

**T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOUYUMLU ALJİNAT KAPPA KERAJİN HİDROJEL İLE PROTEİN VE  
HERBİSİTİN KONTROLLÜ SALINIMI**

**SELİN SARIYER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. DİLEK DURANOĞLU**

**İSTANBUL, 2017**

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİYOYUMLU ALJİNAT KAPPA KERAJİN HİDROJEL İLE PROTEİN VE HERBİSİTİN  
KONTROLLÜ SALINIMI**

Selin SARIYER tarafından hazırlanan tez çalışması 18/12/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

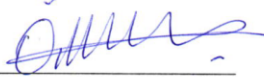
Yrd. Doç. Dr. Dilek DURANOĞLU  
Yıldız Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri**

Yrd. Doç. Dr. Dilek DURANOĞLU  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Rezan DEMİR ÇAKAN  
Gebze Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Özlem DOĞAN AYDENİZ  
Yıldız Teknik Üniversitesi





Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2013-07-01-KAP01 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

---

Bu çalışmada biyouyumlu aljinat- kappa kerajin hidrojelinin tarım ve ilaç olmak üzere iki farklı alanda uygulaması incelenmiştir. İlaç alanında yapılan çalışmalar, proteinin hidrojel üzerine adsorpsiyonunu, hidrojel matrise enkapsülasyonunu ve kontrollü salınımını kapsamaktadır. Tarım alanındaki uygulama ise seçilen herbisit moleküllerinin hidrojel matrise enkapsülasyonunu ve kontrollü salınımını içermektedir. Herbisitlerle yapılan çalışmalar, Fransa'nın Reims şehrinde bulunan Reims Champagne-Ardenne Üniversitesi Moleküler Kimya Laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Bu çalışmada bana yer veren, güvenen, yol gösteren, bilgi ve birikimlerinden faydalandığım çok değerli hocam tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Dilek DURANOĞLU'na, katkılarından ötürü proje yürütücüsü Yrd. Doç. Dr. Özlem DOĞAN'a, hidrojel üretim aşamasında bilgilerini paylaşan Yrd. Doç. Dr. İlknur KÜÇÜK'e teşekkür ederim.

Tarım ilaçlarının doğadaki davranışlarının incelenmesi konusunda çalışmalar yürüten, bilgi ve tecrübelerini bana aktaran, Fransa'daki çalışmalarında danışmanlığımı yapan Sayın Prof. Dr. Emmanuel GUILLON ve Dr. Stéphanie Sayen'e teşekkür ederim.

Laboratuvarda birlikte çalıştığımız arkadaşlarım Emmanuel NGAHA, Yeliz YILMAZ, Reyhan EŞİYOK'a teşekkür ederim. Fransa'daki laboratuvar çalışmalarında ilk zamanlarda uyum sağlamamda bana yardımcı olan teknisyen Amandine, bendeki yerleri her zaman ayrı olacak, kıymetli arkadaşlarım doktora öğrencileri Andrés ve Nathalie'ye, ayrıca Dr. Safa ve Dr. Abdou'ya teşekkür ederim.

Bu tezi, aldığım her kararda attığım her adımda beni destekleyen, yanımda olan, bana güç veren "canım aileme" ithaf ediyorum.

