Ve kuş tüyü ve sürüngen dokularında bulunan tüy  $\beta$ -keratinden farklı tavuk tüyünün orta kısmıdır. Saç en karmaşık biyolojik kompozit malzemedir.

Yüksek çözünürlükte orta filaman proteini (Şekil 1.9), bir amino asit heptad tekrar birimi içeren amino asit sekanslarının merkezi bir çubuk alanından yapılmakta ve halka bağlantıları ile ayrılmaktadır.

Çubuk alanının uç kısmında, çoğunlukla  $\beta$ -tabakalar halinde düzenlenmiş ve kükürt bakımından zengin bileşiklerden oluşan küresel C- ve N alanları bulunmaktadır.

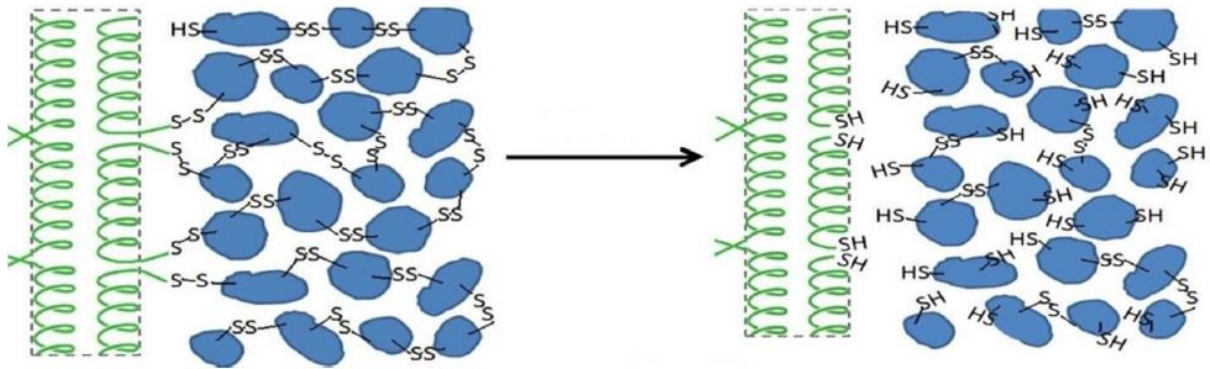


Şekil 0.8 Sert alfa keratinin 3-D yapısı (Canpolat, 2013)

İki sarmal sarmal dizisi, süper bir dimer oluşturmak için sarmal sargıdır. Orta çözünürlükte, yani disülfür amino asidinin çubuk alanı içindeki heterodimerlerin ara filamanları ara seviye düzenlemesi, moleküller, mikrofibril adı verilen bir toplulukta hem uzunlamasına hem de yanal olarak bulunmaktadır. Dimerler, enine kesitte 32 keratin zinciri ile uzun bir silindir şeklinde ara filaman oluşturmak üzere gruplanan tetramerler ile ilişkilidir. Daha düşük yapısal çözünürlükte, paralel ara filaman demetleri amorf ve düzensiz kristalin yanal ağda düzenlenmektedir. Bunlar, proteinlerle ilişkili ara filamanların kükürt açısından zengin bir protein matrisine gömülür ve sert a-keratin

liflerinin ana morfolojik bileşenleri olan bir makrofibril oluşturmaktadır (Popescu ve ark. 2007).

Keratinin kimyasal aktivitesi sistin içeriğine önemli ölçüde bağlıdır (Schrooyen ve ark. 2000). Keratinlerin, kollajen, elastin ve diğer büyük lifli proteinlerle karşılaştırıldığında ayırt edici bir özelliği, esasen disülfid bağlı dimerik amino asit sistin olarak bulunan büyük miktarda sistein tortusunun ortaya çıkmasıdır. Tiyoller ılımlı koşullar altında oksitlendiğinde disülfidler oluşturmaktadırlar. Bir disülfür, S-S bağı olan bir bileşiktir. Tiyoller disülfidlere oksitlenebildiğinden, disülfidler tiyollere indirgenebilmektedir. Sistein, bir tiyol grubu içeren bir amino asittir. Dolayısıyla iki sistein molekülü bir disülfite oksitlenebilmektedir. Bu disülfür sistin olarak adlandırılmıştır. Bu bir disülfür köprüsü olarak bilinmektedir. Disülfid köprüleri, bitişik olmayan amino asitler arasında oluşabilen tek kovalent bağlardır. (Şekil 1.10). Sistein kalıntılarını yakın tutarak bir proteinin genel şekline katkıda bulunmaktadır. Keratin, üç boyutlu yapısını korumak için birçok disülfid köprüsü veren alışılmadık derecede çok sayıda sistein kalıntısı (amino asitlerin yaklaşık %8'i) içermektedir. Bu geniş çapraz bağlama ve yüksek miktarda hidrofobik kalıntı nedeniyle, keratinler su gibi polar çözücülerde ve ayrıca apolar çözücülerde çözünmemektedirler. İki sistein molekülü arasında oluşan disülfür bağları, keratinin yüksek mukavemetinden ve proteolitik enzimlerin etkisine karşı direncinden sorumludurlar (Wrzesniewska ve ark, 2007). Öte yandan, keratin çok reaktiftir, çünkü sistin kolayca azaltılabilir, oksitlenebilir ve hidrolize edilebilmektedir.



Şekil 0.9 Peptitlerin kısımlarını çapraz bağlayan disülfür köprüleri (Canpolat, 2013)

Farklı keratotik materyallerde keratin düzeni ve yapısı çok karmaşıktır (Zoccola ve ark., 2008). Tüyler, tüy keratin olarak adlandırılan dirençli bir keratin tipi korneositlerden oluşan düzenli bir şekilde dallanmış dikenli ve tüylerden oluşan bir ağdan oluşmaktadır. Tüy keratinleri, moleküllerinin bazı bölgelerinde  $\beta$ -kırımlı tabakalar içermekte ve



filamanlar oluşturabilmektedirler. Boynuz ve toynaklar, kalın bir keratin kaplama ile çevrili bir kemik çekirdeğinden (toynaktaki distal falanks) oluşmaktadır. Farklı biyomekanik özelliklere ve moleküler ağırlığa sahip, değişen derecelerde sertlik ve kükürt konsantrasyonuna sahip keratin molekülleri tırnak dokusunda ifade edilmektedir.

Keratin içindeki sistein kalıntıları, mekanik olarak güçlü üç boyutlu bağlı keratin lifi ağına yol açabilecek moleküller arası ve moleküler disülfür bağları verecek şekilde oksitlenir (Martelli, S.M. ve ark. 2006). Yün ve tüylerin esnek fakat sert özelliği, keratin lifinin bu karakteristik yapısına atfedilebilir. Merkezi kısım hidrofobik kalıntılar açısından zengindir ve bir  $\beta$ -sarmal yapısına sahiptir (Arai ve diğerleri, 1983). Esasen geleneksel olarak yumuşak veya sert olarak sınıflandırılan iki tip keratin vardır (Schrooyen ve ark. 2001). Disülfür bağ içeriği düşük olan yumuşak keratinler nasır tabakalarında bulunurken sert keratinler tüy, saç, tırnak ve toynak gibi epidermal uzantılarda bulunur ve yüksek disülfür içeriğine sahiptir. Görünüşe göre, disülfür bağlarının miktarı, keratinöz bir materyalin epidermis gibi yumuşak, esnek ve genişletilebilir veya saç veya tüyler gibi sert, sert ve uzatılmaz olup olmadığını belirlemektedir.

Amino asit sekansına göre, keratin yapısında yaklaşık %40 hidrofilik kimyasal gruplara ve %60 hidrofobik kimyasal gruplara sahiptir. Protein molekülleri daha sonra bir  $\alpha$ -sarmalına, bir  $\beta$ -sarmalına veya gelişigüzel bir halkaya makro yapısına da yapışmaktadır (Schmidt ve Line, 1996). Keratin tüy lifi %41  $\alpha$ -sarmal, %38  $\beta$ -sarmal ve %21 rastgele (düzensiz) yapılarıdır.  $\alpha$ -sarmal yapı, protein omurgasındaki amid ve karbonil grupları arasında moleküller arası hidrojen bağları içerir.  $\beta$ -sarmal yapısı, protein omurgasındaki amid ve karbonil grupları arasında zincirler arası hidrojen bağı içerir. Hidrojen bağı, protein yapısındaki bağlı su ile ilişkilendirilebilir (Schmidt ve Jayasundera, 2003). Helisler kristaller oluşturmak için bir araya toplanabilir. Keratin tüy lifindeki yarı ve çapraz bağlı yapı, yaklaşık 3.4-5 GPa'lık nispeten yüksek elastik modüllü bir polimer ile sonuçlanmıştır.

### **1.2.3. Keratin-Kitosan**

Elyaf takviyeli polimerik kompozitler, çeşitli yapısal uygulamalar için kullanılmıştır ve petrol kaynaklarının tükenmesine alternatif bir çözümdür. Polimer matrislerin büyüyen doğal lif dizisi ile güçlendirilmesi, sürekli gelişme altında büyük bir araştırma alanıdır ve doğal liflerin ve yeşil polimer filmlerin özelliklerini çeşitlendirmek için yeni alternatifler yaratılmıştır (Vilaseca ve ark. 2007- Goda ve ark. 2006).

Doğal lifler, sentetik liflere çevre dostu alternatifler olarak yüksek performanslı, tamamen biyolojik olarak bozunabilir “yeşil kompozitler” geliştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Goda ve ark. 2006, Bambach, 2017). Doğal elyafların geleneksel takviye malzemelerine göre avantajları arasında düşük maliyet, düşük yoğunluk, iyi termal özellikler, gelişmiş enerji geri kazanımı ve biyolojik bozunabilirlik bulunmaktadır (Joseph ve ark. 2006, Li ve ark. 2007). Ayrıca, doğal lifler biyo-matrislerin mekanik özelliklerini etkileyebilir (Avella ve ark. 2009). Bununla birlikte, doğal polimer matrislerindeki doğal elyaf takviyeli kompozitlerin eksiklikleri, yüksek nem emme, zayıf ıslanabilirlik ve zayıf elyaf-matriks yapışmasıdır. Kompozitlerinin özelliklerini geliştirmek için, doğal takviye lifleri fiziksel ve kimyasal yöntemlerle değiştirilebilir (Vilaseca ve ark. 2007, Chang ve ark. 2009). Doğal lifler, liflerin kimyasal bir işleme tabi tutulmasına izin veren hidroksil gruplarına sahiptir. Kimyasal modifikasyonlar, fiber yüzeyi üzerinde daha reaktif gruplar ortaya çıkarır ve böylece matris ile etkili bir şekilde birleştirmeyi kolaylaştırır. Son yıllarda selülozik doğal liflerin performansını değiştirmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu liflerin mukavemetini, ebadını ve şeklini ve lif matriks yapışmasını geliştirmek için farklı yüzey işleme yöntemleri çalışılmıştır (Anike ve ark, 2014- Keener ve ark.2004).

Kimyasal modifikasyonun en yaygın ve verimli yöntemlerinden biri, neredeyse tüm doğal selülozik lifleri başarılı sonuçlarla işlemek için kullanılan liflerin alkali işlemesidir. Alkali işlemin lifler üzerinde iki etkisi olduğu bildirilmektedir: (1) daha iyi mekanik kitleme ile sonuçlanan yüzey pürüzlülüğünü artırır ve (2) lif yüzeyine maruz kalan selüloz miktarını artırır, böylece olası reaksiyon bölgesi sayısını artırır (Li ve ark. 2004, John, ve ark. 2008). Bu nedenle, alkali işleminin, fiber ile matris arasında daha iyi yapışma sağlamak için fiber yüzeyini değiştirmek için iyi bir teknik olduğu düşünülmektedir. Öte yandan, kompozit malzemelerde alternatif bir takviye olarak tavuk tüylerinden elde edilen keratin malzemelerinin bitkisel liflere bir alternatif ve sürdürülebilirliğe bir katkı olarak yeniden kullanılmasına odaklanması, son on yılda birçok araştırmacının kabulünü sağlamıştır.

Kümes hayvanı tüylerinden Keratin (Amerika Birleşik Devletleri tavukçuluk endüstrisi her yıl yaklaşık 1,5 milyar kg tavuk tüyü üretir (Cheng ve ark. 2009) kendi kendine toplanan hiyerarşik yapısı nedeniyle yüksek kararlılık gösteren lifli bir proteindir (Martinez-Hernandez ve ark. 2007). Tavuk tüyleri, diğer doğal veya sentetik liflerde bulunmayan benzersiz yapıya ve özelliklere sahiptir. Düşük yoğunluk, mükemmel sıkıştırılabilirlik ve esneklik, sesi sönümlenme ve sıcaklığı tutma yeteneği ve tüylü

dikenlerin ayırt edici morfolojik yapısı onları benzersiz lifler haline getirir (Reddy, 2007, Martinez-Hernandez, 2005).

Bununla birlikte, kompozitlerde tavuk tüylerinden keratin malzemelerinin kullanımına ilişkin araştırmalar, film üretmek için esas olarak sentetik polimerlere (Jimenez-Cervantes, 2014- Martinez-Hernandez, 2011, Martinez-Hernandez, 2007, Reddy, 2007) veya son zamanlarda bazı sentetik monomerlerle (Shi ve ark, 2014) birlikte odaklanmaktadır ve sadece birkaç raporda tüylerden elde edilen keratin malzemeleri ile takviye edilmiş tamamen doğal polimerlerin kullanımı üzerine yayınlanmıştır (Cheng ve ark. 2009- Barone, 2009). Son zamanlarda, kitosan-nişasta matrisinin takviyesi olarak keratin materyalleri (kısa lif, uzun lif ve tüy) ile yeşil kompozitlerin geliştiği bildirilmiştir (Flores-Hernandez, 2014). Bu rapor, keratin dolgu maddeleri ile polimer matrisi arasındaki iyi arayüz ve uyumluluk nedeniyle yeşil kompozitlerde gelişmiş mekanik ve termomekanik özelliklerin kanıtını göstermiştir. Bu sonuçlardan dolayı, burada sunulan çalışmada, kompozitlerde bilinen etkileri iyileştirmek için ortak bir modifikasyon yöntemi kullanılır, ancak şimdi işlevsel keratin dolgu maddeleri kullanılmaktadır.

#### **1.2.4. Keratin-Kitosan Uygulama Alanları**

Dokular doğal bir keratin kaynağıdır. Keratinler “yumuşak” ve “sert” olarak sınıflandırılır. “Yumuşak” keratinler epitel dokusunda bulunabilir. Ayırıtılması nispeten kolaydır. Saç, tırnak, boynuz, toynak veya tüy gibi fibriler yapılarda bulunan koruyucu dokular “sert” keratinlerden yapılır. “Sert” keratinler, yüksek sülfür içeriğine sahip, bozulmaya karşı yüksek direnç gösteren 2 fazlı yapılardır. “Sert” keratinler biyomedikal çalışmaların konusudur.

Suda çözünmezlikleri ve sınırlı ekstraksiyon ve işleme yöntemleri nedeniyle, keratin dar uygulamalar için kullanılmıştır. Geçmişte rejeneratif tıp için biyomateryal olarak kullanılmaktadır. Son birkaç yılda, özellikle yün kaynaklı keratin ile ilgili olarak, keratin ve modifikasyonlarına ilgi artmıştır.

Yamauchi ve Tachibana (1998), keratin kaplama ve keratin-kitosan kaplamalar üzerinde fibroblastların dağılım derecesinin arttığını açıkladı.

Fuji (2008), insan saçı proteinlerinin sıçan lakositleri üzerindeki etkisini araştırdı.

Kakkar ve Verma (2014) doku mühendisliğindeki uygulamalar için insan saçının protein yapısının hazırlanmasını tarif etti.

Rouse ve ark. (2010) araştırma grubu, saç keratini bazlı hidrojelleri ve gözenekli yapıları ve bunların hücreler ve dokularla etkileşimlerini araştırdı.

Son zamanlarda, biyomedikal uygulamalarda keratin bazlı biyomalzemelerin kullanılması için girişimlerde bulunulmuştur. Konuyla ilgili literatürde, oküler yüzeylerin rekonstrüksiyonunda keratin kaplamaların kullanılmaya çalışıldığı da belirtilmektedir (Stephan ve ark,2011).

Geri dönüşüm en umut verici çözüm gibi görünse de çevresel problemler, kitin ve kitosan gibi doğal biyolojik olarak bozunabilir polimerler de çeşitli uygulamalarda ümit verici çözümlerdir ve bunların arasında gıda ambalajı öne çıkmaktadır. Özellikle kitosan, tatmin edici mekanik ve gaz geçirgenliği özelliklerine sahiptir ve bu antimikrobiyal özellikleri ile birlikte hem yenilebilir filmler hem de gıda kaplama ağır metal kompleksi ve farmasötik uygulamalar için en etkili ve yaygın olarak incelenen malzemelerden biri olduğunu kanıtlamıştır. (Arvanitoyannis i., 1999)

Keratin mükemmel biyolojik özelliklere ve iyi mekanik özelliklere sahip olduğundan, analiz ve fiziksel testler kimyasal modifikasyonu, malzemeler, biyoloji, tıp ve daha geniş uygulamaların diğer yönlerinde olmuştur. Temelde şu alanlarda kullanılır: Keratin biyoyumlu malzemeler, iplik lifli keratin, keratin membran malzemeleri, canlı organizmalar ve taşıyıcısı mikrokapsüller (Zhao ve ark. 2012).

Tavuk tüyü lifleri, naylon benzeri dayanıklılığa ve ahşap liflerinden daha küçük çapa sahip bir protein olan hidrofobik keratin'den oluşur. Tavuk tüyü liflerinin şaşırtıcı bir kalitesi, polimer esaslı kompozitlerin mekanik zorlamaya karşı direncini artıran ve nispeten yüksek elastik modül ( $3.4 \div 5$  GPa) sağlayan yarı kristallik ve çapraz bağlantı yapılarıdır. Ayrıca, tavuk tüyü lifleri yüksek uzama katsayısı ile karakterize edilir. Yukarıda belirtilen nitelikler, tavuk tüyü liflerinin polimer takviyesi olarak başarılı bir şekilde uygulanması potansiyelini göstermektedir.

Keratin-kitosan, ilaç, medikal, kozmetik ve biyoteknoloji endüstrilerine büyük ilgi duymaktadır. Tüydən elde edilen keratin malzemeleri çeşitli şekillerde, süngerlerde, yastıklama tabakalarında, kaplamalarda, jellerinde, mikrofiberlerde ve yüksek ağırlıkta malzemelerde gözenekli köpüklere dönüştürülebilir. Antijen olmayan keratinler, yaraların iyileşmesi ve doku rekonstrüksiyonu üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Keratin implant tabakası, yapısı veya biyomalzeme çevre dokular tarafından absorbe edilebilir (Cardamone,2010).

Protein yapıları olan keratine ve kitinden türetilmiş bir başka polisakkarit olan kitosan (CS), kanamayı durdurma (hemostaz), yaraları iyileştirme, bakterileri öldürme ve organik ve inorganik kirleticileri adsorbe etme yeteneğine ek olarak güçlü mekanik özelliğe sahiptir (Trana ve ark, 2013- Harkins ve ark,2014).

Son zamanlarda, birçok farklı uygulama için biyopolimer malzemeler geliştirmeye ilgi duyulmaktadır. Doğal veya sentetik biyopolimerler biyolojik olarak uyumludur ve dolayısıyla implantasyon veya ilaç dağıtımını gibi biyomedikal uygulamalar için uygundur. Ek olarak, biyopolimerler, sentetik ürün polimerlerine alternatif olarak kabul edilmektedir, çünkü biyopolimerler biyolojik olarak parçalanabilir veya çevre dostudur. Sürdürülebilir kaynaklardan elde edilen biyopolimerler bu açıdan petrol türevi polimerlere göre belirgin bir avantaja sahip olacaktır (Barone ve ark, 2004).

Tavuk tüyleri geleneksel ilaçların bir parçası olarak kullanılır. Örneğin, Güney Amerika'da, kondor tüyleri kullanılarak üretilen harmanlar, geleneksel ilaçların bir parçası olarak ve Hindistan'da kullanılmaktadır; Hint tavus kuşu tüyleri, kısırlık, korsanlık ve yılan ısırıkları için geleneksel ilaçların bir parçası olarak kullanılmıştır (Murari ve ark. 2005).

Kitosan, sadece biyofarmasötik ve biyomedikal uygulamalar için değil, aynı zamanda gıda bilimi ve teknolojisi için de bilimsel araştırmalarda en çok çalışılan polimerlerden biri haline gelmektedir (Bellich ve ark, 2016).

Keratin güzellik ürünlerinde kullanılabilir hale getirmek için öğütülmüş insan saçından olağandışı malzemeler kullanma konusunda uzun bir geçmişe sahiptir. Hidrolize keratin tipik bir kozmetik bileşene dönüşmüştür (Barba ve ark, 2007). Keratinin temel kapasitesi, insan hücresinin korteksini, örneğin ısı, günlük bakım ve kimyasallar gibi faktörlerin neden olduğu yaralanmalardan korumaktır. Hidrolize keratinin topikal uygulaması cildin esnekliği ve hidrasyonunda dikkate değer bir artış sağlar. Nemlendirici özellikleri nedeniyle, keratin şampuanlar ve saç kremlerine, saç dökülmesini gizleyen ürünlere ve saç kalınlaştırıcı aksesuarlara birleştirilebilir.

Sert keratinler, yumuşak keratinlere kıyasla gelişmiş mekanik mukavemetlerini veren disülfid bağları yoluyla etkileşime giren büyük miktarlarda sisteinlere sahiptir. Heriki grup da kendiliğinden biyouyumluluk, biyolojik olarak bozunabilirlik, mekanik dayanıklılık ve doğal bolluğa sahiptir, bu da keratinleri biyomateryal uygulamalarıyla ilgili çalışmalarda çok popüler kılmaktadır (Vasconcelos ve ark. 2008-2013, Rouse ve ark., 2010).

## 2. KONU İLE İLGİLİ LİTERATÜR ÇALIŞMALARI

Schrooyen ve ark (2000) çalışmalarında tavuk tüylerinden ekstrakte edilen serbest sistein tiyol keratin grupları iyodoasetik asit ile kısmen karboksimetillendirmişlerdir. Bu işlem için tüyler (30 g) optimize edilmiş koşullar altında (750 mL, 8 M üre, 3 mM EDTA, 125 mM 2-merkaptoetanol, 200 mM Tris, pH 9,0, oda sıcaklığı) çözdürmüşlerdir. Çözünmeyen kalıntıdan süzme işlemi ayrıldıktan sonra, %3 (a/h)'lük keratin çözeltisi elde etmişlerdir. Tüylerden izole edilen keratinler, moleküler ağırlığı 10 kDa olan, 7 mol sistein/mol tüy keratin içeriyordu. Filmlerin hazırlanması için plastikleştirici olarak gliserol kullanılmış (0,05-0,47 g/g keratin) ve filmler sabit bir bağıl nemde (20, 30, 50, 70 veya %90) saklanmıştır. Yüksek miktarda sistein karboksimetillenen filmlerde kristallik derecesi daha yüksek çıkmıştır. Filmlerin, ~%50 sistein karboksimetil içerenlerinde mekanik özellikler yüksek performans göstermiştir. Bu optimumdaki kopma uzaması %50 çıkmıştır. Bunun nedeni hem disülfid bağlarının azalmasından hem de daha yüksek derecelerde sistein modifikasyonu olduğundan artan kristallik derecesinin bir sonucu olarak açıklanmıştır.

Tanabe ve ark. (2002) çalışmalarında 9 g yünü 8 M üre, 0,26 M SDS ve 1,66 M 2-merkaptoetanol içeren 100 ml su çözeltisinde ekstrakte etmişlerdir. Oluşan çözeltiyi süzmüş ardında üç gün boyunca saf su içerisinde diyaliz yöntemiyle safsızlaştırmışlardır. Daha önce hazırladıkları 100 ml %75 lik asetik asit çözeltisinde 250 mg kitosanı homojen bir karışım oluşana kadar karıştırılmıştır. Oluşturulan her iki karışımdan belli oranlarda karıştırılarak film oluşturulmuştur. Oluşturulan filmler gece boyunca 50°C'de etüvde kurumaya bırakılmıştır. Filmlerin kalınlığı ortalama olarak 0,01-0,02 mm aralığında bulunmuştur. Oluşturulan filmlerin kitosan oranı %5 den az ise film kırılğan bir yapı almış ve mekanik özellikleri bakımında keratin film ile aynı özellikleri göstermiştir. Bununla birlikte ağırlıkça %10 kitosan içeren keratin filmler esnek ve nihai güç ve nihai uzama iyi bir şekilde değerlendirmişlerdir. Ayrıca filmlere gliserol ilavesi yaparak daha esnek ancak daha düşük mukavemetli filmler elde etmişlerdir. Keratin-kitosan filmin bakterileri inhibe özelliklerine bakılmış ve E.coli ile yapılan temas yöntemiyle bakterilerin çoğalmasını inhibe ettiği gözlemlenmiştir.

Barone ve ark (2004) Kanatlı hayvan tüylerinden elde ettikleri keratini, plastikleştirici görevi gören gliserol ile modifiye etmişlerdir. Yaklaşık 0,0053 cm uzunluğundaki tüyler bilyalı değirmende öğütülmüş ve toz şekline dönüştürülmüştür.

Öğütülmüş tüy lifi, 0,1 ila 0,0038 cm'lik delik boyutlarına sahip bir elek ile elenmiştir. İstenilen lif fraksiyonunu elde etmek için 15 dakikadan fazla kuvvetlice elenmiştir. Keratine ağırlıkça %15 ila %80 gliserol ilave edilmiştir. İlk olarak lifler karıştırma kabına konulmuş ve sonra gliserol yavaş yavaş ilave edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra 5 g numune, alüminyum folyo arasına bir miktar numune konulmuş ve sandviç haline getirilmiştir. Preste 160 °C'de, 88,964 N'da 2 ila 8 dakika süreyle film şekline preslenmiştir. Film çıkarılmış ve oda sıcaklığına ulaşana kadar soğumaya bırakılmıştır. Elde edilen film çapı ve kalınlığı gliserol içeriğine bağlı olarak değişmiştir. Filmlerin çapı, ağırlıkça %15 ve %50 gliserol filmler için sırasıyla 8 ila 12 cm arasında gözlemlenmiştir. Filmlerin kalınlığı ağırlıkça %15 gliserol için 0,10 cm ila ağırlıkça %50 gliserol için 0,04 cm arasında kaydedilmiştir. Bu nedenle, uygulanan gerilme ağırlıkça %15 ve %50 gliserol filmler için sırasıyla 16 ila 7 MPa olarak bulunmuştur.