Kasım, 2017

Selin SARIYER

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	viii
KISALTMA LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ .....	xii
ÖZET .....	xiii
ABSTRACT.....	xv
<b>BÖLÜM 1</b>	
<b>GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1    Literatür Özeti .....	1
1.1.1    Hidrojel Üzerine BSA Adsorpsiyonu .....	1
1.1.2    Hidrojellere BSA Enkapsülasyonu ve Kontrollü Salınımı .....	4
1.1.3    Hidrojellere Herbisit Enkapsülasyonu ve Kontrollü Salınımı .....	6
1.2    Tezin Amacı .....	8
1.3    Hipotez.....	8
<b>BÖLÜM 2</b>	
<b>PROTEİN-HİDROJELLER .....</b>	<b>9</b>
2.1    Proteinler ve Protein Adsorpsiyonu.....	9
2.1.1    Protein .....	9
2.1.1.1    Sığır Proteini (Bovine Serum Albumin, BSA) .....	11
2.1.2    Protein Adsorpsiyonu .....	11
2.2    Hidrojeller .....	14
2.2.1    Hidrojellerin Sınıflandırılması .....	15
2.2.2    Hidrojellerin Kullanım Alanları.....	17
2.2.3    Hidrojellerin Kontrollü İlaç Salınımında Kullanımı.....	18
2.3    Aljinat.....	22
2.3.1    Ticari Aljinat .....	22

2.3.2	Aljinatın Kimyasal yapısı .....	24	
2.3.3	Aljinatın Jelleşme Mekanizmaları .....	25	
2.3.3.1	Dış Jelleşme .....	26	
2.3.3.2	İç Jelleşme .....	26	
2.3.4	Aljinatın Özellikleri .....	27	
2.3.4.1	Biyoyapışabilirlik .....	27	
2.3.4.2	Biyoyumluluk.....	28	
2.3.4.3	pH Duyarlılık .....	28	
2.3.5	Aljinatın Kullanım Alanları .....	28	
2.4	Kerajin .....	29	
2.4.1	Kerajinin Kimyasal Yapısı .....	30	
2.4.2	Biyolojik Aktivitesi.....	30	
2.4.3	Kerajinin Jelleşme özelliği .....	30	
2.4.4	Kerajinin Kullanım Alanları .....	31	
2.5	Enkapsülasyon .....	32	
2.5.1	Emülsifikasyon Yöntemi .....	32	
2.5.2	Damlama Yöntemi .....	32	
<b>BÖLÜM 3</b>			
<b>DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....</b>			<b>34</b>
3.1	Kimyasal Maddeler .....	34	
3.1.1	Sığır Proteini (Bovine Serum Albumin, BSA).....	35	
3.1.2	Sodyum Aljinat.....	35	
3.1.3	Kappa Kerajin ( $\kappa$ -Kerajin) .....	36	
3.1.4	2,4-Diklorofenoksit Asetik Asit (2,4-D) .....	36	
3.1.5	Isoproturon.....	36	
3.2	Kullanılan Cihazlar .....	37	
3.3	Hidrojel Üretimi .....	37	
3.4	Hidrojel Karakterizasyonu.....	38	
3.4.1	FT-IR Analizi .....	38	
3.4.2	SEM Analizi .....	38	
3.5	Protein Adsorpsiyonu Deneyleri.....	38	
3.5.1	Protein Adsorpsiyon Kinetiği .....	39	
3.5.1.1	Adsorpsiyon Kinetik modelleri .....	40	
3.6	Enkapsülasyon Deneyleri .....	41	
3.7	BSA Salınım Deneyleri .....	43	
3.7.1	BSA Analizi .....	44	
3.8	BSA Salınım Kinetiği .....	45	
3.9	Herbisit Enkapsülasyon Deneyleri .....	45	
3.9.1	Herbisit Yüklü Hidrojellerin hazırlanması .....	46	
3.9.2	Herbisit Yüklü Adsorban-Hidrojel Kompozitlerin Hazırlanması.....	46	
3.9.2.1	Adsorbanların Özellikleri .....	48	
3.9.2.2	Ferihidrit Sentezi .....	49	
3.10	Herbisit Salınım Deneyleri.....	49	
3.10.1	Herbisit Analizi .....	50	