Wrześniewska ve ark. (2007) de yaptıkları çalışmada tüylerden farklı keratin formları elde etmişlerdir. Tavuk tüylerinden keratin elde etmek için optimum bir ekstraksiyon yöntemi geliştirilmiş ve selüloz ve aljinat(polisakkarit) gibi diğer biyopolimerlerin eklenmesiyle stabil keratin çözeltileri elde etmişlerdir. Tavuk tüyleri ağırlıkça %5'lik bir NaOH çözeltisi ve 0,1 M'lik Na<sub>2</sub>S çözelti içerisinde ekstrakte edilmiştir. Modifiye edilmiş ve edilmemiş keratin özellikleri Tablo 0.1 de gösterilmiştir. Elde edilen keratin partikülleri, ekstrakte edilen maddeye (NaOH veya Na<sub>2</sub>S) bağlı olarak beyaz veya bej bir toz formu oluşturmuşlardır. Nitrojen içeriği %9,5 ila 15,2 ve sülfür içeriği %1,70 ila 2,37 arasında karakterize edilmiştir. Ekstrakte verimliliği %30-40 aralığında bulunmuştur.

Tablo 2.1 Hazırlanan keratinlerin temel özellikleri (Not: verimlilik 100 g tüy başına çıkarılan keratinin yüzde değeri) (Wrześniewska ve ark. 2007)

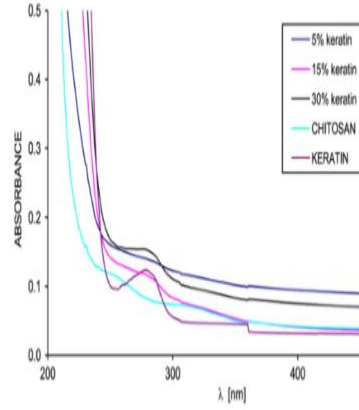
Numune	Renk	Nitrojen içeriği, %	Sülfür içeriği, %	Nem, %	Verimlilik, %
A	Beyaz	15.20	2.30	5.9	40
B	Beyaz	14.80	2.10	6.0	38
C	Bej	9.53	2.10	6.1	40
D	Bej	11.40	1.71	5.8	41
K I	Beyaz	15.23	2.30	4.2	30
K VIII	Beyaz	15.09	2.07	5.9	37
K IV	Beyaz	14.46	2.10	6.0	35
B\m1	Beyaz	14.79	2.37	5.9	35
B\m2	Beyaz	14.90	2.17	6.9	30
B\m3	Beyaz	14.07	2.07	6.2	32

Fujii ve ark. (2008) de tavuk tüyünden keratin ekstrakte etmek için Shindai ve daha önce başka literatürlerde de verilmiş olan geleneksel yöntemi denemişlerdir. 20 mM Tris-HCl (pH 8.5), 2.6 M tiyoüre, 5 M üre ve %5 2-merkaptoetanol kullanılarak 50 ° C'de 24 saat boyunca Shindai yöntemi ile keratin ekstraksiyonu yapmışlardır. Ayrıca ekstraksiyon 20 mM Tris-HCl (pH 8.5), 8 M üre ve %5 2-merkaptoetanol kullanılarak geleneksel yöntemle ile de ekstraksiyon yapmışlardır. Elde edilen sonuçlar ışığında shindai yönteminin geleneksel yöntemden daha verimli olduğunu bulmuşlardır.

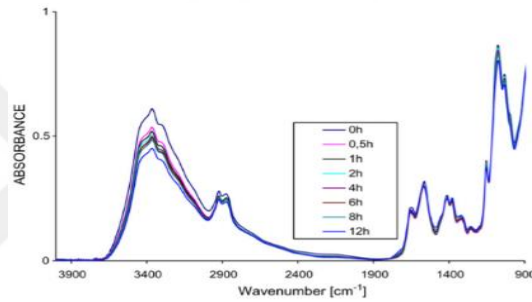
Mokrejs ve ark. (2010) bu çalışmada atık tüylerinin iki aşamalı alkalın-enzimatik hidrolizi yoluyla keratin hidrolazını elde etmeyi incelemiştir. İlk aşamada tüyler, KOH çözeltisi ile muamele edilmiş ve 24 saat süreyle inkübe etmişlerdir. PH'ı 9'a ayarladıktan sonra, ikinci işlem aşamasında indirgenen tüylerin miktarı üzerinde proteolitik enzim ilaveleri, süre ve sıcaklık etkilerini incelemiştir. Tüylerin %0,3 KOH ile işlenmesi ve 70 °C'de ikinci aşamada 8 saat hidrolize edilmesi ile %5 doz enzim (kuru tüy ağırlığına göre) ile yaklaşık %91 dönüşüm meydana gelmiştir. Atık tüylerinin %0,3 KOH ortamında alkalın-enzimatik hidrolizinin iki aşamalı teknolojisi, oldukça hafif reaksiyon koşullarında (hafif alkali bir bölgede pH ile 70 °C'yi aşmayan sıcaklık) yüksek verim sağlamıştır ve ekonomik açıdan uygulanabilirliği araştırılmıştır. Keratin hidrolizatının, ambalaj teknolojisinde (filmler, folyolar ve kapsüller) özel bir uygulama alanı bulabileceğini bildirmişlerdir.

Sionkowska ve ark. (2010) kitosan ve kitosan içeren keratin hidrolizatlarının mekanik, termal ve yüzey özellikleri incelemiş ve UV ışınlamasının bu özellikler üzerindeki etkisini karşılaştırmışlardır. UV ışınlamasından önce ve sonra %5, %15 ve %30 keratin hidrolizatı içeren kitosan filmlerinin yüzey özellikleri, yüzey serbest enerjisinin hesaplanmasına izin veren temas açısı ölçümleri araştırmışlardır. UV ışınlaması sırasındaki kimyasal ve yapısal değişiklikler, UV-vis (Şekil 2.1) ve FT-IR (Şekil 2.2) spektroskopisi ile incelemiştir. Kopma mukavemeti, yüzeyde uzama ve young modülü gibi mekanik özelliklerde meydana gelen değişiklikler araştırılmıştır. Sonuçlar, kitosan/keratin filmlerinin mekanik özelliklerinin UV ışınlamasından büyük ölçüde etkilendiğini, ancak bu özelliklerin saf kitosandan daha az olduğunu göstermiştir. UV ışınlaması, temas açısı ve yüzey serbest enerjisi, foto-ışınlama ve numunelerin polaritesinde de bir artış göstermiştir. Bu değişikliklerin aralığı, kitosanın keratin varlığında foto oksidasyona daha fazla yatkın olduğuna işaret etmiştir.





Şekil 0.1 Işınlandırılmamış kitosan ve kitosan-keratin karışımlarının UV-vis spektrumları Sionkowska ve ark. (2010).

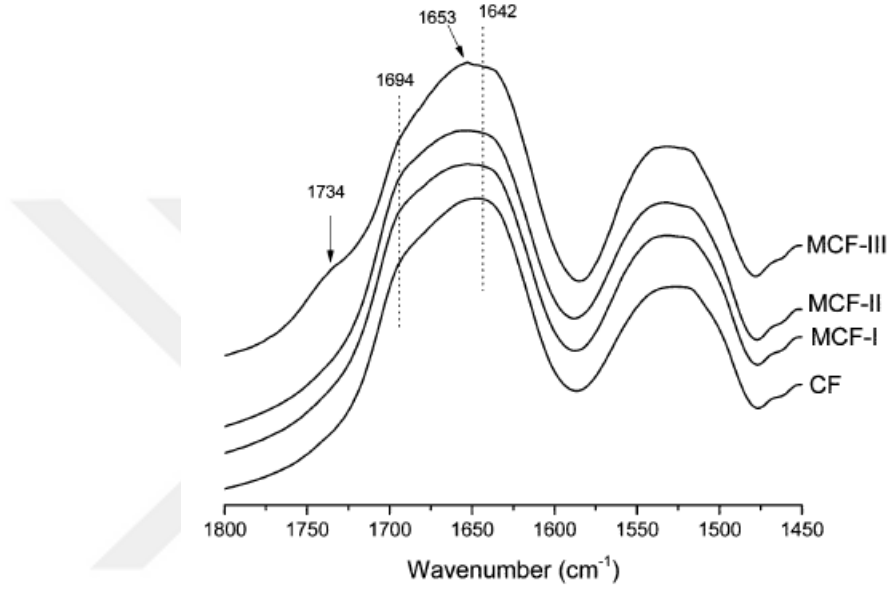


Şekil 0.2 UV ışınlamadan önce ve sonra kitosan / keratin filminin (95/5) FTIR spektrumları. Işınlama zamanı çizelgede verilmiştir (Sionkowska ve ark. 2010).

Martelli ve Laurindo (2012) bu çalışmada tavuk tüyünden keratin ekstrakte etmişlerdir ve farklı molekül ağırlıklarına sahip polietilen glikol (PEG) ile oluşturdukları filmlerin çözünürlüğünü ve su buharı geçirgenliğini araştırmışlardır. İndirgenmiş keratin çözeltisi farklı molekül ağırlıklarına sahip PEG (400, 1500, 4000, 6000) ile karıştırılarak film oluşturmuşlardır. Oluşturdukları filmleri petri kabına dökmüş ve 30°C 24 saat kurumaya bırakmışlardır. Filmlerin kalınlıkları, plastikleştirici konsantrasyonunun artırılmasıyla da artmıştır. PEG'lerle hazırlanan filmler 24 saat suya batırıldıklarında bütünlüklerinde herhangi bir hasar göstermemiştir. PEG ile oluşturulan filmlerinin sudaki çözünürlükleri plastikleştirici konsantrasyonunun artmasıyla artmıştır. Düşük moleküler ağırlıklı PEG ile yapılan filmler için daha yüksek su buharı geçirgenliği gözlenmiştir (peg 400).

Arshad ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, tavuk tüylerinin kimyasal modifikasyonunu incelemişler ve arsenik giderimine bakmışlardır. Üç farklı modifikasyon ile tavuk tüyünden keratin ekstrakte etmişlerdir. Alkali sulu çözelti (MCF-I)

ile ekstraksiyonu NaOH ile optimum şartlarda yapmışlardır. Sodyum sülfid destekli ekstraksiyon (MCF-II) 5 gr  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ (Sodyum sülfid) hacimce %10 EDTA ve tris 100mL çözelti içerisine 10 gr tüyden ekstraksiyon yapmışlardır. Metil alkol (MCF-III) ile ekstraksiyon 250mL hacimce 2% HCl ve 6%  $\text{CH}_3\text{OH}$  içerisinde bulunan 10 gr tüyden ekstraksiyon yapmışlardır. Elde ettikleri numunelerin yapılarını FT-IR spekturumu ile aydınlatmışlardır. (Şekil 2.3) Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, MCF-III'ün arsenik giderimi için çok uygun ve uygun maliyetli bir biyosorbent olduğunu göstermiştir.



Şekil 0.3 CF, MCF-I, MCF-II ve MCF-III'ün FT-IR spektrumları. CF, MCF-I, MCF-II ve MCF-III için, yoğunluk  $3200 \text{ cm}^{-1}$  'de normalleştirilir (Arshad ve ark. 2013).

Raja ve ark. (2013) elde ettikleri keratin çözeltisini jelatin ile karıştırarak keratin yapıştırıcısı olarak isimlendirmişlerdir ve keratin yapıştırıcısını bir yara modelinde denemişlerdir. Keratin ekstraksiyonunu Shindai yöntemi ile insan saçından elde etmişlerdir. 10 M üre, %5 SDS, %5 2-merkaptolanol içeren 250mL deney tüpüne 10 gr insan saçı ekleyerek ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri keratin çözeltisini belli oranlarda sırasıyla jelatin-keratin (10:0, 10:2, 10:3, 10:4, 10:5 ve 10:6) ile birleştirerek keratin yapıştırıcısı elde etmişlerdir. Bir yara üzerine kullanılan yapıştırıcı 20 günün sonunda kontrol grubu ile kıyaslanmış ve gözle görülür bir iyileşme gözlemlenmiştir.

Xiao-Chun Yin ve ark. (2013) Kontrollü ilaç dağıtım sistemleri için keratin kullanılarak gözenekli keratin filmlerinin üretimini rapor etmişlerdir. Bu makalede, tüylerden keratin yüksek verimli bir yöntem kullanılarak ekstrakte etmişlerdir. Elde edilen saf keratin verimi %93 bulmuşlardır. Elde ettikleri keratinini indirgenmiş sulu dispersiyonu belli oranlarda gliserol ile karıştırılarak film oluşturmuşlardır. Ortalama filmlerin

kalınlığını 0.15–0.25 mm olarak bulmuşlardır. Oluşturulan fimlerin gliserol oranı %20 den az olduğu zaman mekanik özelliklerine bakılması zor ve kırılğan bir yapı elde etmişlerdir. Bununla birlikte, %30 gliserol ile karıştırılan keratinden hazırlanan film, nihai mukavemeti ve nihai uzama oldukça esnek ve güçlü bir şekilde değerlendirilmiştir. Keratin filminin ilaç salım hızları için kontrol edilebilir davranışını araştırmak amacıyla da keratin filmlerine rodamin B (RB) yüklenmiştir. Farklı pH değerlerinde ilaç yüklü keratin filmlerinin salım davranışı araştırılmıştır. PH 7.5'te, RB salım hızı nispeten hızlıydı ve yüklü RB'nin yaklaşık %94'ü, ilaç yüklü keratin filmlerinden 12 saat içinde serbest kalmıştır.

Rosewald ve ark. (2014) bu çalışmada yeni kompozitler keratin (KER), selüloz (CEL) ve kitosan (CS) sentezlemişlerdir. [KER + CEL / CS] oluşturdukları kompozitlerin bakteriyel özelliklerini incelemişlerdir. Deneysel olarak, her bir bileşenin benzersiz özelliklerinin kompozitlerde, yani bakterisit (KER ve CS'den) ve anti-enflamatuar özellik (KER'den) bozulmadan kaldığı doğrulanmıştır. Bu kompozitlerin Eschericia coli gibi organizmaların büyümesini önemli ölçüde azalttığını göstermiş ve sonuç olarak yeni kompozitlerin yara örtüsünde etkin kullanımı için gerekli tüm özelliklere sahip olduğunu açıkça gösterilmiştir.

Tanase ve Spiridon (2014) PLA (polilaktik asit), kitosan ve keratin bazlı yeni kompozitler elde etmişlerdir. Bu kompozitlerin amacı mekanik davranışlarını incelemektir. Sonuçlar, geliştirilmiş Young modülü ve azaltılmış gerilme mukavemeti, sertlikte önemli bir artış (PLA'ya kıyasla) ve yüzeyde iyi özelliklere sahip kompozitler görülmüştür. Yapılan denemelerde bu kompozitler tıbbi alanda ileriye dönük uygulamaya sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Kakkar ve ark. (2014) keratinin yakın geçmişte biyoyumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği, içsel biyolojik aktivitesi ve hücresel bağlanma motiflerinin varlığı nedeniyle yara iyileşmesi için bir biyomateryal olarak çok dikkat çekmiştir. Bu çalışmada dondurarak kurutma yöntemiyle keratin, kitosan ve jelatin içeren yeni bir biyomimetik iskele hazırlamışlardır (Şekil 2.4). Hazırlanan keratin kompozit yapı iskelesi iyi yapısal bütünlüğe sahip özellik göstermiştir.

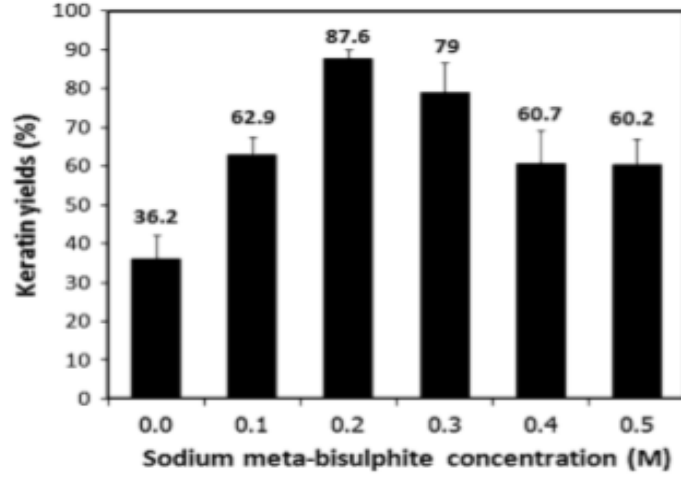


Şekil 0.4 Dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan Keratin kompozit yapı iskelesi (Kakkar ve ark. 2014).

Edwards ve ark (2014) biyomedikal uygulamalar için poli (e-kaprolakton) / keratin bazlı kompozit nanofiberleri incelemişlerdir. Keratin ekstraksiyonunu insan saçından elde etmişlerdir. PCL (poli e-kaprolakton) ve keratin çözeltileri ayrı ayrı hazırlamış ve daha sonra farklı oranlarda bir stok çözeltisi oluşturmak için karıştırmışlardır. PCL, ağırlıkça %10 TFE (trifloroetanol) içerisinde ve keratin, ağırlıkça %10 DI (Deiyonize Su) su içinde çözdürülmüştür. Daha sonra, PCL/keratin çözeltisi, PCL'nin 90:10, 80:20, 70:30 ve 60:40 oranlarında keratin ile karıştırılmasıyla oluşturulmuştur. Çözelti karışımları, her çözelti elektrospinning için hazır homojen bir harmana ulaşıncaya karıştırılmıştır. Elektrospinning içerisine harmanlanmış nanofiberler, yaklaşık 8 mL PCL/keratin çözeltisi tek kullanımlık bir şırınga içine yerleştirilmiştir. Nanofiber membranların kalınlığı, dijital mikrometre ile ölçülen 100-160 mm aralığında elde edilmiştir. Bu nanofibröz membranın doku mühendisliğinde potansiyel kullanımına yönelik olarak, morfoloji, mekanik mukavemet, kristallik, kimyasal yapı ve sulu ortamdaki bütünlük gibi fizikokimyasal özellikleri incelenmiş ve hücre uyumluluğu belirlenmiştir. 100/00 ila 70/30 arasında PCL / keratin oranlarına sahip nanofibröz membranlar, fiber morfolojisinde iyi uygunluk ve uygun mekanik özellikler göstermiş ve tamponlu çözeltilerdeki lifli yapılarının bütünlüğünü korumuştur. Protein ve sentetik polimerlerden harmanlanmış nanofiberlerin üretilmesi, biyomedikal uygulamaları destekleyecek yapısal ve malzeme özelliklerine sahip kompozit malzemelerin geliştirilmesinde önemli bir ilerlemeyi temsil etmektedir.

Ayutthaya ve ark (2015) bu çalışmada keratin, çeşitli sodyum metabisülfid konsantrasyonları (0,0-0,5 M) kullanılarak çevre dostu bir yöntem olan sülfitoliz yöntemi ile atık tavuk tüyünden keratin ekstraksiyonu yapılmıştır. Verimin 0,2M sodyum

metabisülfite konsantrasyonu kullanılarak maksimum %87,6 verime yükseldiği bulunmuştur. (Şekil 2.5) Sodyum metabisülfite konsantrasyonunun artmasıyla birlikte numunelerin moleküler ağırlık aralığı azalmıştır. 12 ve 20 kDa arasında en yüksek moleküler ağırlığına sahip ekstrakte edilmiş keratinler ayrıca elektrospinning işlemi kullanılarak lifleri oluşturmak için kullanılmıştır. Keratinin ağırlıkça %10'dan fazla PLA ile karıştırılmasıyla lifler hazırlanmıştır.



Şekil 0.5 Sülfitoliz ekstraksiyonundan keratin verimleri (Ayutthaya ve ark. 2015)

Sinkiewicz ve ark. (2016) bu çalışmada, yeni biyo ürünün oluşumu için faydalı çözümler keratin hazırlanmasına yönelik deneylerin sonuçlarını rapor etmişlerdir. Çeşitli indirgeyici maddelerle termo-kimyasal işlemlerin, yani 2-merkaptetanol, ditiyotritol (DDT), sodyum m-bisülfite, sodyum bisülfite ve sodyum dodesil sülfat (SDS)'in yanı sıra sodyum hidroksit tavyük tüylerinden ekstrakte edilen keratinin verimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. 2-merkaptetanol ve sodyum bisülfite ile 2 saatlik bir indirgeme sonrasında, çözümler keratin veriminin yaklaşık olarak eşit olduğu ve sırasıyla %84 ve %82 olduğu gösterilmiştir. Daha ucuz ve zararsız sodyum bisülfite ayrıca ekstraksiyon süresini aynı verimle 1 saate düşürmüştür. Ayrıca, tüylerin %2,5 NaOH ile işlenmesi, verimi %94'e kadar artırarak ekstraksiyon etkinliğini daha da artırmıştır. Çalışmanın sonuçları, gıda uygulaması için biyolojik olarak bozunabilir formların oluşumu için faydalı olan, disülfür bağlarının azaltılmasıyla zararsız ve daha etkili olan çözümler elde etmek için hidrolitik işlemlerin yapılabiliğini göstermiştir.

Flores-Hernandez ve ark (2017) yaptıkları çalışmada keratin biyofiberler ile kompozitler oluşturmuşlardır. Tüyler öğütücüde öğütülmüş ve fiber haline getirilmiştir. Keratin biyofiberler 100 mL NaOH 0.1 M çözeltisine ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır.

Alkalikle işlenmiş biyolojik fiberler, fazla NaOH'ı çıkarmak için bol miktarda damıtılmış su ile iyice yıkanmış ve kompozitler oluşturulmadan önce nemini almak için kurutulmuştur. Dört farklı oranla (ağırlıkça %5, 10, 15 ve 20) takviye edilmiş kompozitler, bu araştırma için kısa ve uzun keratin biyofiberleri ve öğütülmüş tüyler ile hazırlanmıştır. Keratin takviyeli kitosan-nişasta kompozitleri oluşturmuşlardır. Kitosan nişastasından ve kimyasal olarak işlenmiş keratin malzemelerden yapılmış çevre dostu kompozitler elde edilmiştir. Keratin formlarının kimyasal muamelesi, kitosan nişasta filmlerinin davranışını ve özelliklerini, işlenmemiş keratin ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde değiştirmiş ve olası uygulamalarını güçlendirmiştir.

Sharma ve ark. (2018) bu çalışmada; keratin, atık tavuk tüylerinden optimize edilmiş koşullar altında indirgeyici ajan olarak sodyum sülfat kullanılarak ekstrakte etmişlerdir. Ekstrakte edilen keratin, nano katkı maddesi olarak mikrokristalin selüloz ilave edilerek bir biyopolimerik film geliştirmek için kullanılmıştır. Kuru ağırlığı 25 gr olan tüylerden 6 saat sonra 500 mM Na<sub>2</sub>S ile maksimum çözünürlük göstermiş ve keratin %80,2 verimle elde edilmiştir. Keratin tozu, gliserol (%3,5) ve mikrokristalin selüloz (%0,2) kullanılarak NaOH çözeltisi içerisinde 60 °C'de 48 saat süreyle biyoplastik film sentezlemek için karıştırılmıştır. Genel olarak, bu çalışmada atık tüylerden biyopolimer, biyomedikal ve farmasötik endüstrilerinde kullanılacak bir biyoplastik filme dönüştürmek için oldukça etkili bir yöntem sunmuştur.

Liu ve ark. (2018) çalışmalarında keratin ekstraksiyonu yapmışlardır. Film oluşturmak için plastikleştirici olarak 1,8-oktandiol (OD) kullanmışlardır. Ekstraksiyonun ilk adımı olarak homojen bir keratin çözeltisi hazırlamışlardır. Tüyleri ilk olarak 5 g tüy, 30 g üre, 3 g SDS ve 7 g sodyum bisüfit içeren 100 mL sulu çözelti içerisinde ekstraksiyon yapmışlardır. Filmleri hazırlamak için her sulu dispersiyon 1 g indirgenmiş keratin, 2 mL damıtılmış su ve 1 mL alkol kullanılmıştır. Çözeltilere 0.05, 0.10, 0.20 ve 0.30 g / g keratin konsantrasyonlarında OD eklenirken, kontrol olarak 0.20 ve 0.30 g / g keratin konsantrasyonlarında gliserol ilave edilmiştir. OD konsantrasyonundaki artış nemli oranını, Su Buharı Geçirgenliği ve kopmadaki uzamayı arttırmış ancak filmlerinin gerilme mukavemetini azaltmıştır. OD'nin plastikleştirici verimi filmlerindeki gliserol kadar iyi olmasada, OD-plastikleştirilmiş filmler, OD'nin zayıf hidrofilikliğı nedeniyle daha yüksek su direncine sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Fernández-d'Arlas (2019) yaptığı çalışmada yünden keratin ekstraksiyonu yapmış ardından gliserol ve SDS belli oranlarda kullanarak plastik bir film oluşturmuştur. Kesilmiş olan yünler 2 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Hidrojen Peroksit) sulu çözeltisine süspansiyon edilmiştir. NaClO (Sodyum hipoklorit) oksidasyonuna yardımcı olmak için sonradan eklenmiştir. Elde edilen keratin partikülleri NaOH içerisinde çözündürülmüş ve çözelti oluşturulmuştur. Oluşturulan çözeltiye farklı hacimlerde gliserol ve farklı ağırlıklarda SDS eklenerek biyoplastik oluşturmuştur. Keratin, ağırlıkça%28'lik bir konsantrasyona kadar gliserol veya SDS ile birleştirilerek film oluşturmuştur. SDS varlığında elde edilen biyoplastikler saf keratin filmleri gibi kırılabilir ve mekanik özellikleri test edilememiştir. Plastikleştirici eklemenin mekanik özelliklere yüksek etkisi görülmüştür. Ağırlıkça %11'lik bir gliserol içeriğiyle biyoplastikler, kırılabilir bir yapı göstermiştir. Gliserol içeriğinin ağırlıkça %16'nın üzerinde olması malzeme özelliklerini önemli ölçüde değiştirdiği gözlemlenmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan kimyasallar

Atık tavuk tüyü, sodyum sülfür ( $\text{Na}_2\text{S}$ ), hidroklorik asit (HCl), asedik asit, sodyum hidroksit (NaOH), petroleteri, kitosan, PVA (polivinil alkol)

##### 3.1.2. Kullanılan cihazlar

**Infrared (FT-IR) Spektrofotometresi:** Perkin Elmer Spectrum 400. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü Laboratuvarı, Kahramanmaraş.

**Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM):** JEAL/NEOSCOPE JCM-5000 SEM. Çukurova Üniversitesi, Merkez Laboratuvarı, ÇÜMER, Adana.

**X-Işını Difraksiyonu (XRD):** Philips X'Pert PRO. Marmara Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, İstanbul.

**Öğütücü makinesi:** Ultra centrifugal mill ZM 200. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Merkez Laboratuvarı, ÜSKİM, Kahramanmaraş.

**PH metre:** Mettler Toledo

**Mekanik Karıştırıcı:** Heidolph RZR 2021

**Liyofilizatör:** LBM 4/4 Liyofilizatör Cihazı, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Merkez Laboratuvarı, ÜSKİM, Kahramanmaraş.

**Etüv:** Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Merkez Laboratuvarı, ÜSKİM,

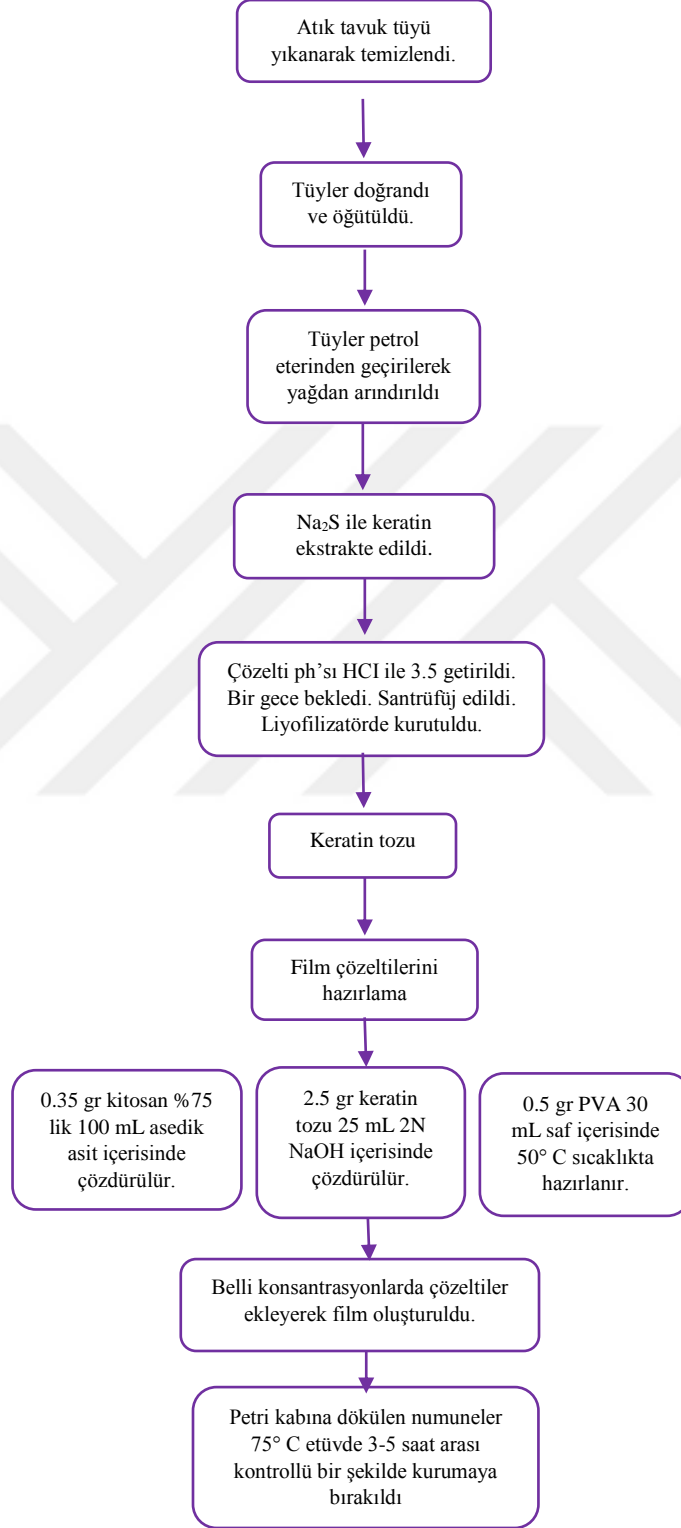
**Hassas Terazı:** Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Merkez Laboratuvarı, ÜSKİM,

**Çekme Testi Cihazı:** Zweik Roell, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Merkez Laboratuvarı, ÜSKİM, Kahramanmaraş.



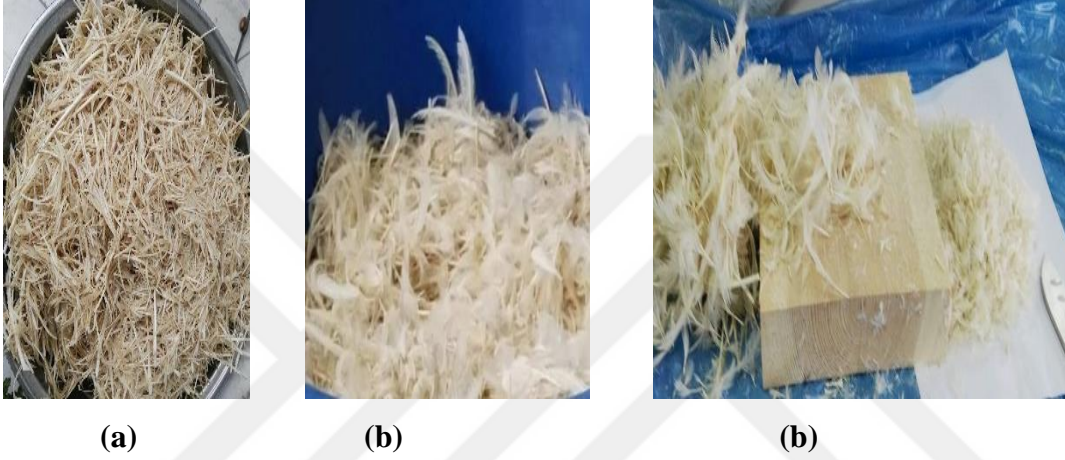
## 3.2. Metot

### 3.2.1. Deney Akış Planı



### 3.2.2. Tüylerin Ön İşlemi

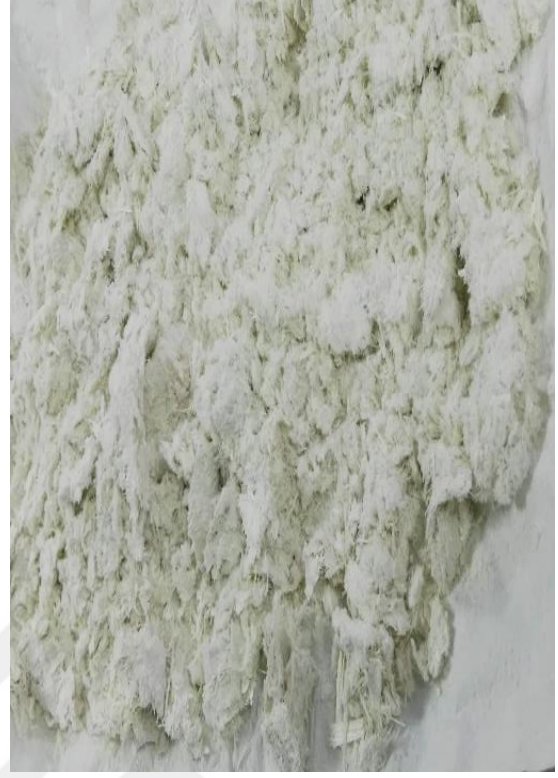
Tavuk fabrikalarından toplanan atık tavuk tüyler su ile üç defa yıkanarak kan ve diğer kirli pisliklerden temizlenmiş ve gün ışığında kurumaya bırakılmıştır. Yıkayıp temizlenen tüyler kısa bir şekilde (2–25 cm) doğranıp ardından bir öğütücü yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen tavuk tüyleri soxhlet cihazı kullanılarak yağdan arındırılması için 12 saat boyunca 250 mL petrol eteri (kaynama aralığı 45-50 °C) ile yıkanmıştır. Petrol eteri ile yağdan arındırılmış tavuk tüyleri bir sonraki aşamalarda kullanmak için desikatörde bekletilmiştir.



Şekil 0.1 (a) Ham tavuk tüyü, (b) Temizlenmiş tavuk tüyü, (c) Doğranmış tüyler



Şekil 0.2 Öğütücü ve öğütülmüş tavuk tüyü



Şekil 0.3 Soxhlet cihazı ve petroeterinden geçirilmiş tavuk tüyleri

### 3.2.3. Keratin Ekstraksiyonu

Öğütülmüş 5 gr tavuk tüyü 200mL içerisinde farklı kimyasallar (NaOH, NaOH+Na<sub>2</sub>S, Na<sub>2</sub>S) kullanarak ekstraksiyon yapılmıştır (Tablo 3.2.1). Ekstraksiyon sonunda verimler kıyaslandığında en iyi sonuç Na<sub>2</sub>S ile yapılan deneyde bulunmuştur. En iyi sonucu bulabilmek için sonraki deneyler Na<sub>2</sub>S baz alınarak devam edilmiştir.

Tablo 3.1. Ekstraksiyonda kullanılan farklı kimyasallar

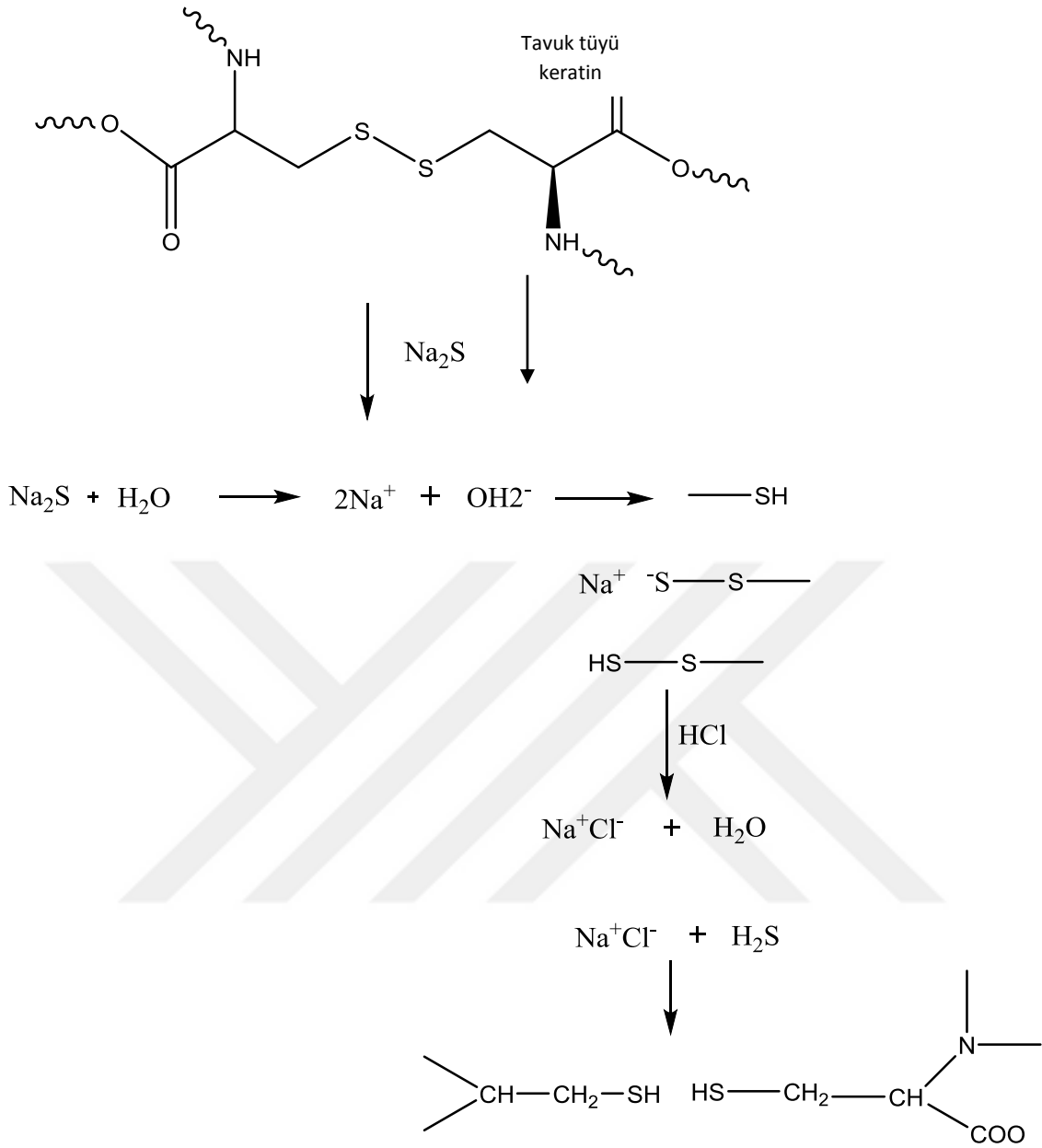
<i>Kimyasal adı</i>	<i>Konsantrasyon</i>	<i>Sıcaklık(°C)</i>	<i>Süre(saat)</i>
<i>NaOH</i>	1,75 M	60	0,5
<i>NaOH+Na<sub>2</sub>S</i>	0,5 M	60	6
<i>Na<sub>2</sub>S</i>	0,5 M	60	6

Öğütülmüş 5 gr tavuk tüyü 200 mL'lik farklı Na<sub>2</sub>S(sodyum sülfür) konsantrasyonlarda (0,25, 0,5, 0,75 M) farklı sıcaklıklarda (25,45,60 °C) farklı süreler baz alınarak (1, 3, 6 saat) 400 devir/dk manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır (tablo 3.2.2).

Tablo 3.2. Farklı Na<sub>2</sub>S konsantrasyonları

<i>Numune</i>	<i>Na<sub>2</sub>S(M)</i>	<i>Sıcaklık(°C)</i>	<i>Süre(saat)</i>	<i>K. hızı(rpm)</i>
<i>Ker-3</i>	0,25	25	3	400
<i>Ker-4</i>	0,5	25	3	400
<i>Ker-5</i>	0,75	25	3	400
<i>Ker-6</i>	0,5	25	1	400
<i>Ker-7</i>	0,5	45	1	400
<i>Ker-8</i>	0,5	60	1	400
<i>Ker-9</i>	0,5	45	3	400
<i>Ker-10</i>	0,5	60	3	400
<i>Ker-11</i>	0,5	25	6	400
<i>Ker-12</i>	0,5	45	6	400
<i>Ker-13</i>	0,5	60	6	400

Ekstraksiyon sırasında sülfür bağları kopmuştur (Şekil 3.4).



Şekil 0.4 Tavuk tüyü ekstraksiyonun kimyasal reaksiyonu (Pourjavaheri ve ark. 2019)

Aynı zamanda konsantrasyon, süre ve sıcaklık sabit tutulup farklı karıştırma hızlarında (Karıştırma olmadan, 100, 400, 600 rpm) keratin verimine bakılmıştır (tablo 3.2.3).

Tablo 3.3. Farlı karıştırma hızları

Numune	$\text{Na}_2\text{S}(M)$	Sıcaklık( $^{\circ}C$ )	Süre(saat)	K. hızı(rpm)
Ker-14	0,5	25	3	K. yok (-)
Ker-15	0,5	25	3	100
Ker-16	0,5	25	3	400
Ker-17	0,5	25	3	600

Manyetik karıştırma işlemi bittikten sonra çözeltiler 8000xg devirde 10 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant (üste kalan sıvı) bir behere alındı ve çözeltinin PH'sı 2N HCl asit ile 3,5 ayarlandı. Çökelti oluşturmaya başlayan karışım bir gece boyunca çökelmeye bırakıldı. Bir gün sonra çökelen keratin partiküllerinin üzerindeki su alınarak saf su ile yıkanıldı ve 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Keratin partiküllerini safsızlaştırmak için bu işlem üç defa tekrarlandı. Son olarak toplanan keratin partikülleri liyofilizatörde -55 °C de 24 saat boyunca kurumaya bırakıldı (Şekil 3.5)



Şekil 0.5 Farklı Na<sub>2</sub>S konsantrasyonlarında ekstrakte edilen keratin partiküllerinin fotoğraf görüntüsü

#### 3.2.4. Protein Konsantrasyonun Belirlenmesi

Elde edilen keratin tozundan protein tayini Kjeldahl (Toplam azot yöntemi) metoduyla belirlenmiştir. 1 gr tavuk tüyü içerisindeki protein miktarı belirlenmiştir. Santrifüjden sonra çözünmeyen kalıntı tavuk tüyünün de protein miktarı belirlenerek keratin tozunun içindeki protein yüzdesi hesaplanmıştır.

(Tavuk tüyü: TT)

TT x 1 gr TT protein oranı = TT toplam protein miktarı

TT kalıntı(gr) x Kalıntı protein içeriği = Kalıntıdaki toplam protein miktarı

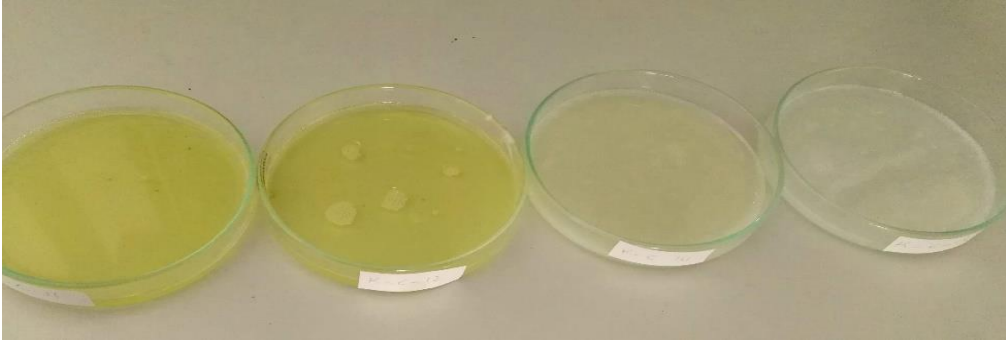
Kalan protein = TT toplam protein miktarı-Kalıntıdaki toplam protein miktarı

Verim= Kalan protein \ TT toplam protein miktarı x 100

#### 3.2.5. Film Hazırlama

Keratin çözeltisi hazırlamak için 0,5 M Na<sub>2</sub>S 6 saat 60 °C de verimi en yüksek bulduğumuz keratin tozu kullanılmıştır. Keratin çözeltisi 2M lık NaOH ile hazırlanmıştır.

Öncelikle en yüksek verimi veren keratinden 2,4 gr keratin tozu tartılmıştır. Ardından daha önce hazırlanmış olduğumuz 2M lik NaOH çözeltisinden 50 mL bir behere alınmış ve manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. NaOH çözeltisi karışırken keratin tozu yavaş yavaş ilave edilerek homojen bir karışım elde edilene kadar bir süre karıştırılmıştır. Kitosan çözeltisini hazırlamak için 0,35 gr kitosan tartılmış ve %75 lik asetik asit 100mL içerisine eklenerek manyetik karıştırıcıda 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Filmleri hazırlarken tutucu görevi görecektir olan PVA (polivinil alkol) ise 0,5 gr tartılarak 30 mL saf su içerisinde 50 °C'de 1 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Birinci saatin sonunda belirlenen miktarlarda kitosan çözeltisi (5,10,15,20,25 mL) ilavesi yapılmış, sıcaklık 70 °C çıkarılarak bir saat boyunca karıştırılmaya devam edilmiştir. İkinci saatin sonunda keratin çözeltisinden (5,10,15,20,25 mL) belli bir miktar alınmış ve PVA-Kitosan çözeltisine eklenmiştir. Karışım homojen olması için 100 °C'de bir saat daha karıştırıldı. Çözelti toplamda üç saatte tamamlandı. Ardından her bir çözelti iki ayrı petri kabına dökülerek etüvde 75 °C'de, 3-5 saat arası kontrollü bir şekilde kurumaya bırakıldı.



Şekil 0.6 Oluşturulan filmlerin petri kabına dökümü

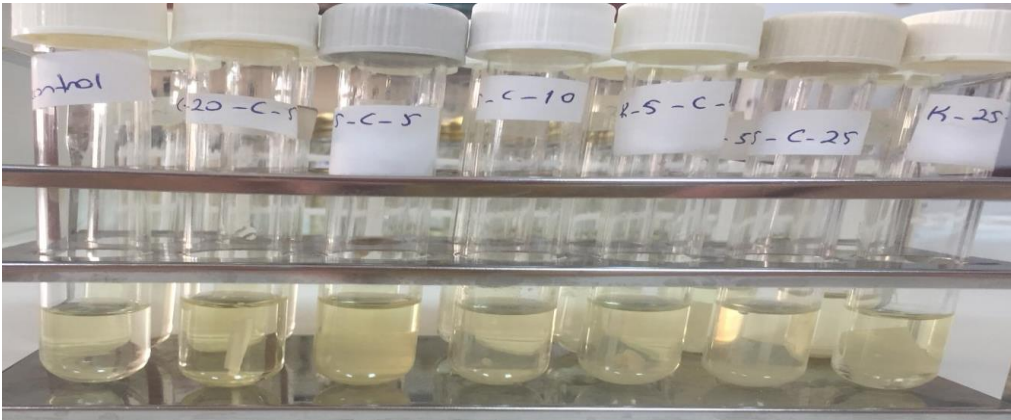
### 3.2.6. Çekme Testi

Hazırlanan keratin-kitosan türevi filmlerin çekme testleri Zweik Roell cihazıyla ASTM 0882-2 yöntemine göre belirlenmiştir. Test koşulları: Filmler dikdörtgen şeklinde kesilerek genişlik 1 cm ve boyu 5 cm olarak ayarlandı. Testin ön yükü 5 N, test hızı 2 mm/dk, test başlangıç mesafesi 30 mm ve numune birim alanı başına kütle 10 g/m<sup>2</sup> tür. Çekme testi üç farklı numuneye yapıldı. Filmlerin kalınlığı mikrometre ile ölçüldü.

### 3.2.7. Antibakteriyel Test

Belirli oranlarda oluşturulan keratin ve kitosan filmlerinin antibakteriyel özellikleri incelendi. Bunun için biyofilm oluşturan insan patojen özelliğine sahip bakteri kullanıldı. Keratin ve kitosan ile hazırlanan biyofilmlerin bakteri suşlarının duyarlılığını test etmek

için *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Amerikan Tip Kültür Koleksiyonundan (ATCC, ABD) alındı. Filmlerin “*in vitro*” ortamdaki bakterilere gösterdikleri direnci kontrol grubu bakteri ile karşılaştırıldı. Antibakteriyel deneme yapmak için öncelikle İçinde katılaştırıcı ajan bulunmayan daha çok mikroorganizmaların üretilmesinde kullanılan besiyer olan Nutrient Broth (besleyici bulyon) besiyeri hazırlandı. Hazırlanan sıvı besiyerlerinin steril olması için basınçlı su buharı ile doymuş bir ortamda 121 °C sıcaklıkta yaklaşık 15 dk bırakıldı. Otoklavdan çıkarılan sıvı besiyerleri 30 mL’lik tüplere içerisine yaklaşık 3 mL sıvı besiyeri konularak hazırlanmıştır. Daha sonra bu tüplere steril kabinde öze yardımı ile ekim yapılmıştır ve 24 saat çalkalayıcıya bırakılmıştır. Otoklavdan alınan serum fizyolojik sıvı +4 de bekletilmiştir. 24 saat sonunda çalkalayıcıdan alınan sıvı besiyerleri üzerine serum fizyolojik sıvı eklenerek McFarland 0.5 (108 mikroorganizma/mL)’e göre ayarlanarak standart bir bulanıklık oluşturulmuştur. McFarland standartları, bir sıvı besiyerinde bulunan bakteri sayısını belirlemek amacıyla geliştirilmiştir (Wayne, 2011). Her sıvı kültürden 3 mL bir test tüpüne ilave edildi ve hazırlanan tek koloni 37 ° C’de kültürlendi şekil değiştirme kültür ortamının yoğunluğunu belirlemektedir. Her kültür ortamı bulanıklık ((absorbans) 0,09–0,13, süşun yoğunluğu  $1 \times 10^7$  koloni oluşturan birimler (CFU) / mL) McFarland Bulanıklık Standardı 0,5 kullanarak 600 nm’de absorbans da spektrofotometre yardımı ile ölçülmüştür (bioMérieux, Fransa). Bu örneklerin spektrofotometrik ölçümleri belirli zaman aralıklarında yapılmıştır. Bu zaman aralıklarına göre 96’lık plakelere yüklenmiştir. Her bir kuyucuğa bakteri eklenmesi kabinde beck alevi yanında yapılmıştır ve filmlerin bulunduğu tüpler her seferinde vortex yardımı ile karıştırılmıştır. Kontrol grubu bakteri ve keratin ve kitosan ile oluşturulan filmler spektrofotometre ile ölçülen bulanıklıklar kıyaslanmıştır.



Şekil 0.7 Antibakteriyel için hazırlanan numuneler



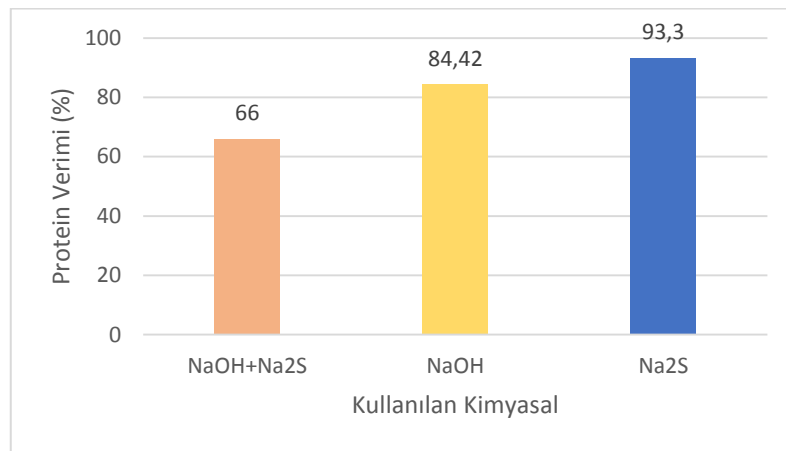
#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tez kapsamında atık tavuk tüyünden keratin ekstraksiyonu hedeflenmiş ve keratin-kitosan türevi filmler oluşturularak özellikleri araştırılmıştır. Elde edilen keratin partikülleri ve filmler spektroskopik (FT-IR, SEM, XRD) yöntemle yapısı aydınlatılmıştır (EK-A, B, C). Keratin partiküllerinin protein verimi hesaplanmış ve çekme testi yapılmıştır. Spektrumlardan elde edilen deneysel sonuçlarla diğer literatürler ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Ayrıca oluşturulan keratin-kitosan filmlerin antibakteriyel özellikleri incelenerek tıbbi, ilaç, biyoteknoloji, biyomedikal, gıda sektörü ve doku mühendisliği gibi alanlarda kullanım alanı araştırılmıştır.

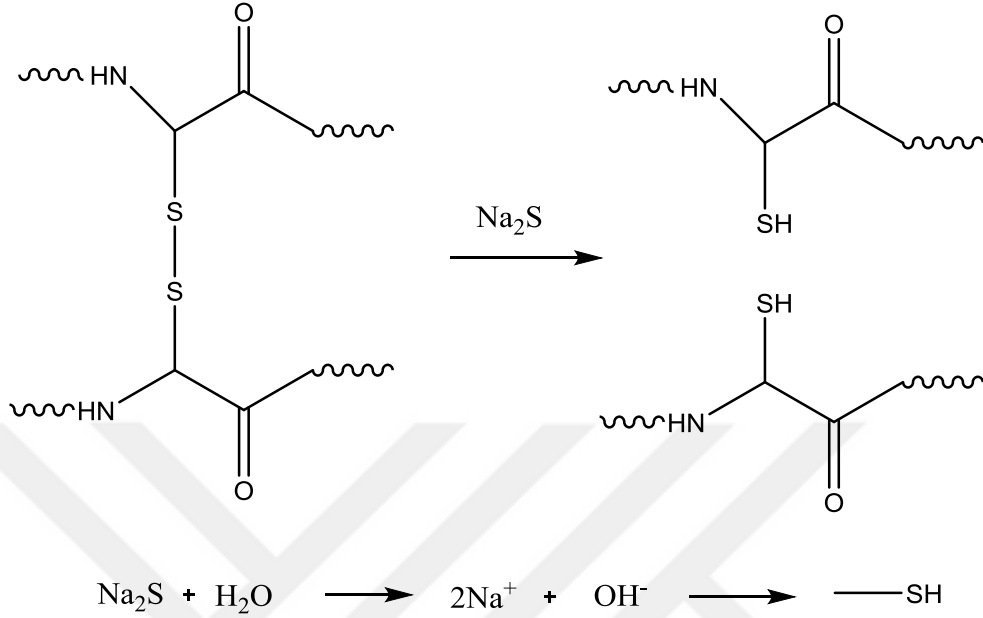
##### 4.1. Keratin Ekstraksiyonu ve Protein Konsantrasyonu

Poole ve ark. (2008) tarafından basit ve ekonomik bir yöntem olan alkali koşullarda disülfür ve hidrojen bağlarını tarif edildiği gibi küçük modifikasyonla kırdığı bildirilmiştir. Genel olarak sıcaklık, zaman ve indirgeyici ajanın konsantrasyonu gibi fiziksel koşullar, ekstrakte edilen keratinin kuru ağırlığı ve nihai verimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmuştur. Tavuk tüyünden keratin ekstraksiyonu için üç farklı çözücü kimyasal kullanılmıştır (NaOH, NaOH+Na<sub>2</sub>S, Na<sub>2</sub>S). Yapılan ekstraksiyon sonucunda en iyi protein verimin veren Na<sub>2</sub>S olmuştur. Na<sub>2</sub>S ile yapılan ekstraksiyonda verim %93,3 olarak bulunmuştur. Pourjavaheri ve ark. (2019) sadyum sülfür ile yaptıkları ekstraksiyonda verimi %88 olarak bulmuşlardır.



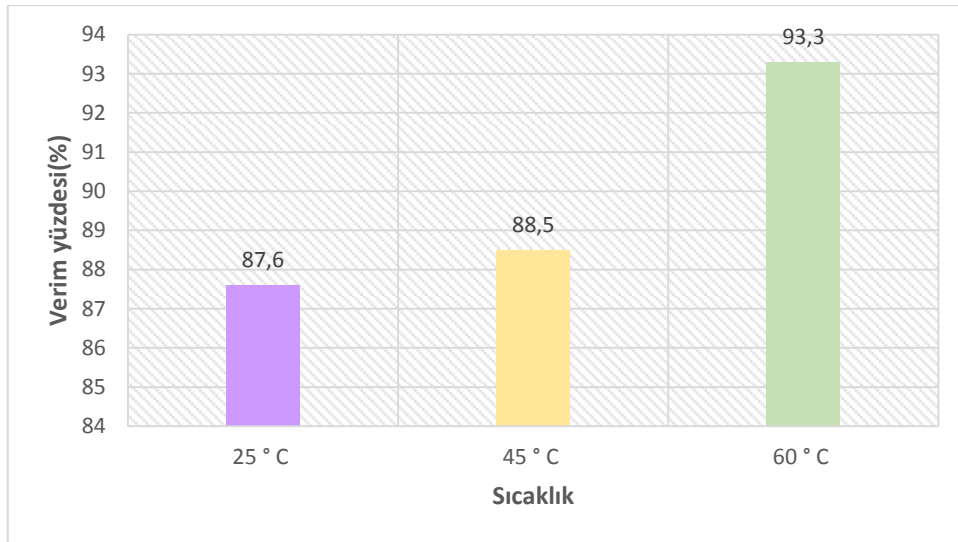
Şekil 0.1 Farklı kimyasallar kullanılarak ekstrakte edilen protein konsantrasyonu

Tavuk tüyünün ekstraksiyondaki farkı görmek için üç farklı konsantrasyonlarda sodyum sülfür (0,25M, 0.5M ve 0.75M) kullanılmıştır. Ekstraksiyon sırasında yoğun sülfür kokusu açığa çıkmıştır. Bu bize sülfür bağlarının koptuğunu göstermiştir. (Şekil 4.2)

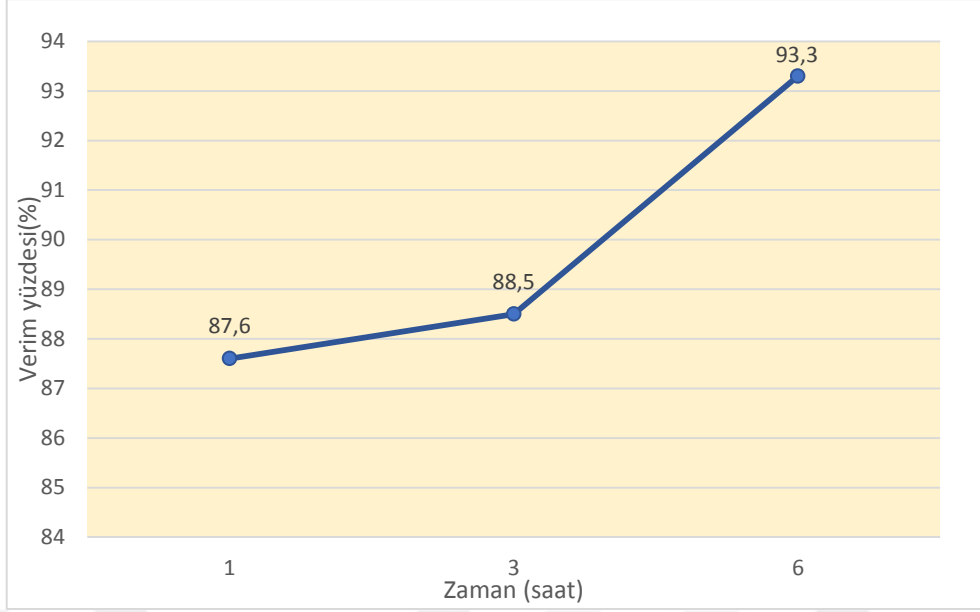


Şekil 0.2 Tavuk tüyünü ekstrakte ederken sülfür bağlarının kopması

En iyi verim sonucu 0,5M sadyum sülfür konsantrasyonunda 6 saat 60 ° C sıcaklığında % 93,3 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3). Sıcaklık ve süre arttıkça verim artmıştır (Şekil 4.4). Sharma ve ark. (2017) sadyum sülfür ile ekstrakte edildiğinde 6 saatten sonra çözünen maddede bir değişiklik olmadığını gözlemlemişlerdir.

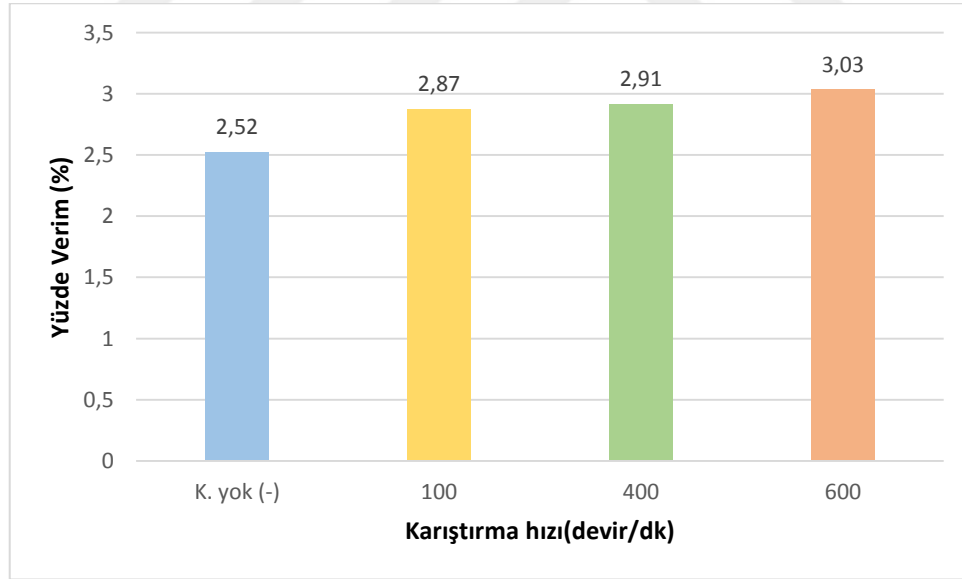


Şekil 0.3 Farklı sıcaklıklardaki protein konsantrasyonu



Şekil 0.4 Zamanın verim üzerine etkisi

Yine karıştırma hızları baz alınarak yapılan deneylerde keratin partiküllerinin kuru ağırlığı tartılmış ve karıştırma hızı arttıkça kuru ağırlık miktarında artış göstermiştir. (Şekil 4.5)

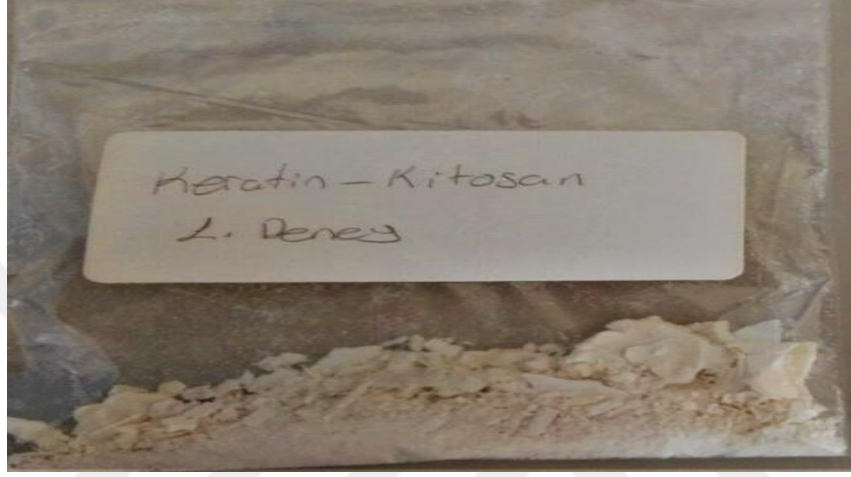


Şekil 0.5 Karıştırma hızlarının kuru ağırlık üzerine etkisi

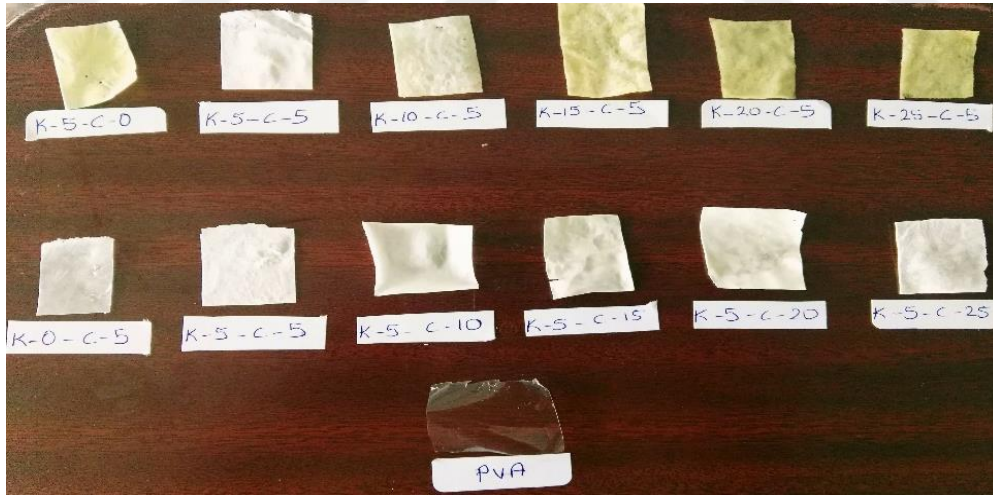
## 4.2. Keratin-Kitosan Film Hazırlama ve Mekanik Özellikler

Toshizumi ve ark. (2001) tarafından belirlenen metoda göre ufak modifikasyonlar yaparak film oluşturulmuştur. Keratin ile hazırlanan filmi güçlendirmek için, keratin'i asidik pH koşulu altında asitli suda çözünebilen kitosan ile çözelti oluşturuldu (Toshizumi

ve ark. 2001). Bazı araştırmalar, saf keratin ile filmin kırılğan doğasını göstermiştir (Aluigi ve ark. 2008; Yin ve ark. 2013). Keratin çözeltisi ile oluşturulan film çok kırılğan bir yapıya dönüştü (Şekil 4.6). Şekillendirmesi veya analiz için numune alınması çok zordu. Keratin-kitosan ile oluşturulan film de kırılğandı ama kırılğanlık gücü sadece keratin ile oluşturulan filmden çok daha iyiydi. Bu durumda PVA (polivinil alkol) maddesini tutucu görevi olarak ilave ettik. PVA ile oluşturulan filmler daha önce yapılan iki denemeden çok daha iyi sonuç verdi (Şekil 4.7).



Şekil 0.6 PVA eklemeyen oluşturulan film



Şekil 0.7 PVA ile oluşturulan filmlerin kurumuş hali

Plastikleştiriciler, sert polimerleri yumuşatmak için eklenen düşük molekül ağırlıklı organik bileşiklerdir, çünkü zincir hareketliliğini artırır (Liu ve ark.2018). Yapılan çekme testi literatür ile kıyaslandığında plastikleştiricilerin filmleştirme üzerine büyük bir etkisi vardır. Aşağıdaki çizelgede kopma anındaki uzama yüzdeleri ve film kalınlıkları verilmiştir.

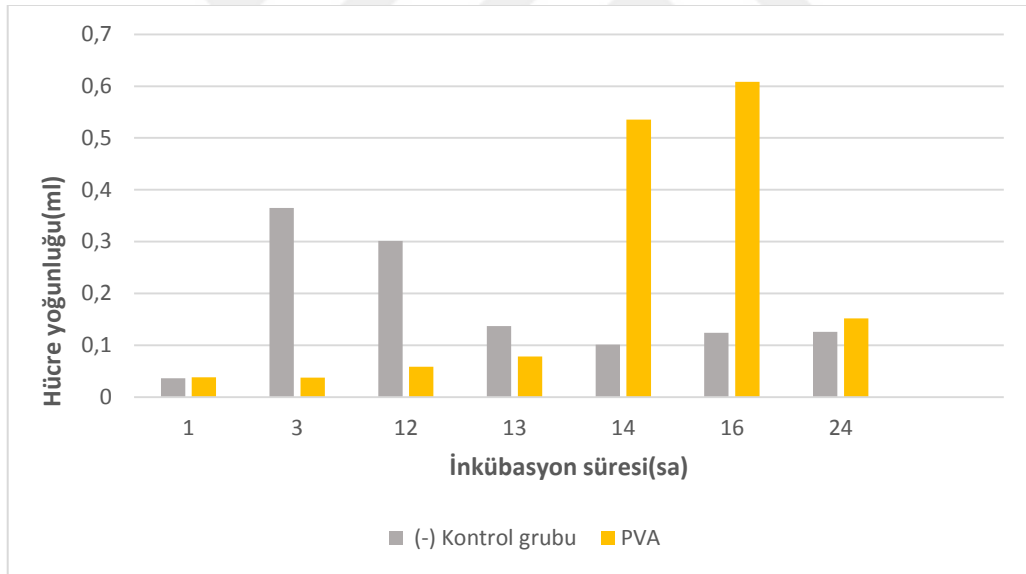
Tablo 4.1. Keratin-kitosan filmlerin kopma anındaki uzama yüzdeleri ve kalınlıkları

Numune kodu	Kopma anındaki uzama (%)	Filmlerin Kalınlıkları (mm)
K-20-C-5	9,89 (0,100 MPa)	0,385
K-15-C-5	2,42 (0,105 MPa)	0,353
K-10-C-5	1,06 (0,09 MPa)	0,490

### 4.3. Antibakteriyel Test

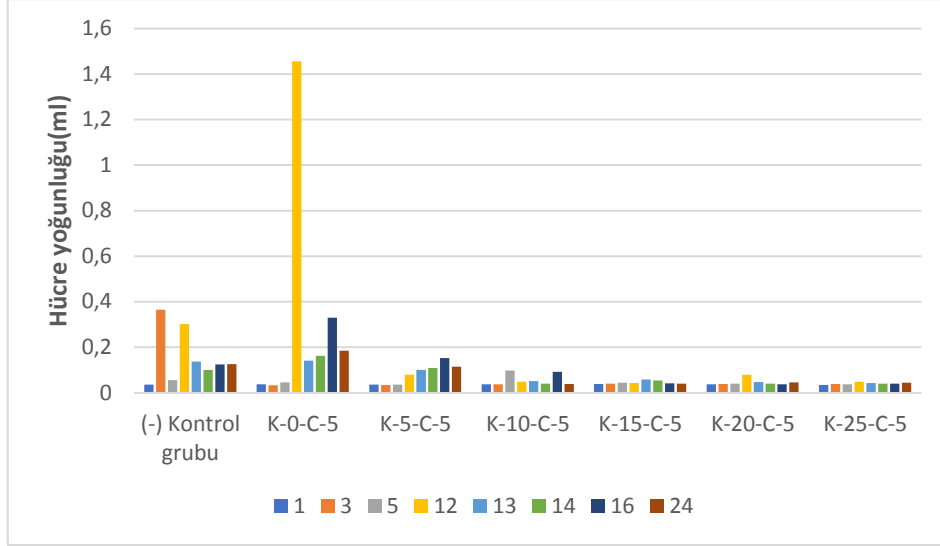
Literatür araştırmalarından anlaşıldığı gibi keratin veya keratin-kitosan türevlerinden oluşturulan filmlerin antibakteriyel özellikleri olumlu sonuç vermiştir. (Liu ve ark.2018, Rosewald ve ark.2014, Yamauchi ve ark.2012, Tanabe ve ark.2001)

Yapılan antibakteriyel testinde hücre konsantrasyonundaki çoğalma baz alınarak yorum yapılmıştır. Analizler ışığında (-) kontrol grubu bakteri ve PVA karşılaştırılmıştır. Test sonucunda PVA'nın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bakterilere karşı direnç göstermediği görülmüştür (Şekil 4.8).



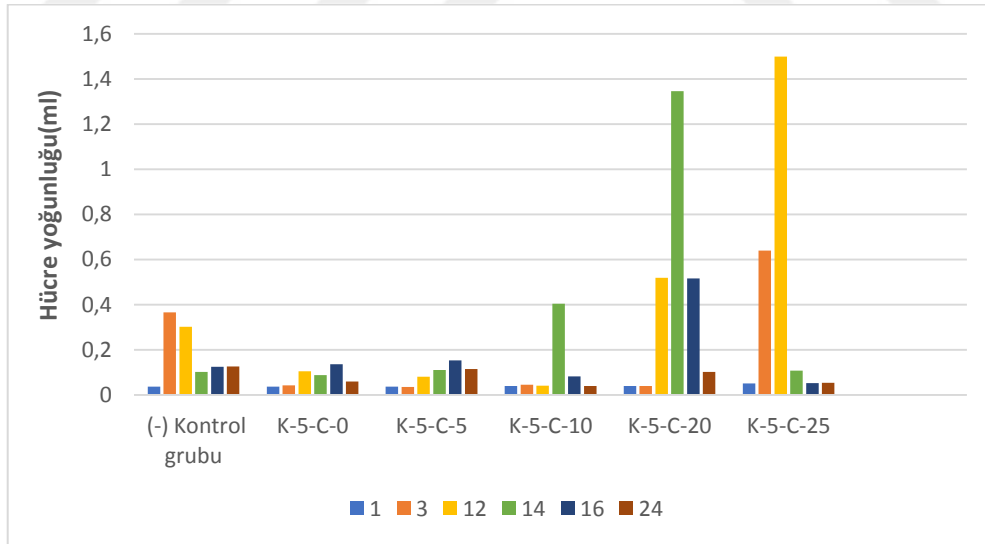
Şekil 0.8 Konrol grubu bakteriler ve PVA filminin hücre yoğunluklarının kıyaslanması

Aynı şekilde kontrol grubu ve belli oranlarda arttırılmış keratin konsantrasyonlu kitosan filmler karşılaştırılmıştır ve filmlerdeki keratin konsantrasyonu arttıkça bakterileri inhibe etme özellikleri artmıştır (Şekil 4.9). Sonuçlardan da anlaşılacağı gibi keratinin bakterilere karşı inhibasyon özelliği taşıdığı söylenebilir.



Şekil 0.9 Fillerdeki keratin konsantrasyon değişkenlerinin kontrol grubu bakteri ile karşılaştırılması

Son olarak keratin sabit tutulup kitosan konsantrasyonları değiştirilerek oluşturulan filmlerin antibakteriyel özelliklerine bakılmıştır. Kontrol grubu bakteriler ile karşılaştırıldığında filmlerdeki kitosan konsantrasyonu arttıkça hücre çoğalması gözlenmiştir. Bu durumda kitosanın yalnız başına inhibasyon özelliği göstermediği sonucuna varılmıştır (Şekil 4.10).