## BÖLÜM 4

DENEYSSEL ÇALIŞMALARIN DEĞERLENDİRİLMESİ .....	51
4.1 Hidrojellerin Karakterizasyonu .....	51
4.1.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleri .....	51
4.1.2 Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrumları (FT-IR) .....	52
4.2 BSA Adsorpsiyon Deneylerinin Değerlendirilmesi .....	55
4.2.1 BSA Adsorpsiyon Kinetiği .....	55
4.2.2 BSA Adsorpsiyon Kinetik Modelleri .....	56
4.2.3 BSA Adsorpsiyonuna pH'ın Etkisi .....	58
4.3 BSA Enkapsülasyon Deneylerinin Değerlendirilmesi .....	59
4.3.1 BSA Enkapsülasyonuna pH'ın Etkisi .....	59
4.3.2 BSA Enkapsülasyonuna Tuz Konsantrasyonunun Etkisi .....	61
4.4 BSA Salınım Deneylerinin Değerlendirilmesi .....	62
4.4.1 BSA Salınımına pH'ın Etkisi .....	62
4.4.2 BSA Salınımına Tuz Konsantrasyonunun Etkisi .....	67
4.4.3 BSA Salınım Kinetiği .....	67
4.5 Herbisit Enkapsülasyon Deneylerinin Değerlendirilmesi .....	70
4.5.1 Adsorbanların Herbisit Adsorpsiyon Kapasiteleri .....	70
4.6 Herbisit Enkapsülasyonuna Adsorban İlavesinin Etkisi .....	71
4.7 Herbisit Salınımına Adsorban İlavesinin Etkisi .....	72

## BÖLÜM 5

SONUÇLAR .....	75
KAYNAKLAR .....	78
ÖZGEÇMİŞ .....	84

## SİMGE LİSTESİ

---

C	Sınır tabaka kalınlığı
$C_0$	Başlangıç BSA konsantrasyonu
$C_{0,h}$	Başlangıç herbisit konsantrasyonu
$C_t$	t zaman sonra BSA konsantrasyonu
$C_{t,h}$	t zaman sonra herbisit konsantrasyonu
D	Polimer difüzyon katsayısı
J	Molar akı
k	Yapısal/geometrik sabit
$k_1$	Birinci dereceden hız sabiti
$k_2$	İkinci dereceden hız sabiti
$k_p$	Parçacık içi difüzyon hız sabiti
M	Adsorban miktarı
$M_\infty$	Hidrojellere enkapsüle edilen BSA miktarı
$M_{\infty,h}$	Hidrojellere enkapsüle edilen herbisit miktarı
$M_f$	Tuz çözeltisinde tayin edilen BSA miktarı
$M_{f,h}$	Tuz çözeltisinde tayin edilen herbisit miktarı
$M_i$	Başlangıç sodyum aljinat- $\kappa$ -kerajin karışımına eklenen BSA miktarı
$M_{i,h}$	Başlangıç sodyum aljinat- $\kappa$ -kerajin karışımına eklenen herbisit miktarı
$M_t$	t zaman sonra salınan BSA miktarı
$M_{t,h}$	t zaman sonra salınan herbisit miktarı
pI	İzoelektrik nokta
$q_e$	Denge durumunda 1 gram adsorban başına adsorplanan BSA miktarı
$q_t$	t zaman sonra 1 gram adsorban başına adsorplanan BSA miktarı
$Q_t$	Adsorpsiyon kapasitesi
$Q_{t,h}$	Herbisit adsorpsiyon kapasitesi
t	Temas süresi
V	Çözelti hacmi
$\Delta C$	Konsantrasyon farkı