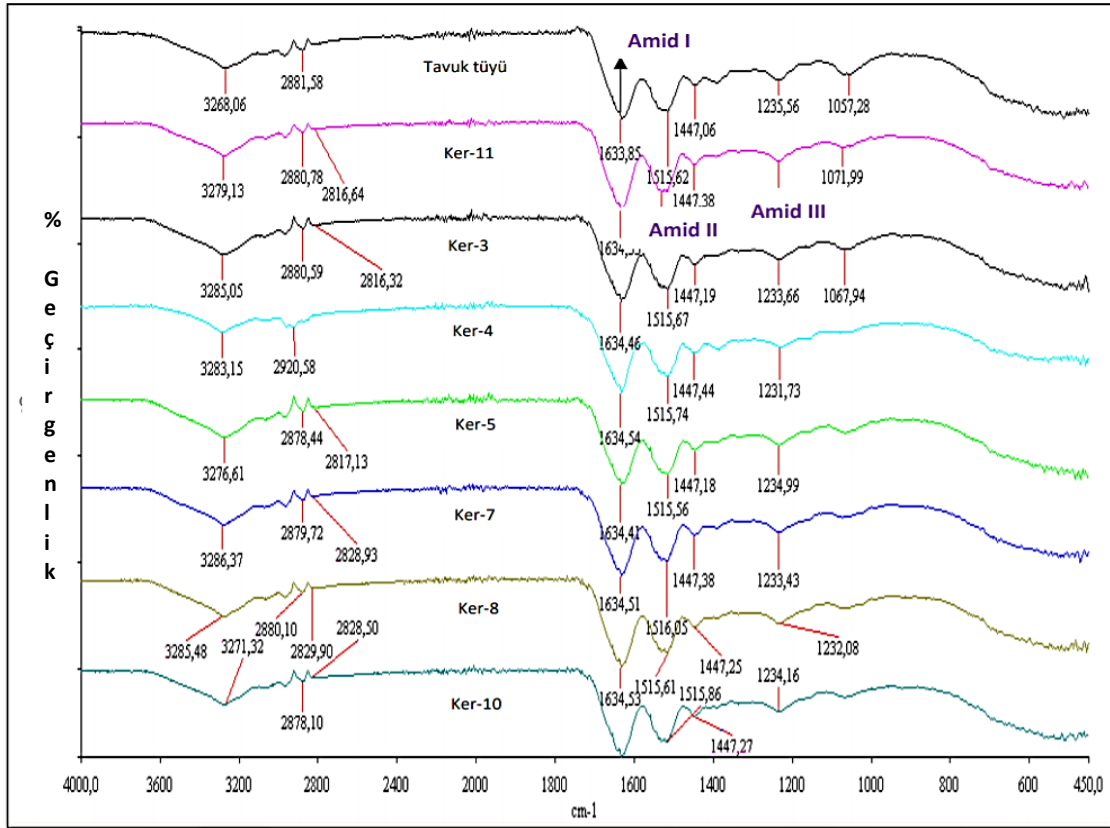


Şekil 0.10 Fillerdeki kitosan konsantrasyon değişkenlerinin kontrol grubu bakteri ile karşılaştırılması

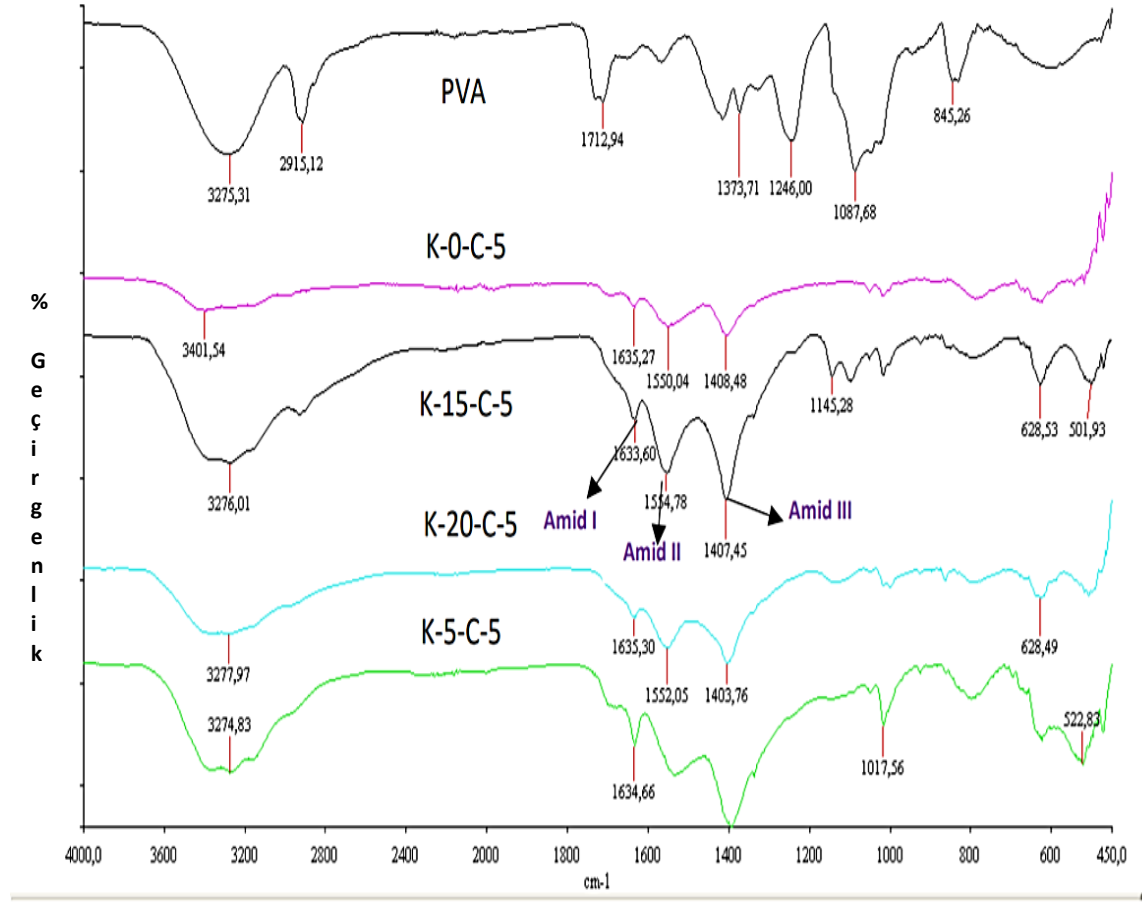
#### 4.4. Keratinin FT-IR Spektrumu

Atık tavuk tüyünden elde edilen keratin tozu ve keratin-kitosan türevi filmlerinin FT-IR spektrumları EK-A de verilmiştir.

Keratinlerin polipeptit zincirlerindeki konformasyonel değişiklikler FT-IR spektrumlarından analiz edildi. FTIR spektrumunda ve absorpsiyon bandı  $3275-3295 \text{ cm}^{-1}$  aralığında incelendi.  $3000-2800 \text{ cm}^{-1}$  aralığında görünen titreşim bantları simetrik  $\text{CH}_3$  germe titreşimi ile ilişkilidir (Edwards ve ark.1988; Eslahi ve ark.2013). En güçlü titreşim bandı,  $1700-1600 \text{ cm}^{-1}$  aralığında meydana gelen  $\text{C}=\text{O}$  gerilme (amid I) ile ilişkilendirilmiştir (Aluigi ve ark.2007; Mohanty ve ark.2005). Amid II için titreşim bandı,  $1580-1540 \text{ cm}^{-1}$  aralığında görüldü,  $\text{N}-\text{H}$  bükülme ve  $\text{C}-\text{H}$  gerilme ile ilişkilendirildi (Eslahi ve ark. 2013).  $1300$  ve  $1220 \text{ cm}^{-1}$  arasındaki zayıf bant,  $\text{C}-\text{N}$  gerilme ve  $\text{N}-\text{H}$  bükülmesinden türetilen amid III bandını (Vasconcelos ve ark. 2008; Wojciechowska ve ark. 1999) ve  $\text{C}=\text{O}$  bükülme ve  $\text{C}-\text{C}$  gerilme titreşiminden gelen sinyalleri gösterdi (Idris ve ark.2013; Zhang ve ark.2013).  $990$  ve  $580 \text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler  $\text{C}-\text{S}$  ve  $\text{S}-\text{S}$  bağları ile ilişkilidir (Vasconcelos ve ark. 2008). Amid I-III bantları, proteinlerin omurga yapısındaki protein onayı ve değişimi hakkında kritik bilgiler verir (Ma ve ark. 2016).  $750$  ve  $600 \text{ cm}^{-1}$  arasındaki iletim bandı  $\text{N}-\text{H}$  düzlem dışı bükülmeye ilişkilidir (Pavia ve ark. 2008) (Şekil 4.10 ve 4.11).



Şekil 0.11 Keratin partiküllerinin FT-IR Spektrumları



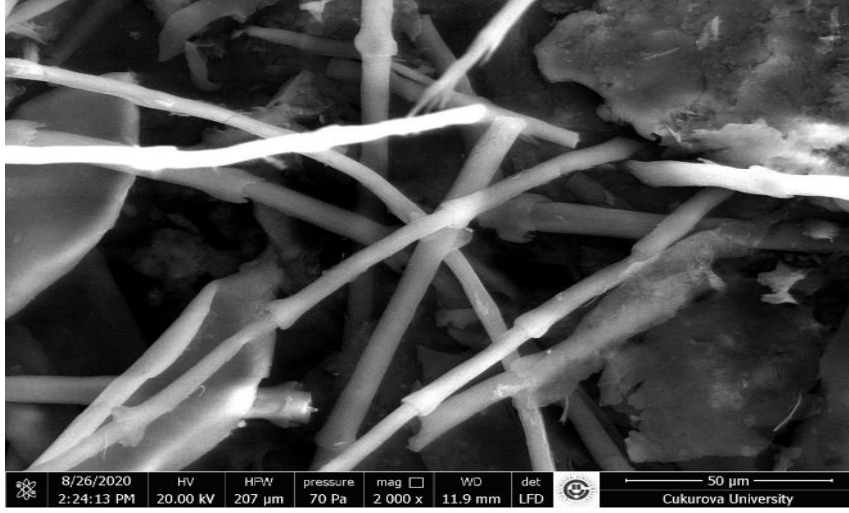
Şekil 0.12 Keratin-kitosan türevleri filmlerin FT-IR Spektrumları

#### 4.5. Keratin ve Filmlerin SEM Görüntüleri

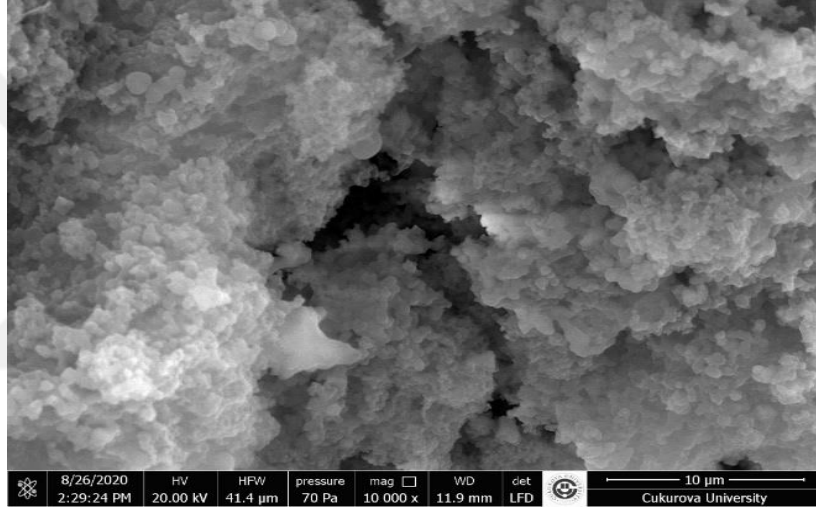
Yıkılmış tüylerin, ekstrakte edilen keratin parçacıklarının ve oluşturulan keratin-kitosan filmlerin yüzey morfolojisi SEM analizi ile araştırılmış ve ek-B de verilmiştir.

Tavuk tüyünün yüzey morfolojisi Şekil 0.13 verilmiştir. SEM görüntüleri, keratin tozunun rastgele gözenekli mikro yapılar olan süngerimsi mikro gözenekli parçacıklardan oluştuğunu ortaya çıkarmıştır (Şekil 0.14). Benzer morfoloji, tüy ve yün keratin parçacıkları için önceki raporlarda da bildirilmiştir. (Rad ve ark. 2012; Yin ve ark. 2013; Zhang ve ark. 2013). Keratin-kitosan filminin SEM görünümü heterojen gözenekli mikro yapıları ortaya çıkarmış ve bazı mikro çatlaklar da gözlenmiştir (Şekil 0.15). Keratin tozunun küresel, sıkıca paketlenmiş nanopartiküllerden ve rastgele düzenlenmiş gözenekli mikro yapılardan oluştuğunu ortaya koymaktadır.

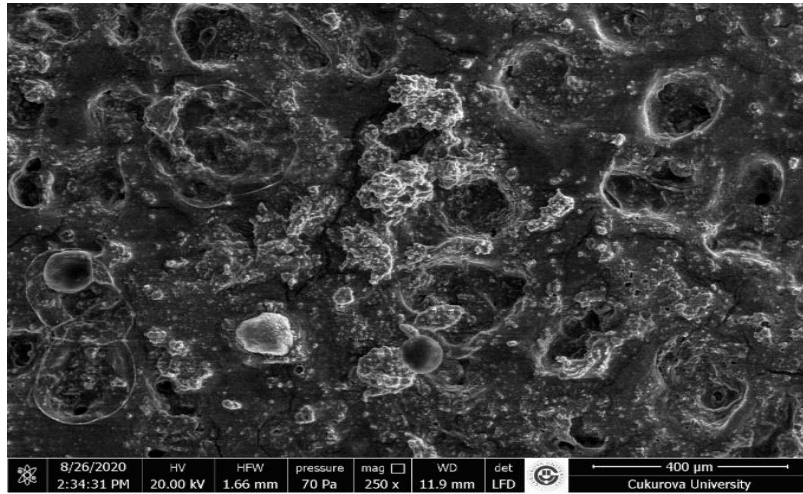




Şekil 0.16 Tavuk tüyünün SEM görüntüsü



Şekil 0.17 Keratin tozuna ait SEM görüntüsü

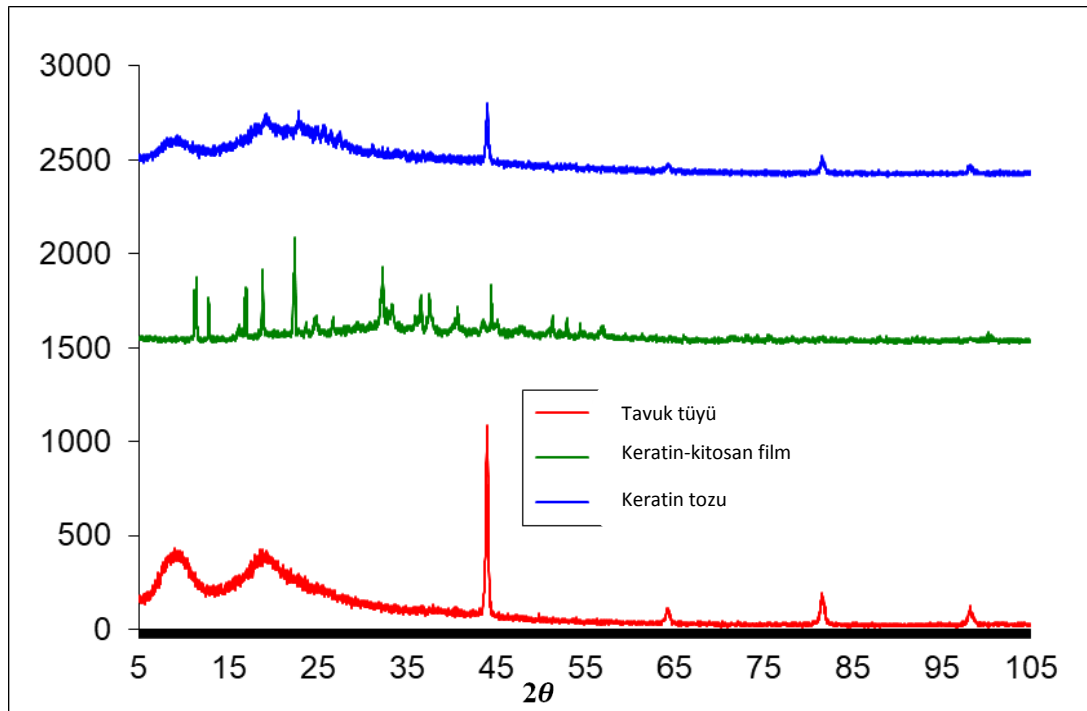


Şekil 0.18 Keratin-kitosan filminin SEM görüntüsü

#### 4.6. XRD Kırınım Desenleri

Aşağıdaki şekil tavuk tüyü, ekstrakte edilmiş keratinin ve oluşturulan keratin-kitosan filminin XRD spektrumlarını EK-C de gösterilmektedir.

XRD'nin sonuçları, tavuk tüyü, keratin-kitosan filmi ve ekstrakte edilen keratinin esas olarak yarı kristal formda bulunduğunu ve hidrolizden sonra bile kristallığı korunduğunu göstermiştir. Üç tip kristal difraksiyon piki vardır:  $\alpha$ -sarmal yapı için ( $2\theta$  arasında  $15^\circ$  ila  $31^\circ$ ), levha yapı için ( $2\theta$  arasında  $16^\circ$  ve  $31^\circ$ ) ekvatorial refleksiyonlar ve  $\alpha$ -heliks ve  $\beta$ -yaprak yapısı için ( $2\theta = 9^\circ$ ) ekvatorial yansımalar. (Feughelman ve ark. 2002; Xu ve ark. 2006).  $8^\circ$ - $9^\circ$  'deki zirveler,  $\alpha$ -sarmal konfigürasyonunun kırılma modellerini gösterdi (Khosa ve Ullah 2014; Poole ve Church 2015). Moleküler yapıda meydana gelen değişiklikler Şekil 0.19 'da gösterilmiştir.  $2\theta = 9^\circ$ - $10^\circ$  ve  $15^\circ$ - $31^\circ$  'deki iki güçlü tepe sırasıyla  $\alpha$ -heliks ve  $\beta$ -tabakaya tahsis edilmiştir (Cao 2000; Nishikawa ve ark. 1998). Hem tüy hem de ekstrakte edilmiş keratin, sırasıyla  $2\theta = 9,7^\circ$  'de görünen  $\alpha$ -sarmalın ve  $2\theta = 21,2^\circ$  ve  $2\theta = 8,4^\circ$  'de  $\beta$ -tabakanın ve  $2\theta = 19,8^\circ$  'de  $\beta$ -tabakanın difraksiyon özelliklerini gösterir (Rao ve Gupta 1992).  $2\theta = 13^\circ$  'deki kırınım zirvesi, amorf bölge için tahsis edildi. Çalışma, keratin partiküllerinin partikül kristallığının rejenerasyon işleminden sonra korunduğunu göstermiştir.



Şekil 0.19 XRD kırınım desenleri

## SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, tavuk kesimhanelerinde atık olarak çıkan tavuk tüylerinden keratin ekstraksiyonu başarılı bir şekilde yapılmış ve oluşturulan keratin çözeltisine belli oranlarda kitosan çözeltisi eklenerek film oluşturulmuştur. Elde edilen keratin partiküllerinin ve oluşturulan filmlerin FT-IR, SEM ve XRD ile yapısı aydınlatılmış ve filmlerin antibakteriyel özellikleri incelenmiştir.

Birçok kullanım alanına sahip olan keratin, tıbbi, biyomedikal ve gıda gibi alanlarda yaygın olarak kullanım alanına sahiptir. Bu bağlamda, yapılan tez çalışmasında keratin ekstraksiyonu sırasında  $\text{Na}_2\text{S}$  ve  $\text{NaOH}$  kimyasalları kullanılmıştır.  $\text{NaOH}$  ile ekstrakte edilen tavuk tüylerinden elde edilen verim %84,2 olarak bulunmuştur. Sinkiewicz ve ark. 2016 da  $\text{NaOH}$  ile yaptıkları ekstraksiyonda verimi %93,7 olarak bulmuşlardır. Bu da bizim  $\text{NaOH}$  ile ekstrakte ettiğimiz keratin literatürdeki değerden daha düşüktür. Bu yüzden daha sonra ki ekstraksiyon işlemlerine  $\text{Na}_2\text{S}$  ile devam edilmiştir. 0,5 M  $\text{Na}_2\text{S}$  konsantrasyonunda 6 saat ve 60 °C de %93,3 ile en yüksek protein konsantrasyonu bulunmuştur. Sharma ve ark. (2018) sodyum sülfür ile ekstrakte ettikleri keratinin verimini %80,2 olarak bulmuşlardır.

Bu şartlarda elde edilen keratin partiküllerinden  $\text{NaOH}$  ile keratin çözeltisi hazırlanmış ve belirlenen oranlarda keratin çözeltisi kitosana eklenerek (K-0-C-5, K-5-C-5, K-10-C-5, K-15-C-5, K-20-C-5, K-25-C-5) (K: keratin, C: kitosan) film oluşturulup antibakteriyel özelliklerine bakılmıştır. Tanabe ve ark. (2003) da tavuk tüyünden elde ettikleri keratin partikülleri ile keratin-kitosan film oluşturarak filmlerin antibakteriyel özelliklerini incelemişlerdir. Hu ve ark. (2016) yaptıkları çalışmalarında keratinin inhibasyon özelliğini belirtmişlerdir. Bu tezde yapılan antibakteriyel analiz sonucunda en iyi antibakteriyel sonucu veren film %41 oranında keratin içeren film vermiştir (K-25-C-5). Sabit oranda olan keratin çözeltisine kitosan ilavesi (K-5-C-0, K-5-C-5, K-5-C-10, K-5-C-20, K-5-C-25) yapılarak film oluşturulmuş antibakteriyel özelliğine bakılmıştır. Keratin konsantrasyon değişkenleriyle oluşturulan filmin aksine kitosan konsantrasyonları arttığında antibakteriyel özellik göstermemiş aksine daha fazla bakteri çoğalmasına yol açmıştır. Çekme testinde kopma anındaki uzama miktarını en yüksek veren K-20-C-5 film %9,86 (0,100MPa) olarak bulunmuştur. Ortalama film kalınlıkları 0,353 ile 0,490 mm arasında değişmektedir.

Sonuç olarak, NaOH, NaOH+Na<sub>2</sub>S ve Na<sub>2</sub>S kimyasalları ayrı ayrı kullanılarak keratin ekstraksiyon verimleri kıyaslandı ve en iyi verim Na<sub>2</sub>S ile elde edildi. Antibakteriyel testi sonucunda keratinin inhibasyon etkisi olduğu bulunmuş ve yapılan bu çalışma keratinin kullanım alanlarını arttırmıştır. Keratin partikülleri genellikle, saç bakımı kremi, şampuanlar, yaşlanma karşıtı krem ve ticari kullanımda yara iyileştirici krem gibi çeşitli ürünleri sentezlemek için kullanılır. Keratinin %90 protein yapılı olması göz önünde bulundurularak inhibasyon ve yara iyileştirme özelliğinin olması bir sonraki tıbbi, medikal, doku mühendisliği ve biyomühendislik çalışmalarında daha fazla kullanılması beklenmektedir.



## KAYNAKLAR

- Aboushwareb, T., Eberli, D., Ward, C., Broda, C., Holcomb, J., Atala, A. And Van Dyke, M. (2009). A keratin biomaterial gel hemostat derived from human hair: evaluation in a rabbit model of lethal liver injury. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 90(1), 45-54.
- Aluigi, A., Vineis, C., Varesano, A., Mazzuchetti, G., Ferrero, F., Tonin, C. (2008). Structure and properties of keratin/PEO blend nanofibres. *European Polymer Journal*, 44(8), 2465-2475.
- Aluigi, A., Zoccola, M., Vineis, C., Tonin, C., Ferrero, F., and Canetti, M. (2007). Study on the structure and properties of wool keratin regenerated from formic acid. *International journal of biological macromolecules*, 41(3), 266-273.
- Andrade, J. E., Perez, A., Sebastian, P. J., Eapen, D. (2011). Retracted: a review of bio-diesel production processes. *Biomass and Bioenergy*, 35(3), 1008-1020.
- Anike, D. C., Onuegbu, T. U., Ogbu, I. M., and Alaekwe, I. (2014). The effect of alkali treatment on the tensile behaviour and hardness of raffia palm fibre reinforced composites. *American Journal of Polymer Science*, 4(4), 117-121.
- Arai, K. M., Takahashi, R., Yokote, Y. Akahane, K. (1983). Amino-acid sequence of feather keratin from fowl. *European Journal of Biochemistry*, 132(3), 501-507.
- Arvanitoyannis, I. S. (1999). Totally and partially biodegradable polymer blends based on natural and synthetic macromolecules: preparation, physical properties, and potential as food packaging materials.
- Avella, M., Buzarovska, A., Errico, M. E., Gentile, G., and Grozdanov, A. (2009). Eco-challenges of bio-based polymer composites. *Materials*, 2(3), 911-925.
- Bambach, M. R. "Compression strength of natural fibre composite plates and sections of flax, jute and hemp." *Thin-Walled Structures* 119 (2017): 103-113.
- Barba, C., Méndez, S., Roddick-Lanzilotta, A., Kelly, R., Parra, J. L., and Coderch, L. (2008). Cosmetic effectiveness of topically applied hydrolysed keratin peptides and lipids derived from wool. *Skin Research and Technology*, 14(2), 243-248.
- Barone, J. R. (2009). Lignocellulosic fiber-reinforced keratin polymer composites. *Journal of Polymers and the Environment*, 17(2), 143.

- Barone, J. R., and Schmidt, W. F. (2005). Polyethylene reinforced with keratin fibers obtained from chicken feathers. *Composites Science and Technology*, 65(2), 173-181.
- Barone, J. R., Schmidt, W. F., and Liebner, C. F. (2005). Thermally processed keratin films. *Journal of applied polymer science*, 97(4), 1644-1651.
- Bellich, B., D'Agostino, I., Semeraro, S., Gamini, A., and Cesàro, A. (2016). "The good, the bad and the ugly" of chitosans. *Marine drugs*, 14(5), 99.
- Cao, J. (2000). Is the  $\alpha$ - $\beta$  transition of keratin a transition of  $\alpha$ -helices to  $\beta$ -pleated sheets? Part I. In situ XRD studies. *Journal of Molecular Structure*, 553(1-3), 101-107.
- Cardamone, J. M. (2010). Investigating the microstructure of keratin extracted from wool: Peptide sequence (MALDI-TOF/TOF) and protein conformation (FTIR). *Journal of molecular structure*, 969(1-3), 97-105.
- Casadidio, C., Peregrina, D. V., Gigliobianco, M. R., Deng, S., Censi, R., and Di Martino, P. (2019). Chitin and chitosans: Characteristics, eco-friendly processes, and applications in cosmetic science. *Marine drugs*, 17(6), 369.
- Chang, W. P., Kim, K. J., and Gupta, R. K. (2009). Moisture absorption behavior of wood/plastic composites made with ultrasound-assisted alkali-treated wood particulates. *Composite Interfaces*, 16(7-9), 937-951.
- Cheng, S., Lau, K. T., Liu, T., Zhao, Y., Lam, P. M., and Yin, Y. (2009). Mechanical and thermal properties of chicken feather fiber/PLA green composites. *Composites Part B: Engineering*, 40(7), 650-654.
- Edwards, A., Jarvis, D., Hopkins, T., Pixley, S., and Bhattarai, N. (2015). Poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/keratin-based composite nanofibers for biomedical applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 103(1), 21-30.
- Edwards, H. G. M., Hunt, D. E., and Sibley, M. G. (1998). FT-Raman spectroscopic study of keratotic materials: horn, hoof and tortoiseshell. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 54(5), 745-757.
- Eslahi, N., Dadashian, F., and Nejad, N. H. (2013). An investigation on keratin extraction from wool and feather waste by enzymatic hydrolysis. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 43(7), 624-648.

- Fernández-d'Arlas, B. (2019). Tough and functional cross-linked bioplastics from sheep wool keratin. *Scientific reports*, 9(1), 1-12.
- Feughelman M, Lyman D, Willis B (2002) The parallel helices of the intermediate filaments of  $\alpha$ -keratin. *Int J Biol Macromol* 30:95–96
- Flores-Hernández, C. G., Colín-Cruz, A., Velasco-Santos, C., Castaño, V. M., Rivera-Armenta, J. L., Almendarez-Camarillo, A. and Martínez-Hernández, A. L. (2014). All green composites from fully renewable biopolymers: Chitosan-starch reinforced with keratin from feathers. *Polymers*, 6(3), 686-705.
- Flores-Hernández, C. G., Colin-Cruz, A., Velasco-Santos, C., Castaño, V. M., Almendarez-Camarillo, A., Olivas-Armendariz, I. and Martínez-Hernández, A. L. (2018). Chitosan–starch–keratin composites: improving thermo-mechanical and degradation properties through chemical modification. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(5), 2182-2191.
- Fraser, R. D. B., MacRae, T. P. and Rogers, G. E. (1972). Keratins: their composition, structure and biosynthesis.
- Fujii, T. and Li, D. (2008). Preparation and properties of protein films and particles from chicken feather. *J. Biol. Macromol*, 8(2), 48-55.
- Gaidau, C., Petica, A., Ciobanu, C., and Martinescu, T. (2009). Investigations on antimicrobial activity of collagen and keratin based materials doped with silver nanoparticles. *Biotechnology Letters*, 14(5), 4665-4672.
- Goda, K., Sreekala, M. S., Gomes, A., Kaji, T., and Ohgi, J. (2006). Improvement of plant based natural fibers for toughening green composites—Effect of load application during mercerization of ramie fibers. *Composites Part A: Applied science and manufacturing*, 37(12), 2213-2220.
- Canpolat, İ. (2013). *Tavuk Tüyü Keratininin Graft Kopolimerizasyonu* (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Harkins, A. L., Duri, S., Kloth, L. C., and Tran, C. D. (2014). Chitosan–cellulose composite for wound dressing material. Part 2. Antimicrobial activity, blood absorption ability, and biocompatibility. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 102(6), 1199-1206.

- Idris, A., Vijayaraghavan, R., Rana, U. A., Fredericks, D., Patti, A. F., and Macfarlane, D. R. (2013). Dissolution of feather keratin in ionic liquids. *Green chemistry*, 15(2), 525-534.
- Jayasundera, S., Schmidt, W. F., Hapeman, C. J., and Torrents, A. (2003). Examination of molecular interaction sites of acetanilides with organic matter surrogates using nuclear magnetic resonance techniques. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(13), 3829-3835.
- John, M. J., and Anandjiwala, R. D. (2008). Recent developments in chemical modification and characterization of natural fiber-reinforced composites. *Polymer composites*, 29(2), 187-207.
- Joseph, S., Oommen, Z., & Thomas, S. (2006). Environmental durability of banana-fiber-reinforced phenol formaldehyde composites. *Journal of applied polymer science*, 100(3), 2521-2531.
- Katoh, K., Shibayama, M., Tanabe, T., and Yamauchi, K. (2004). Preparation and properties of keratin–poly (vinyl alcohol) blend fiber. *Journal of applied polymer science*, 91(2), 756-762.
- Katoh, K., Shibayama, M., Tanabe, T., and Yamauchi, K. (2004). Preparation and properties of keratin–poly (vinyl alcohol) blend fiber. *Journal of applied polymer science*, 91(2), 756-762. ([www.toppr.com/bytes/polyvinyl-alcohol/](http://www.toppr.com/bytes/polyvinyl-alcohol/))
- Keener, T. J., Stuart, R. K., & Brown, T. K. (2004). Maleated coupling agents for natural fibre composites. *Composites part A: applied science and manufacturing*, 35(3), 357-362.
- Khosa MA, Ullah A (2014) In-situ modification, regeneration, and application of keratin biopolymer for arsenic removal. *J Hazard Mater* 278:360–371
- Khosa, M. A., Wu, J., and Ullah, A. (2013). Chemical modification, characterization, and application of chicken feathers as novel biosorbents. *Rsc Advances*, 3(43), 20800-20810.
- Wrześniewska-Tosik, K., and Adamiec, J. (2007). Biocomposites with a content of keratin from chicken feathers. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 15(1), 60.



- Li, S., and Yang, X. H. (2014). Fabrication and characterization of electrospun wool keratin/poly (vinyl alcohol) blend nanofibers. *Advances in materials science and engineering*, 2014.
- Li, X., Tabil, L. G., and Panigrahi, S. (2007). Chemical treatments of natural fiber for use in natural fiber-reinforced composites: a review. *Journal of Polymers and the Environment*, 15(1), 25-33.
- Liu, R., Li, L., Liu, S., Li, S., Zhu, X., Yi, M., and Liao, X. (2018). Structure and properties of wool keratin/poly (vinyl alcohol) blended fiber. *Advances in Polymer Technology*, 37(8), 2756-2762.
- Liu, S., Huang, K., Yu, H., and Wu, F. (2018). Bioplastic based on 1, 8-octanediol-plasticized feather keratin: A material for food packaging and biomedical applications. *Journal of Applied Polymer Science*, 135(30), 46516.
- Ma, B., Qiao, X., Hou, X., and Yang, Y. (2016). Pure keratin membrane and fibers from chicken feather. *International journal of biological macromolecules*, 89, 614-621.
- Mark, H. F., and Kroschwitz, J. I. (1985). *Encyclopedia of polymer science and engineering*.
- Martelli, S. M., and Laurindo, J. B. (2012). Chicken feather keratin films plasticized with polyethylene glycol. *International Journal of Polymeric Materials*, 61(1), 17-29.
- Martelli, S. M., Moore, G. R. P., and Laurindo, J. B. (2006). Mechanical properties, water vapor permeability and water affinity of feather keratin films plasticized with sorbitol. *Journal of Polymers and the Environment*, 14(3), 215-222.
- Martínez-Hernández, A. L., Velasco-Santos, C., De-Icaza, M., and Castano, V. M. (2007). Dynamical–mechanical and thermal analysis of polymeric composites reinforced with keratin biofibers from chicken feathers. *Composites Part B: Engineering*, 38(3), 405-410.
- Martinez-Hernandez, A. L., Velasco-Santos, C., De Icaza, M., and Castano, V. M. (2005). Microstructural characterisation of keratin fibres from chicken feathers. *International journal of environment and pollution*, 23(2), 162-178.
- Rosewald, M., Hou, F. Y. S., Mututuvvari, T., Harkins, A., and Tran, C. (2014). Cellulose-chitosan-keratin composite materials: synthesis, immunological and antibacterial properties. *ECS transactions*, 64(4), 499.

- Mohanty, A. K., Misra, M., and Drzal, L. T. (Eds.). (2005). *Natural fibers, biopolymers, and biocomposites*. CRC press.
- Mokrejs, P., Svoboda, P., Hrcirik, J., Janacova, D., & Vasek, V. (2011). Processing poultry feathers into keratin hydrolysate through alkaline-enzymatic hydrolysis. *Waste management & research*, 29(3), 260-267.
- Moore, G. R. P., Martelli, S. M., Gandolfo, C., Amaral Sobral, P. J., and Laurindo, J. B. (2006). Influence of the glycerol concentration on some physical properties of feather keratin films. *Food Hydrocolloids*, 20(7), 975-982.
- Murari, S. K., Frey, F. J., Frey, B. M., Gowda, T. V., and Vishwanath, B. S. (2005). Use of Pavo cristatus feather extract for the better management of snakebites: neutralization of inflammatory reactions. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2), 229-237.
- Nakamura, A., Arimoto, M., Takeuchi, K., and Fujii, T. (2002). A rapid extraction procedure of human hair proteins and identification of phosphorylated species. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(5), 569-572.
- Nishikawa, N., Tanizawa, Y., Tanaka, S., Horiguchi, Y., and Asakura, T. (1998). Structural change of keratin protein in human hair by permanent waving treatment. *Polymer*, 39(16), 3835-3840.
- Nogi M, Iwamoto S, Nakagaito AN, Yano H. *Adv Mater* 2009;21(16):1595e8.
- O'donnell, I. J. (1973). A search for a simple keratin-fractionation and peptide mapping of proteins from feather keratins. *Australian Journal of Biological Sciences*, 26(2), 401-414.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., and Vyvyan, J. A. (2008). *Introduction to spectroscopy*. Cengage Learning.
- Poole AJ, Church JS (2015) The effects of physical and chemical treatments on Na<sub>2</sub>S (sodyum sülfür) produced feather keratin flms. *Int J Biol Macromol* 73:99–108
- Poole, A. J., Church, J. S., and Huson, M. G. (2009). Environmentally sustainable fibers from regenerated protein. *Biomacromolecules*, 10(1), 1-8.

- Popescu, A. M., and Etzioni, O. (2007). Extracting product features and opinions from reviews. In *Natural language processing and text mining* (pp. 9-28). Springer, London.
- Pourjavaheri, F., Pour, S. O., Jones, O. A., Smooker, P. M., Brkljača, R., Sherkat, F., and Shanks, R. A. (2019). Extraction of keratin from waste chicken feathers using sodium sulfide and L-cysteine. *Process Biochemistry*, 82, 205-214.
- Kakkar, P., Verma, S., Manjubala, I., and Madhan, B. (2014). Development of keratin–chitosan–gelatin composite scaffold for soft tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 45, 343-347.
- Rad ZP, Tavanai H, Moradi A (2012) Production of feather keratin nanopowder through electrospraying. *J Aerosol Sci* 51:49–56
- Raja, S. T. K., Thiruselvi, T., Sailakshmi, G., Ganesh, S., and Gnanamani, A. (2013). Rejoining of cut wounds by engineered gelatin–keratin glue. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(8), 4030-4039.
- Rao DR, Gupta V (1992) Crystallite orientation in wool fibers. *J Appl Polym Sci* 46:1109–1112
- Reddy, N., and Yang, Y. (2007). Structure and properties of chicken feather barbs as natural protein fibers. *Journal of Polymers and the Environment*, 15(2), 81-87.
- Reichl, S., Borrelli, M., and Geerling, G. (2011). Keratin films for ocular surface reconstruction. *Biomaterials*, 32(13), 3375-3386.
- Rosewald, M., Hou, F. Y. S., m Mututuvvari, T., Harkins, A., and Tran, C. (2014). Cellulose-chitosan-keratin composite materials: synthesis, immunological and antibacterial properties. *ECS transactions*, 64(4), 499.
- Rouse, J. G., and Van Dyke, M. E. (2010). A review of keratin-based biomaterials for biomedical applications. *Materials*, 3(2), 999-1014.
- Sakurada, I. (1985). *Polyvinyl alcohol fibers* (Vol. 6). CRC Press.
- Schmidt, W. F., & Line, M. J. (1996). Physical and chemical structures of poultry feather fiber fractions in fiber process development. In *Nonwovens Conference* (pp. 135-140). Tappi Press.

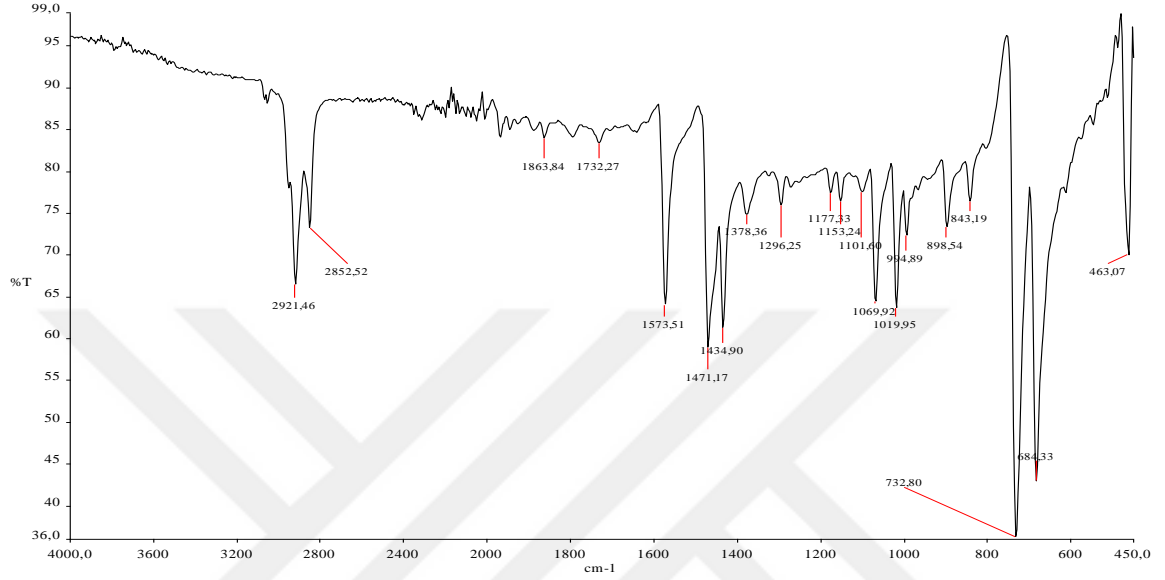
- Schrooyen, P. M., Dijkstra, P. J., Oberthür, R. C., Bantjes, A., and Feijen, J. (2000). Partially carboxymethylated feather keratins. 1. Properties in aqueous systems. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4326-4334.
- Schrooyen, P. M., Dijkstra, P. J., Oberthür, R. C., Bantjes, A., and Feijen, J. (2001). Partially carboxymethylated feather keratins. 2. Thermal and mechanical properties of films. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(1), 221-230.
- Sharma, S., and Gupta, A. (2016). Sustainable management of keratin waste biomass: applications and future perspectives. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59.
- Sharma, S., Gupta, A., Kumar, A., Kee, C. G., Kamyab, H. and Saufi, S. M. (2018). An efficient conversion of waste feather keratin into ecofriendly bioplastic film. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20(10), 2157-2167.
- Sinkiewicz, I., Śliwińska, A., Staroszczyk, H., and Kołodziejaska, I. (2017). Alternative methods of preparation of soluble keratin from chicken feathers. *Waste and biomass valorization*, 8(4), 1043-1048.
- Sionkowska, A., Skopinska-Wisniewska, J., Planecka, A., and Kozłowska, J. (2010). The influence of UV irradiation on the properties of chitosan films containing keratin. *Polymer degradation and stability*, 95(12), 2486-2491.
- Ayutthaya, S. I. N., Tanpichai, S., and Wootthikanokkhan, J. (2015). Keratin extracted from chicken feather waste: extraction, preparation, and structural characterization of the keratin and keratin/biopolymer films and electrospuns. *Journal of Polymers and the Environment*, 23(4), 506-516.
- Tanabe, T., Okitsu, N., Tachibana, A., and Yamauchi, K. (2002). Preparation and characterization of keratin–chitosan composite film. *Biomaterials*, 23(3), 817-825.
- Tanase, C. E., and Spiridon, I. (2014). PLA/chitosan/keratin composites for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, 40, 242-247.
- Tran, C. D., Duri, S., Delneri, A., and Franko, M. (2013). Chitosan-cellulose composite materials: preparation, characterization and application for removal of microcystin. *Journal of Hazardous Materials*, 252, 355-366.
- Vasconcelos, A., and Cavaco-Paulo, A. (2013). The use of keratin in biomedical applications. *Current drug targets*, 14(5), 612-619.

- Vasconcelos, A., Freddi, G., and Cavaco-Paulo, A. (2008). Biodegradable materials based on silk fibroin and keratin. *Biomacromolecules*, 9(4), 1299-1305.
- Vilaseca, F., Mendez, J. A., Pelach, A., Llop, M., Canigueral, N., Girones, J., and Mutje, P. (2007). Composite materials derived from biodegradable starch polymer and jute strands. *Process Biochemistry*, 42(3), 329-334.
- Wojciechowska, E., Włochowicz, A., and Weselucha-Birczyńska, A. (1999). Application of Fourier-transform infrared and Raman spectroscopy to study degradation of the wool fiber keratin. *Journal of Molecular Structure*, 511, 307-318.
- Wrześniewska-Tosik, K., and Adamiec, J. (2007). Biocomposites with a content of keratin from chicken feathers. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 15(1), 60.
- Xu W, Ke G, Wu J, Wang X (2006) Modification of wool fiber using steam explosion. *Eur Polym J* 42:2168–2173
- Yamauchi, K., Maniwa, M., & Mori, T. (1998). Cultivation of fibroblast cells on keratin-coated substrata. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 9(3), 259-270.
- Yano H, Sugiyama J, Nakagaito AN, Nogi M, Matsuura T, Hikita M, *Adv Mater* 2005;17(2):153e5
- Yin X-C, Li F-Y, He Y-F, Wang Y, Wang R-M (2013) Study on effective extraction of chicken feather keratins and their films for controlling drug release. *Biomater Sci* 1:528–536
- Yin, X. C., Li, F. Y., He, Y. F., Wang, Y., and Wang, R. M. (2013). Study on effective extraction of chicken feather keratins and their films for controlling drug release. *Biomaterials Science*, 1(5), 528-536.
- Zhang, J., Li, Y., Li, J., Zhao, Z., Liu, X., Li, Z., and Chen, A. (2013). Isolation and characterization of biofunctional keratin particles extracted from wool wastes. *Powder technology*, 246, 356-362.
- Zhao, Y., and Ding, Z. (2012, June). The application of keratin in the field of wood adhesive. In *World Automation Congress 2012* (pp. 1-5). IEEE.
- Zoccola, M., Aluigi, A., Vineis, C., Tonin, C., Ferrero, F., and Piacentino, M. G. (2008). Study on cast membranes and electrospun nanofibers made from keratin/fibroin blends. *Biomacromolecules*, 9(10), 2819-2825.

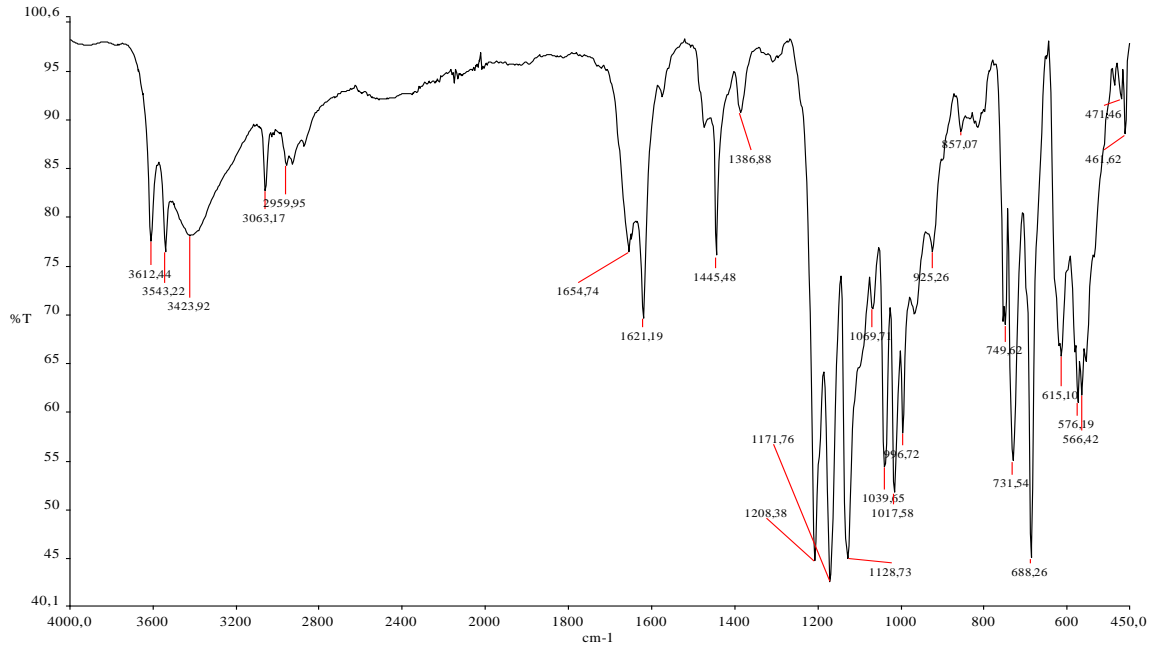
## EKLER

### EK-A

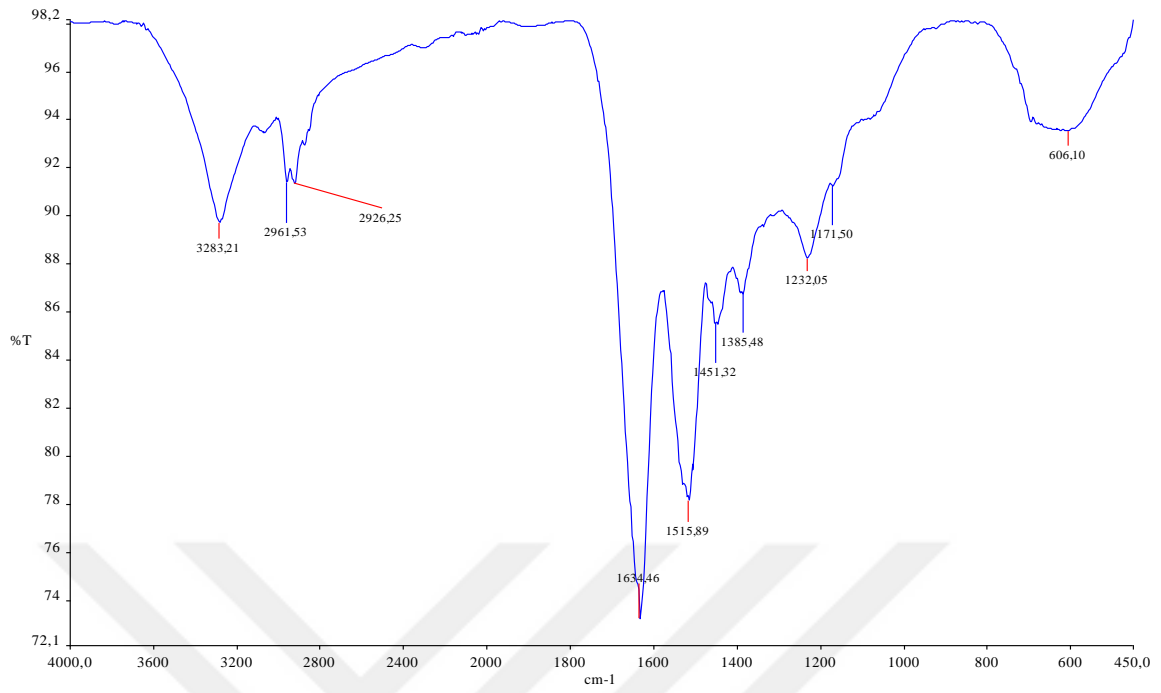
Keratin partikülleri ve keratin-kitosan filmlerine ait FT-IR spektrumları aşağıda verilmiştir.