## KISALTMA LİSTESİ

---

2,4-D	2,4-Diklorofenoksi Asetik Asit
BSA	Sığır proteini (Bovine Serum Albumin)
EE	Enkapsülasyon verimi
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
KHS	Kümülatif herbisit salınımı
KS	Kümülatif BSA salınımı
LCST	Çözelti Düşük Kritik Sıcaklığı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1	Amino asidin yapısı..... 9
Şekil 2. 2	Proteinlerin yapıları..... 10
Şekil 2. 3	Aljinatın üretim şeması ..... 24
Şekil 2. 4	Aljinatın yapısı ..... 24
Şekil 2. 5	"egg-box" yapısının şematik gösterimi..... 25
Şekil 2. 6	Aljinat kürelerin oluşumu için dış jelleşme mekanizması ..... 26
Şekil 2. 7	Aljinat kürelerin oluşumu için iç jelleşme mekanizması ..... 27
Şekil 2. 8	Kappa kerajinin kimyasal yapısı..... 30
Şekil 2. 9	Kerajin moleküllerinin jelleşme mekanizması..... 31
Şekil 2. 10	Emülsifikasyon yöntemi..... 32
Şekil 2. 11	Damlama yöntemi..... 33
Şekil 3. 1	Sodyum aljinatın yapısı ..... 35
Şekil 3. 2	$\kappa$ -kerajinin kimyasal yapısı..... 36
Şekil 3. 3	BSA yüklü hidrojel kürelerin sentez aşamaları..... 42
Şekil 3. 4	BSA yüklü ıslak küreler ve BSA yüklü kurutulmuş küreler..... 42
Şekil 3. 5	BSA yüklü kürelerin SIF ortamında BSA salınımı ..... 44
Şekil 3. 6	Isoproturon yüklü küreler ..... 48
Şekil 4. 1	Hidrojin SEM görüntüleri..... 52
Şekil 4. 2	Hidrojin FT-IR spektrumları ..... 53
Şekil 4. 3	Tampon çözeltide (pH 4,8) bekletilen hidrojin FT-IR spektrumları..... 54
Şekil 4. 4	BSA adsorpsiyonundan sonra hidrojin FT-IR spektrumları ..... 54
Şekil 4. 5	BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi ..... 55
Şekil 4. 6	% BSA adsorpsiyonu ..... 56
Şekil 4. 7	Kinetik verilerin parçacık içi difüzyon modeline uydurulması ..... 57
Şekil 4. 8	BSA enkapsülasyon verimine pH'ın etkisi ..... 60
Şekil 4. 9	BSA enkapsülasyon verimine $\text{CaCl}_2/\text{KCl}$ etkisi..... 61
Şekil 4. 10	Farklı pH'larda ve $\text{CaCl}_2/\text{KCl}$ (2/0) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C) ..... 63
Şekil 4. 11	Farklı pH'larda ve $\text{CaCl}_2/\text{KCl}$ (2/0) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C) ..... 64
Şekil 4. 12	Farklı pH'larda ve $\text{CaCl}_2/\text{KCl}$ (2/2) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C) ..... 64

Şekil 4. 13	Farklı pH'larda ve CaCl <sub>2</sub> /KCl (2/2) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C) .....	65
Şekil 4. 14	Farklı pH'larda ve CaCl <sub>2</sub> /KCl (4/4) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C) .....	65
Şekil 4. 15	Farklı pH'larda ve CaCl <sub>2</sub> /KCl (4/4) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C) .....	66
Şekil 4. 16	BSA yüklemesi yapılan hidrojellerin salınım oranları.....	67
Şekil 4. 17	BSA salınımı deneysel verilerin Ritger-Peppas modeli ile kıyaslanması ....	69
Şekil 4. 18	2,4-D'nin adsorpsiyon kapasitesi .....	70
Şekil 4. 19	Isoproturonun adsorpsiyon kapasitesi .....	71
Şekil 4. 20	Su içerisinde hidrojelden isoproturonun kümülatif salınımı .....	73
Şekil 4. 21	Su içerisinde hidrojelden 2,4-D'nin kümülatif salınımı .....	74