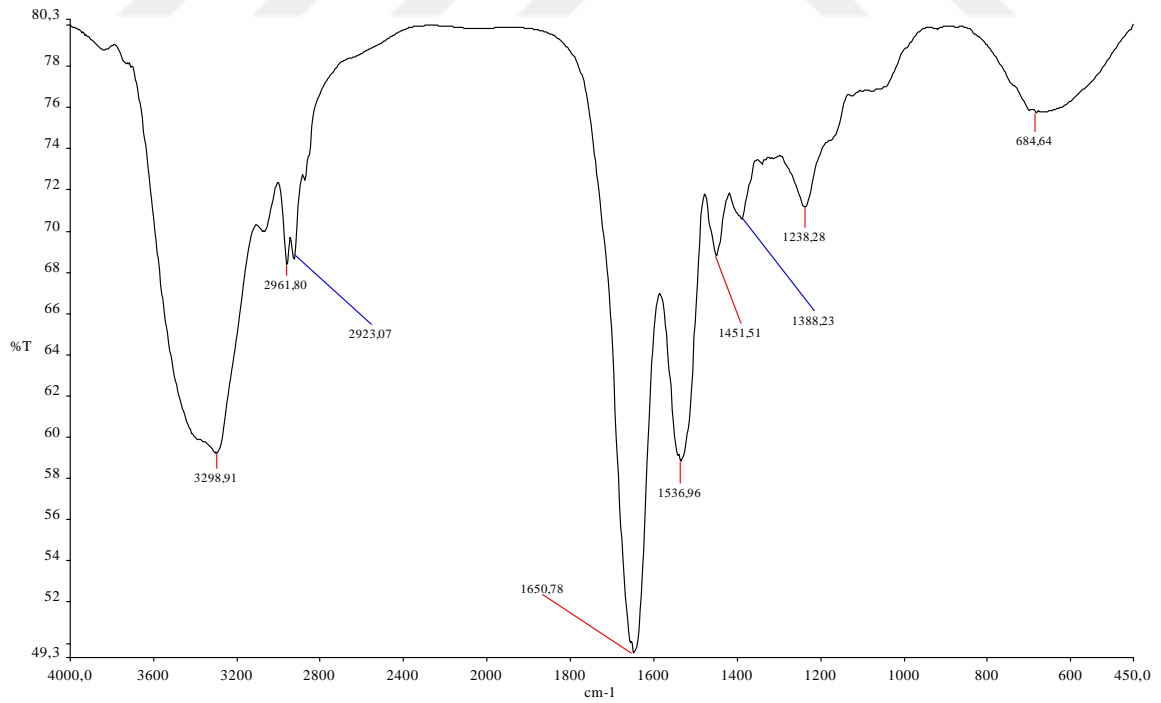
Şekil 1. Tavuk tüyünün Na<sub>2</sub>S ile ekstraksiyon sonucu keratin partiküllerinin FT-IR spektrumu



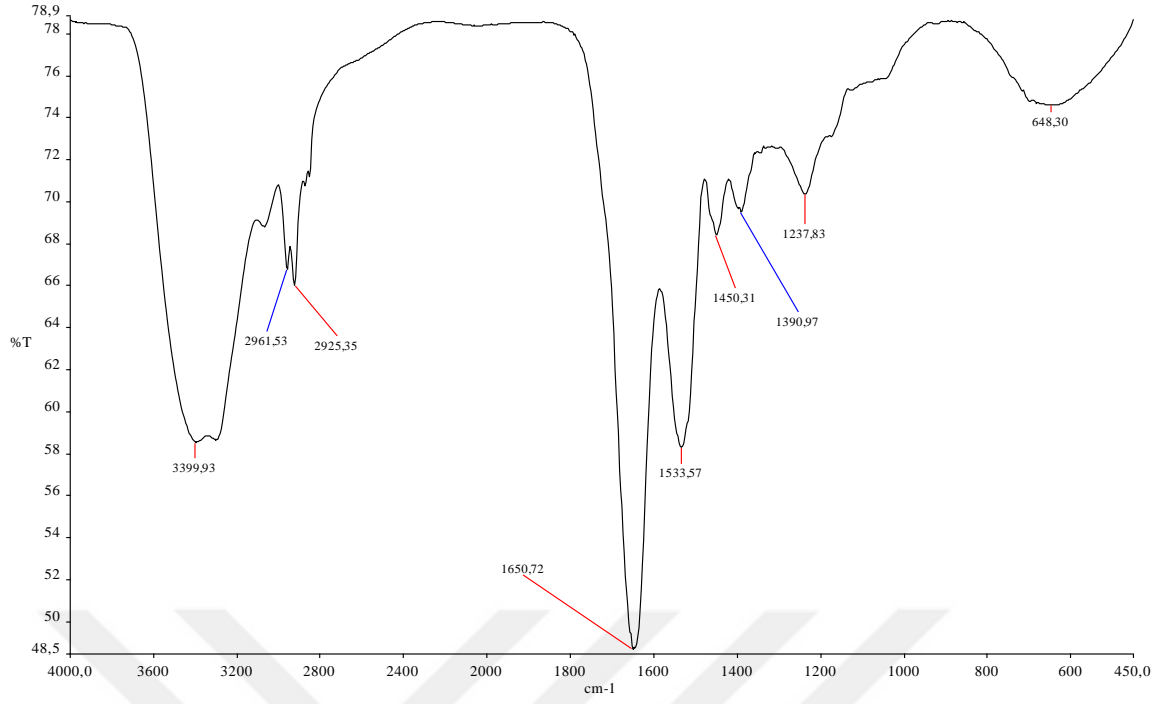
Şekil 2. Tavuk tüyünün Na<sub>2</sub>S+NaOH ile ekstraksiyon sonucu keratin partiküllerinin FT-IR spektrumu



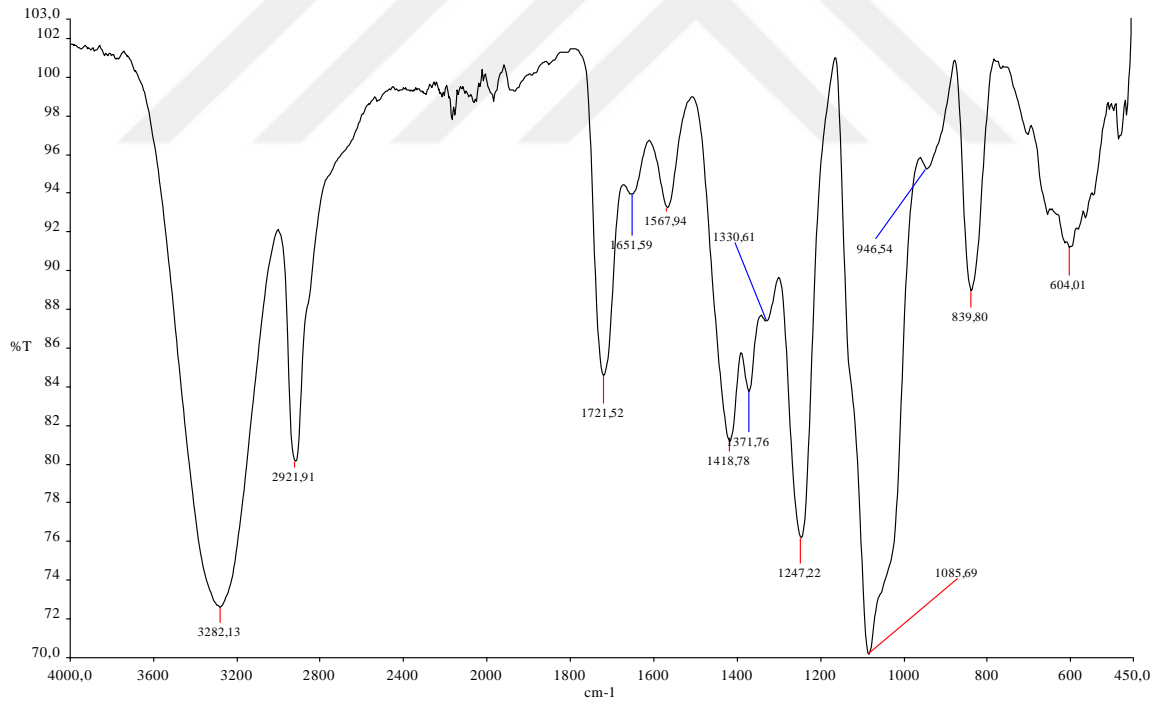
Şekil 3. 0,25M Na<sub>2</sub>S konsatrasyonunda ekstrakte sonucu keratin partiküllerinin FT-IR spektrumu



Şekil 4. 0,5M Na<sub>2</sub>S konsatrasyonunda ekstrakte sonucu keratin partiküllerinin FT-IR spektrumu

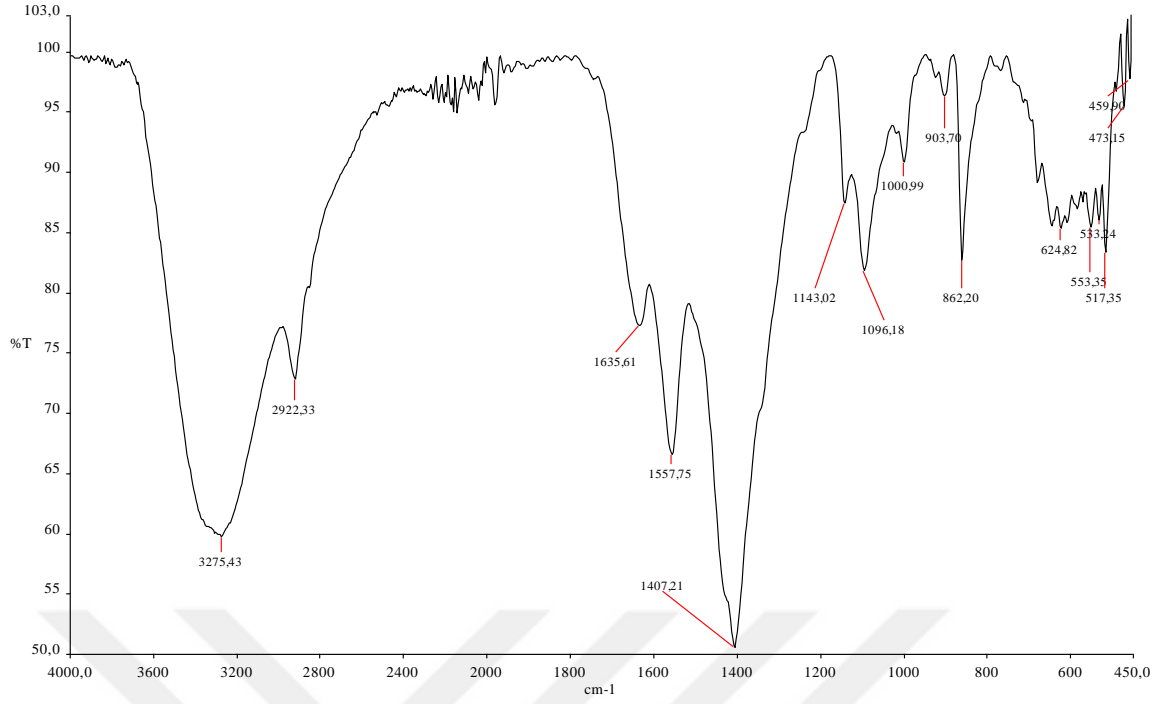


Şekil 5. 0,75M Na<sub>2</sub>S konsatrasyonunda ekstrakte sonucu keratin partiküllerinin FT-IR spektrumu

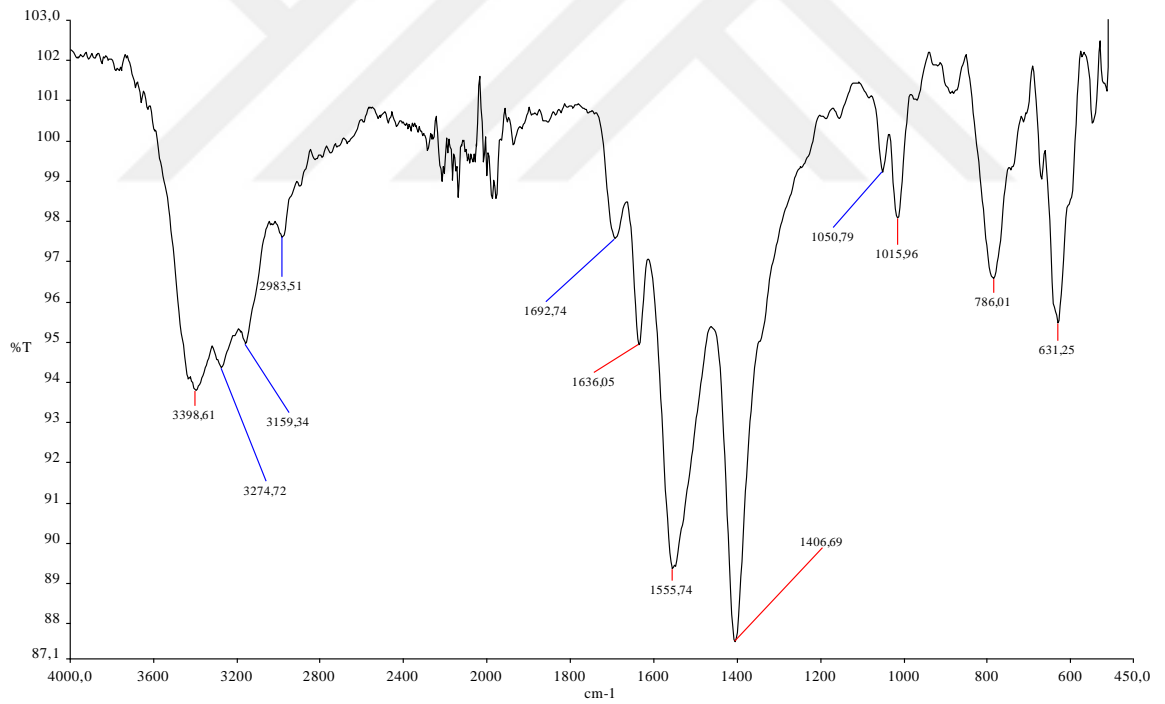


Şekil 6. Oluşturulan PVA filmin FT-IR spektrumu

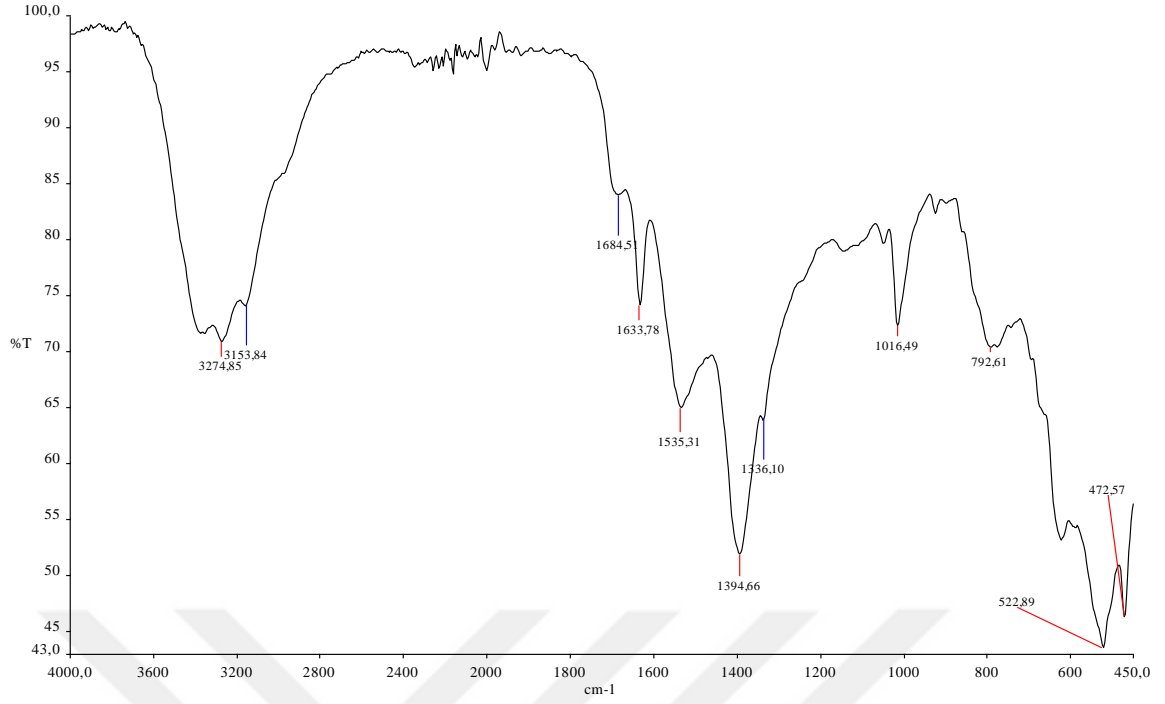




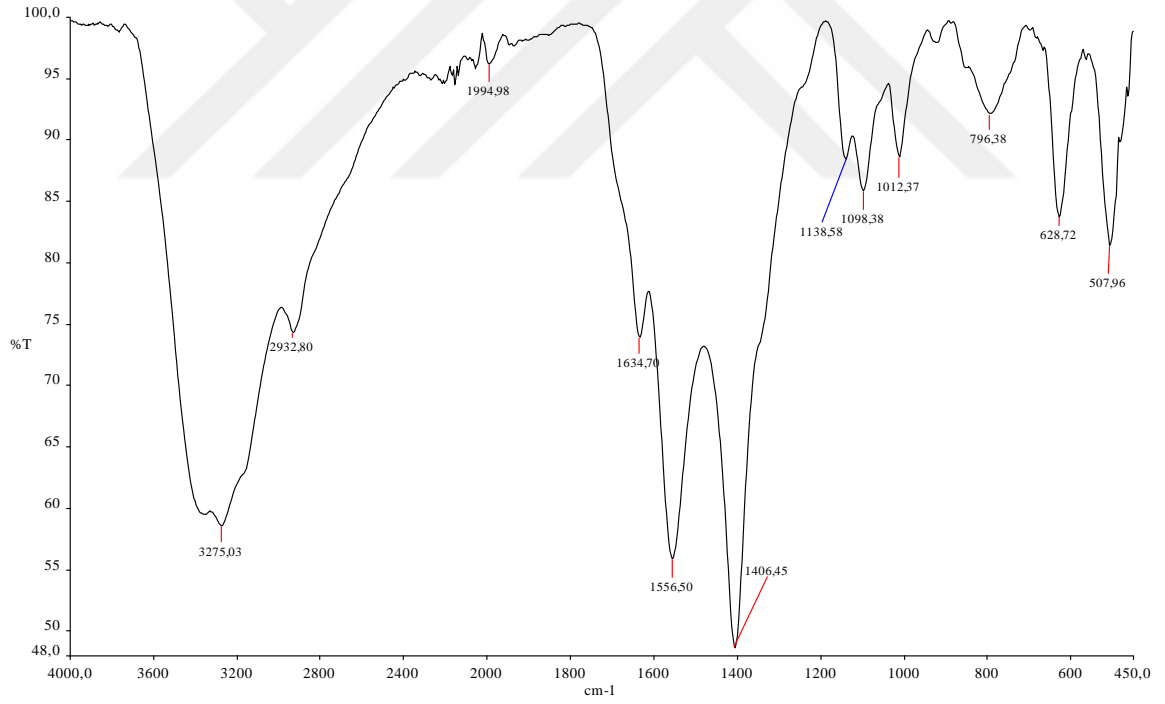
Şekil 7. K-5-C-0 filmin FT-IR spektrumu



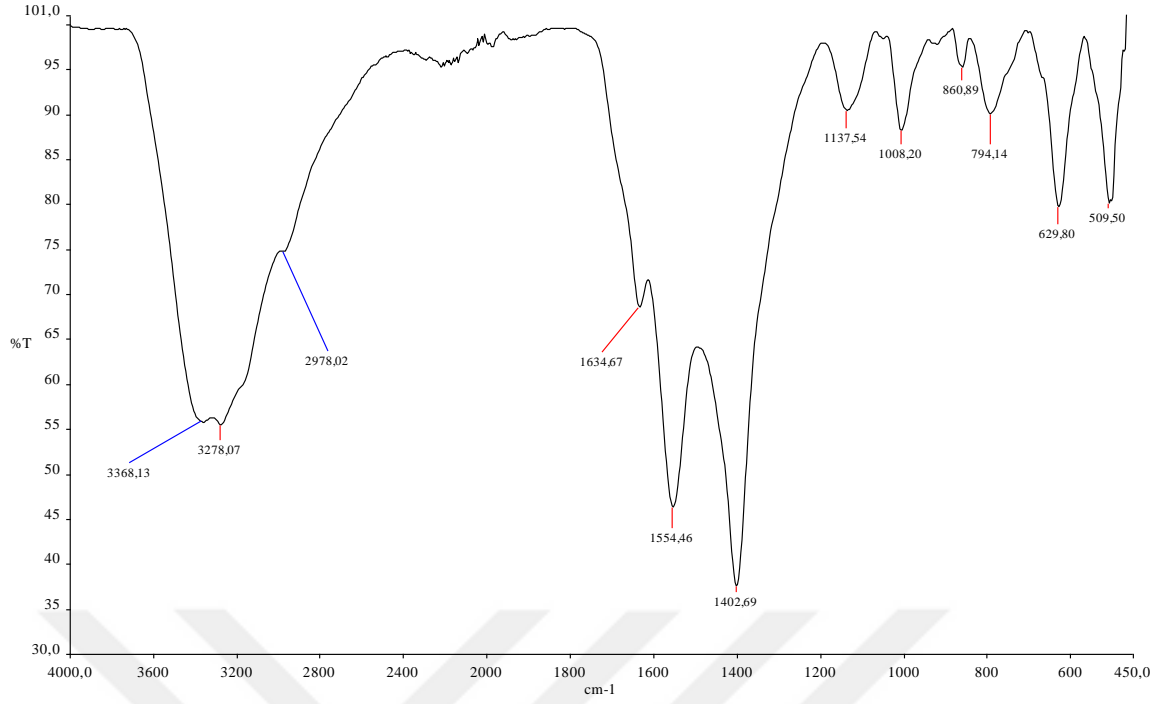
Şekil 8. K-0-C-5 filmin FT-IR spektrumu



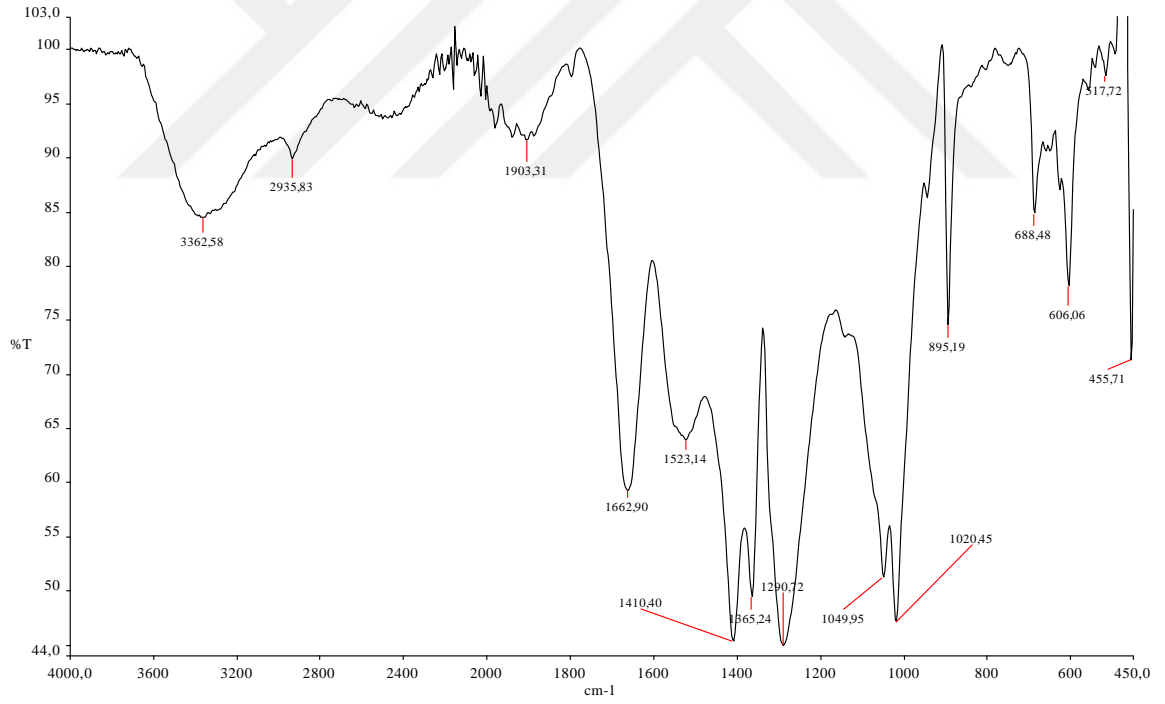
Şekil 9. K-5-C-5 filmin FT-IR spektrumu



Şekil 10. K-15-C-5 filmin FT-IR spektrumu



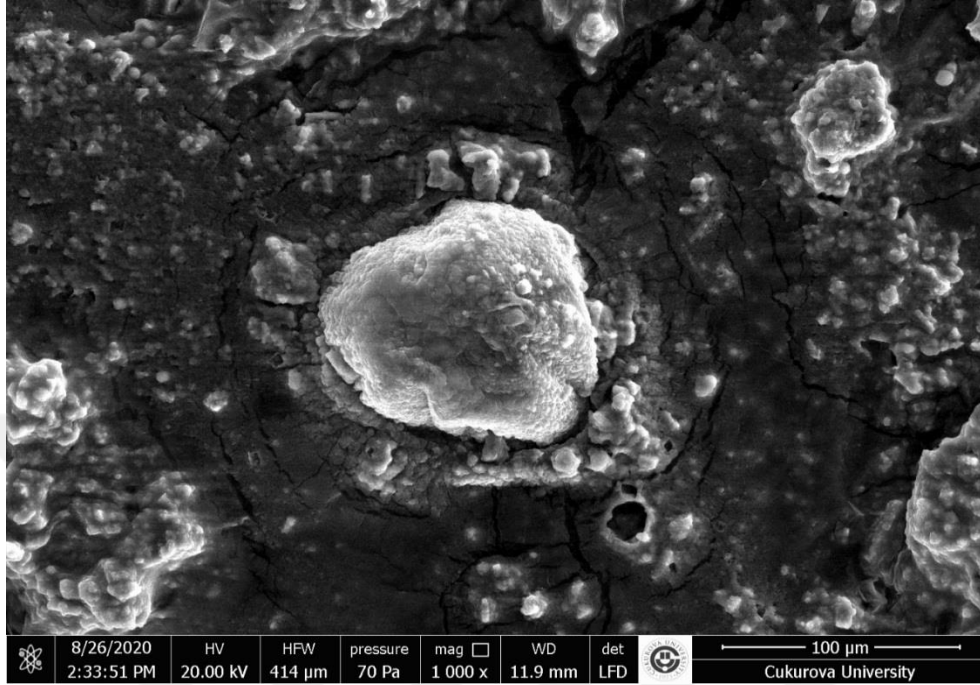
Şekil 11. K-20-C-5 (ker:20mL, kitosan:5mL) filmin FT-IR spektrumu



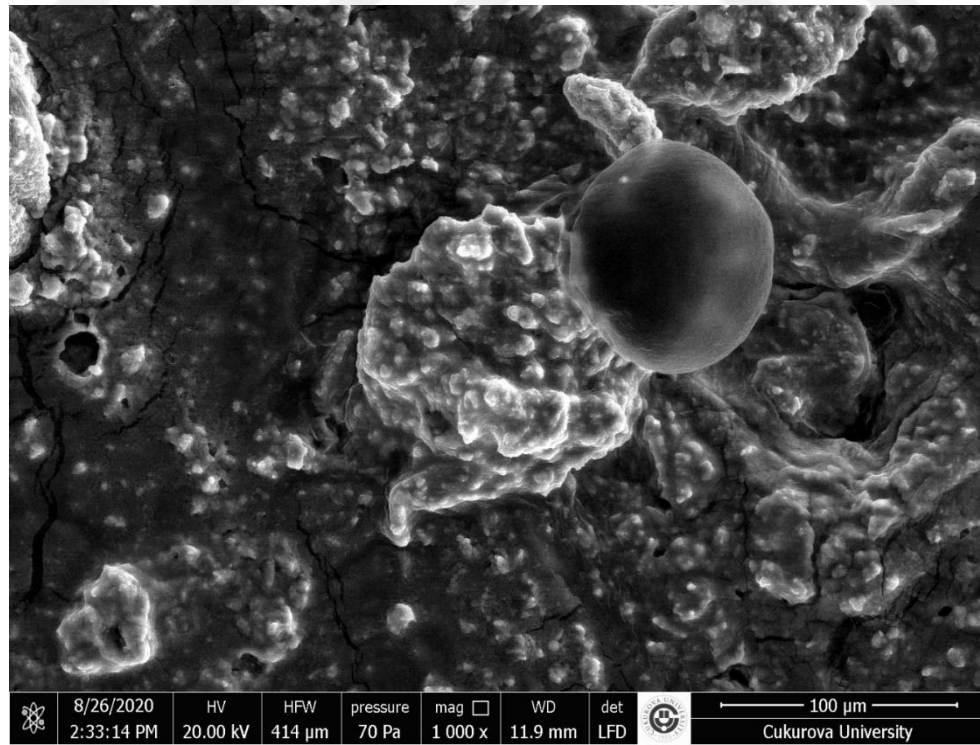
Şekil 12. K-5-C-15 filmin FT-IR spektrumu

## EK – B

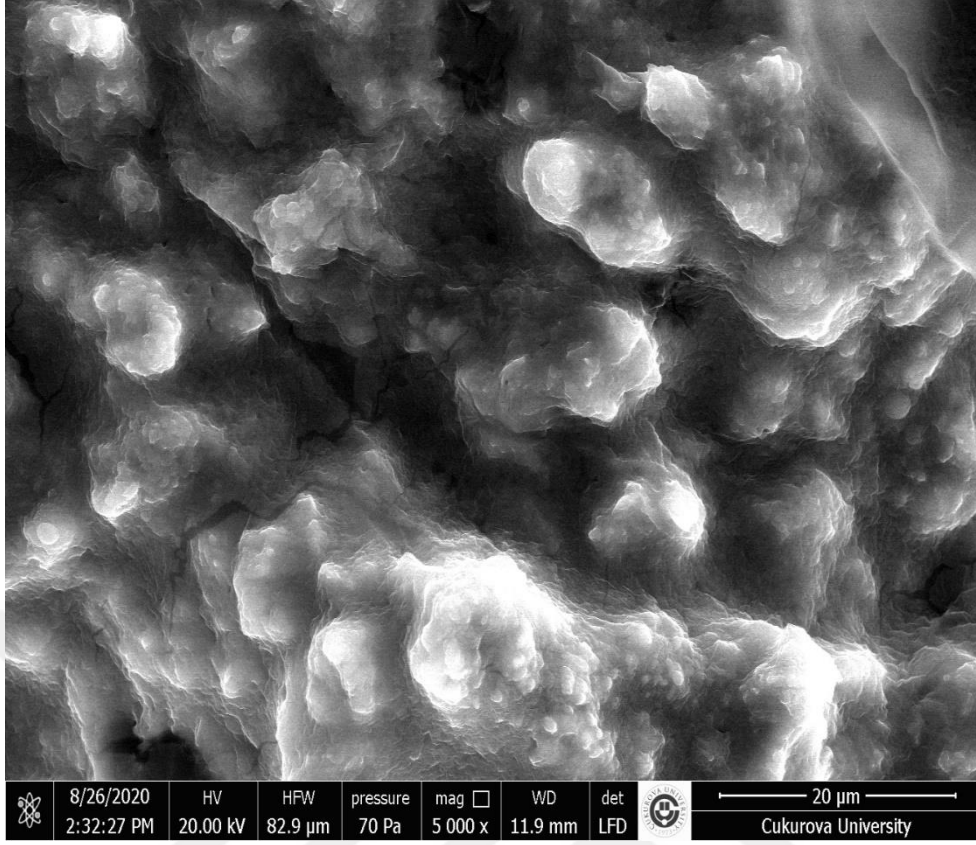
Tavuk tüyü, keratin tozu ve keratin-kitosan filmlerinin SEM görüntüleri aşağıda verilmiştir.



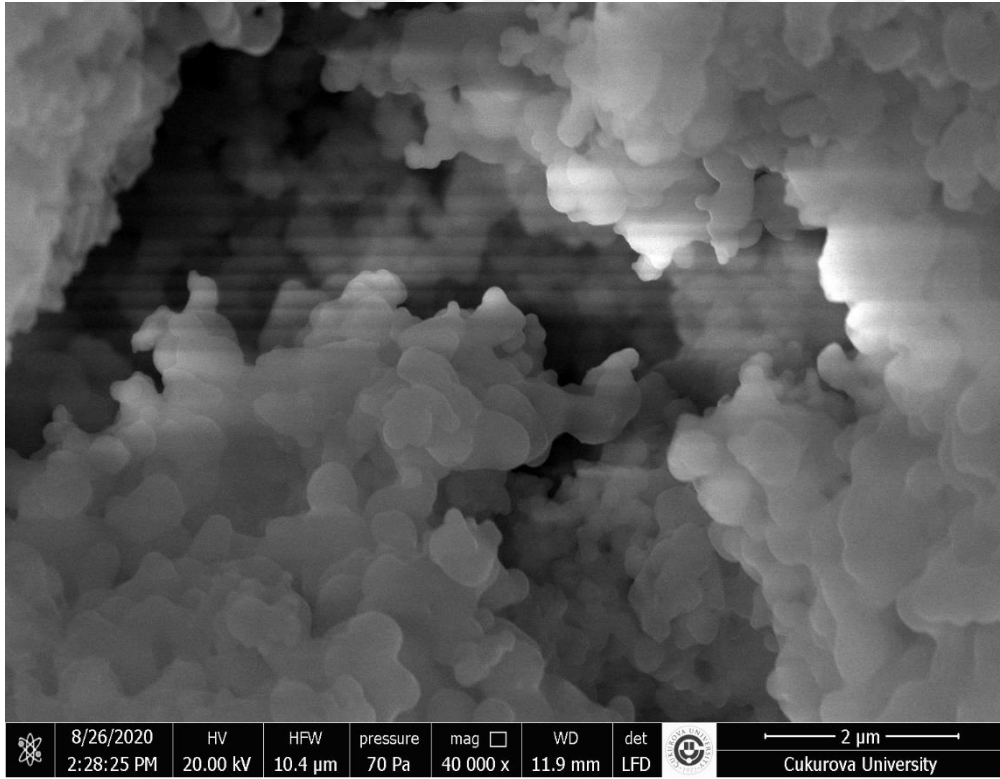
Şekil 13. K-25-C-5 filminin SEM görüntüsü



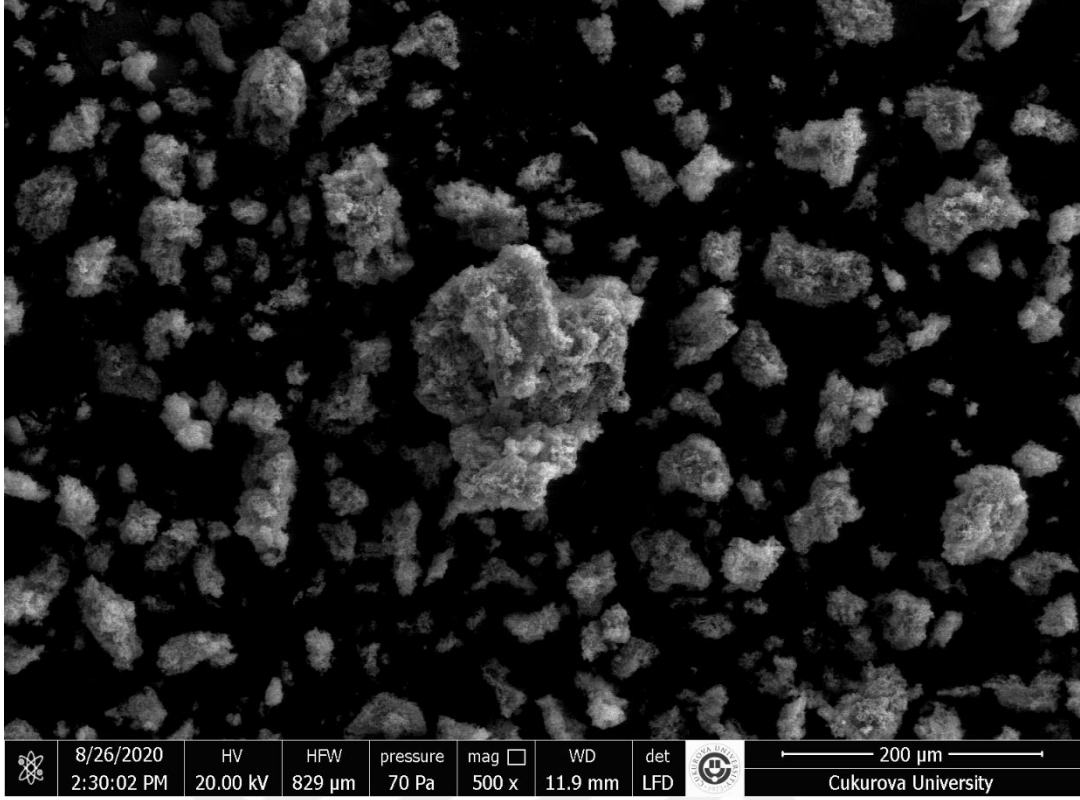
Şekil 14. K-25-C-5 filminin SEM görüntüsü



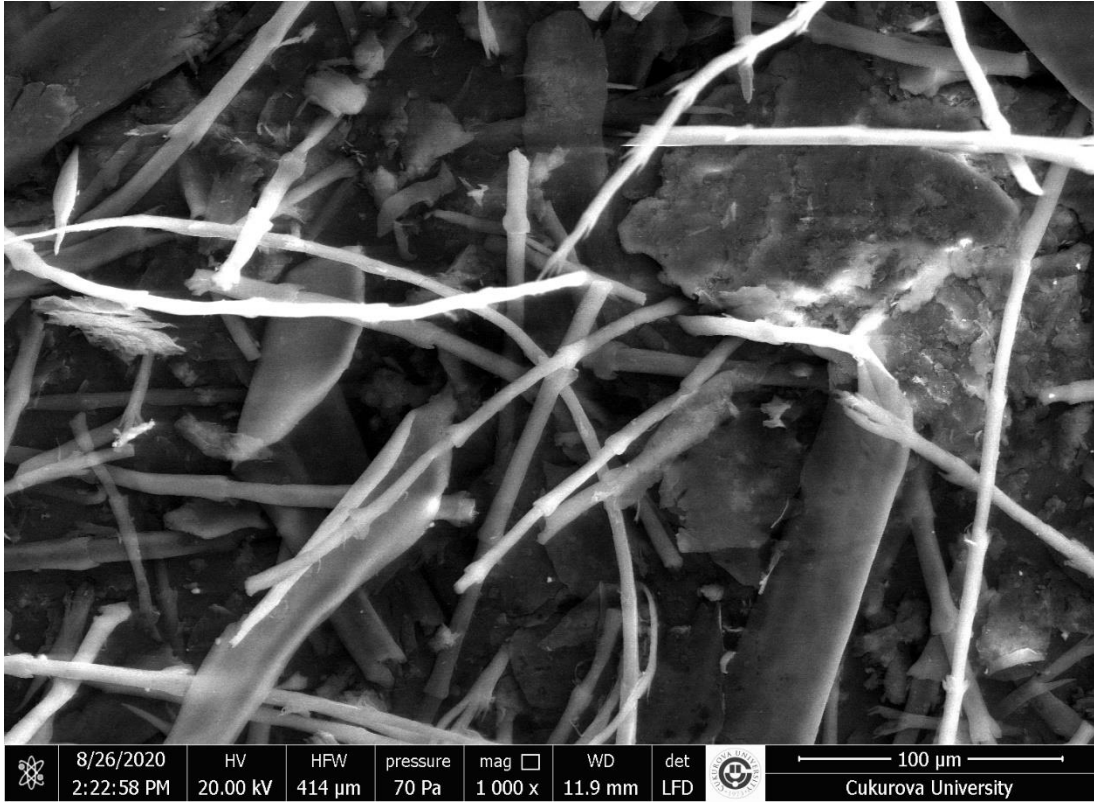
Şekil 15. K-25-C-5 filminin SEM görüntüsü



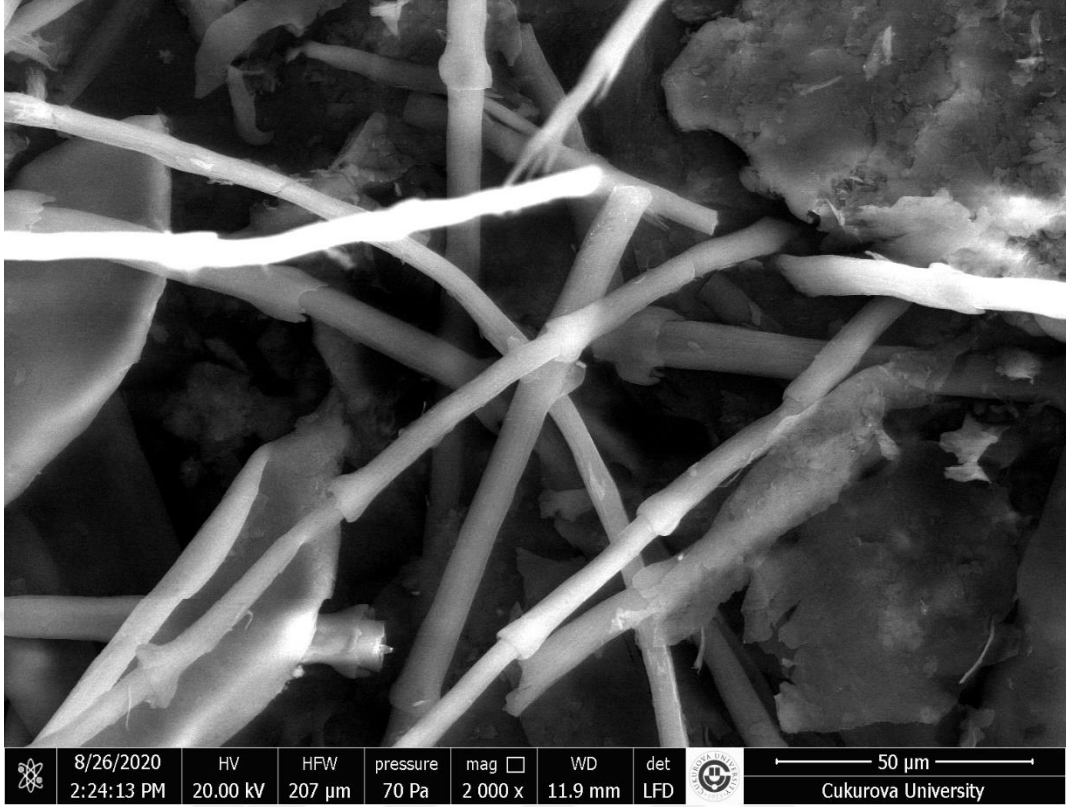
Şekil 16. Keratin tozunun SEM görüntüsü



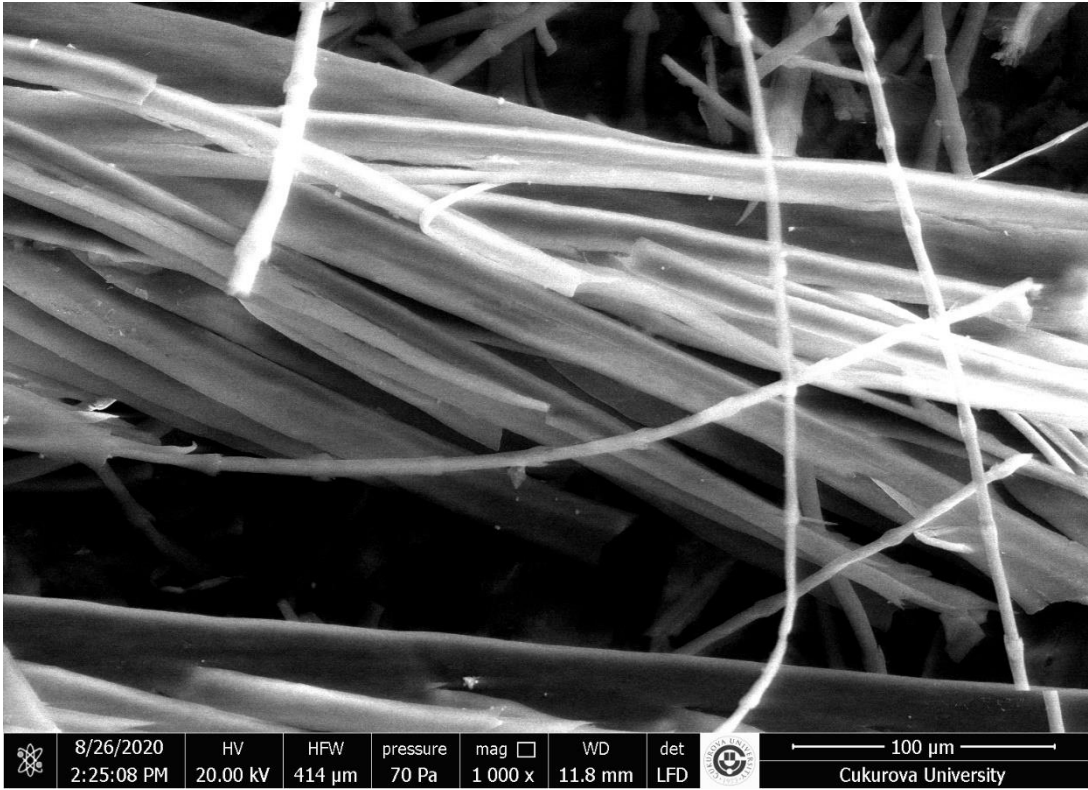
Şekil 17. Keratin tozunun SEM görüntüsü



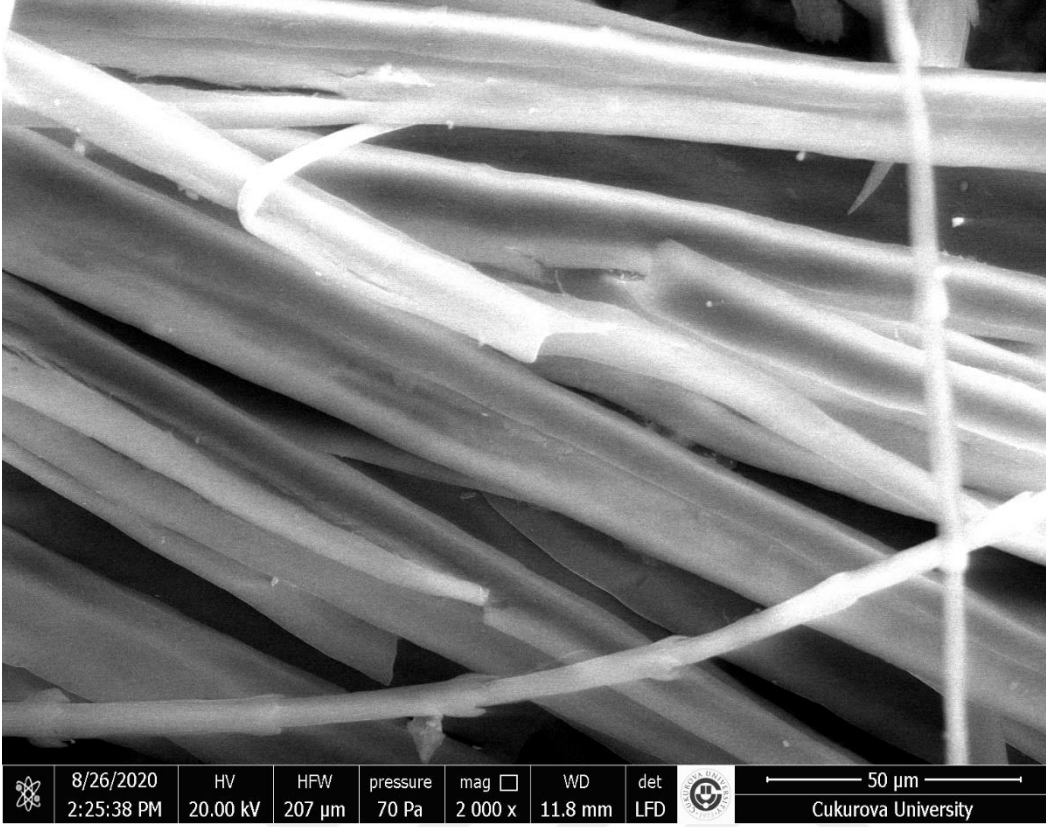
Şekil 18. Tavuk tüyü SEM görüntüsü



Şekil 19. Tavuk tüyü SEM görüntüsü



Şekil 20. Tavuk tüyü SEM görüntüsü

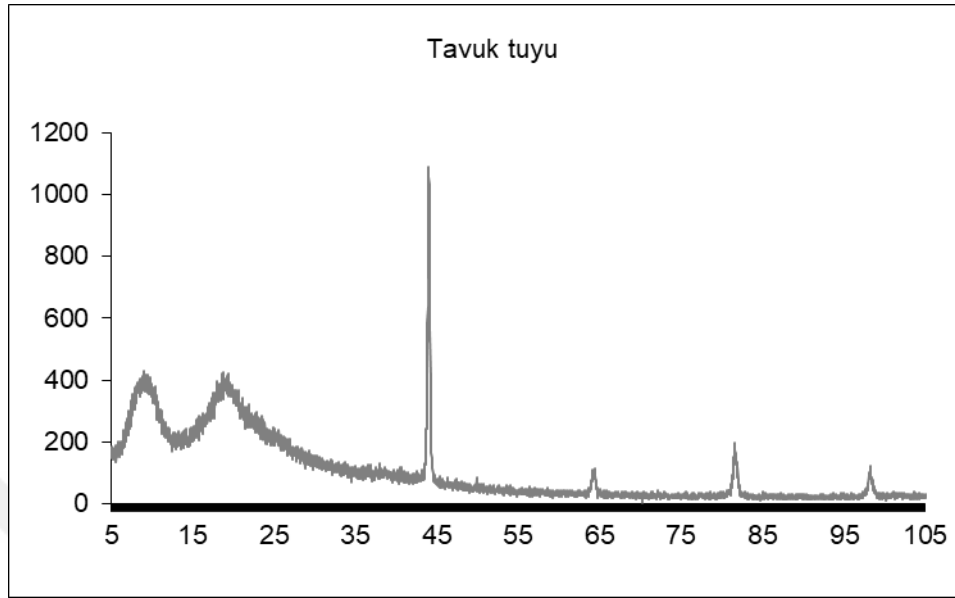


Şekil 21. Tavuk tüyü SEM görüntüsü

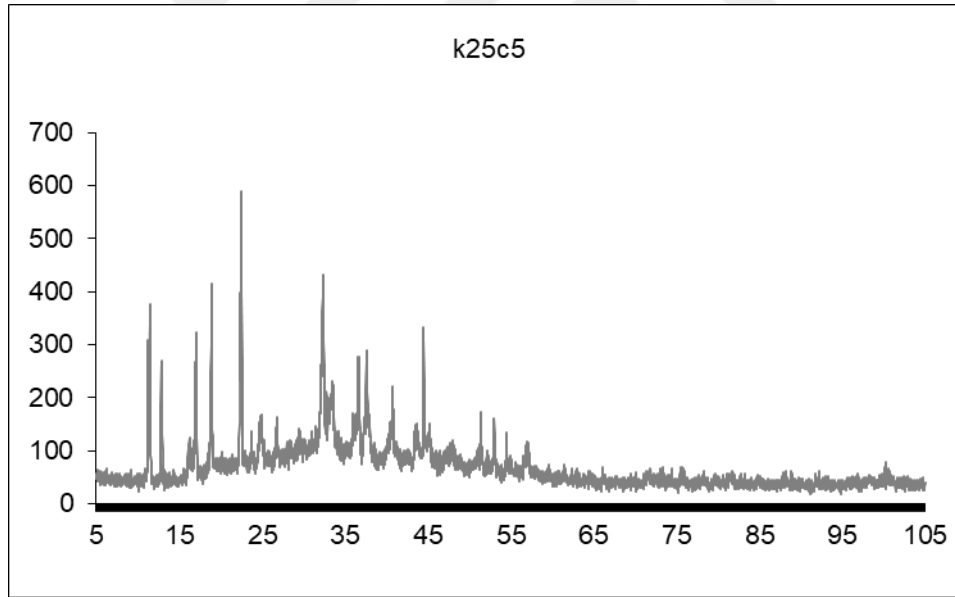


## EK-C

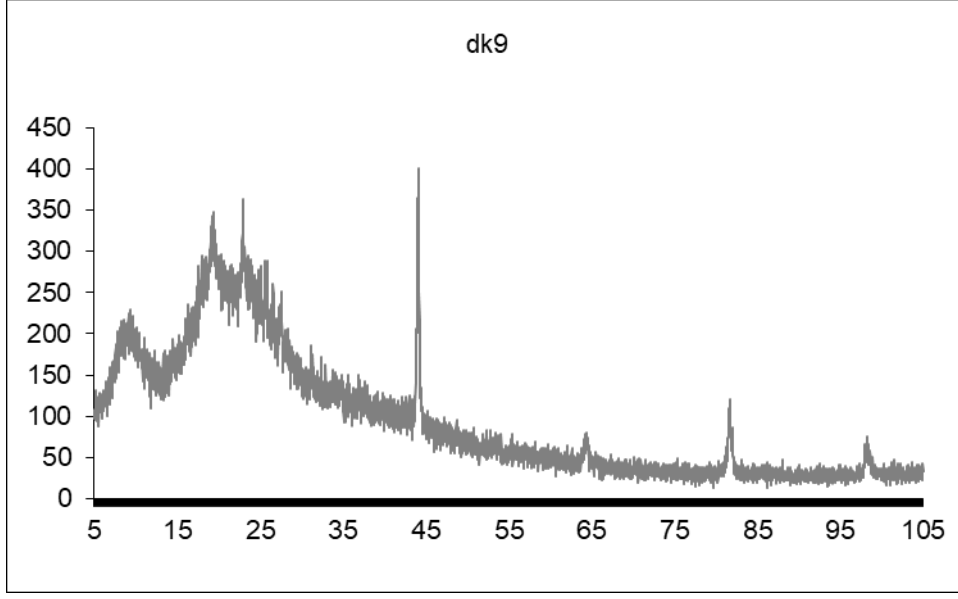
Tavuk tüyü, keratin tozu ve keratin-kitosan filmlerinin XRD kırınımları aşağıda verilmiştir.



Şekil 22. Tavuk tüyü kırınım deseni



Şekil 23. Keratin-kitosan filminin kırınım deseni



Şekil 24. Keratin tozunun kırınım deseni

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Mediha Gül ÇELİK  
Uyruğu : T.C.  
Doğum tarihi ve yeri : 25.04.1993 / ADANA  
E-posta : medihagulcelik@gmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	: KSÜ / Çevre Mühendisliği	2020
Yüksek lisans	: ÇÜ / İş Güvenliği	2019
Lisans	: ÇÜ / Çevre Mühendisliği	2017

### Yabancı Dil

İngilizce

### Sertifikalar

ISO 14001: Çevre Görevlisi Eğitimi, 2018  
Tehlikeli Madde Güvenlik Danışmanlık Sertifikası, 2018

### Projeler

KSÜ BAP projesi, “Atık Tavuk Tüyünden Keratin Eldesi, Keratin-Kitosan Türevi Filmlerinin Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi” Proje No: 2020/4-2 YLS.