## ÇİZELGE LİSTESİ

---

	Sayfa
Çizelge 2. 1	Protein adsorpsiyonunu etkileyen protein özellikleri ..... 12
Çizelge 2. 2	Protein adsorpsiyonunu etkileyen yüzey özellikleri..... 13
Çizelge 2. 3	Polisakkarit esaslı hidrojellerin sınıflandırılması ..... 16
Çizelge 2. 4	Proteinlerin hidrojellerden salınım mekanizmaları..... 19
Çizelge 2. 5	İlaç salınım sistemlerinde kullanılan hidrojellerle yapılan çalışmalar .... 21
Çizelge 3. 1	BSA'nın genel özellikleri ..... 35
Çizelge 3. 2	2,4D'nin kimyasal ve fiziksel özellikleri ..... 36
Çizelge 3. 3	Isoproturonun kimyasal ve fiziksel özellikleri ..... 37
Çizelge 3. 4	BSA yüklü hidrojellerin formülasyonu..... 43
Çizelge 3. 5	Herbisit yüklü hidrojellerin formülasyonu ..... 47
Çizelge 3. 6	Ca-Bentonit, perlit ve aktif karbonun genel özellikleri ..... 49
Çizelge 3. 7	HPLC çalışma koşulları..... 50
Çizelge 4. 1	Kinetik parametreler ..... 56
Çizelge 4. 2	Hidrojellerin BSA enkapsülasyon verimleri ..... 59
Çizelge 4. 3	BSA enkapsülasyon verimi ve salınım miktarları karşılaştırılması..... 66
Çizelge 4. 4	Ritger-Peppas denklem parametreleri ve korelasyon katsayıları ..... 68
Çizelge 4. 5	Herbisit yüklü hidrojellerin enkapsülasyon verimleri ..... 72

## BİYOUYUMLU ALJİNAT KAPPA KERAJİN HİDROJEL İLE PROTEİN VE HERBİSİTİN KONTROLLÜ SALINIMI

Selin SARIYER

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Dilek DURANOĞLU

Protein adsorpsiyonu birçok doğal proseste önemli bir rol oynar ve bu nedenle farmasötik bilimlerde, biyoteknolojide ve doku mühendisliğinde uygulama alanı bulur. İlaç sanayinde, gıda endüstrisinde ve tarım alanında etken maddelerin daha etkin, verimli ve yararlı kullanımı için kontrollü salınım sistemleri geliştirilmektedir.

Biyoyumlu aljinat-kappa kerajin hidrojel ile protein adsorpsiyonu ve ayrıca protein ve herbisit moleküllerinin hidrojel matrise enkapsülasyonu ve sonrasında kontrollü salınımı araştırılmıştır. Kalsiyum klorür çözeltisi içinde fiziksel çapraz bağlanma yöntemiyle sentezlenen aljinat-kappa kerajin hidrojel kürelerin yapısı FT-IR ve SEM analizi ile incelenmiştir.

Siğır proteininin (Bovine Serum Albumin, BSA) hidrojeller üzerine adsorpsiyonu farklı süre, farklı sıcaklık (25;32,5;40°C) ve pH (2,8;4,8;6,8) değerlerinde çalışılmıştır. BSA adsorpsiyon kapasitesi en yüksek 240mg/g ile 40°C'de, pH 4,8'de elde edilmiştir. Adsorpsiyon kinetik verilerinin, yalancı birinci derece, yalancı ikinci derece ve parçacık içi difüzyon modellerine uygunluğu incelenmiş ve en uygun modelin parçacık içi difüzyon modeli olduğu belirlenmiştir.

BSA molekülleri, farklı pH (4,2; 4,8 ve 7,5) ve tuz çözeltisi (CaCl<sub>2</sub>/KCl; 2/0; 2/2; 4/4) konsantrasyonlarında aljinat- kappa kerajin hidrojel kürelere enkapsüle edilmiş ve

37°C’de sentetik mide ve sentetik bağırsak sıvısında kontrollü salınımı incelenmiştir. En yüksek enkapsülasyon verimi (%88,69) en düşük pH ve en yüksek tuz konsantrasyonunda hazırlanan hidrojelde elde edilmiştir. BSA’nın sentetik mide sıvısında salınımı ihmal edilebilecek seviyededir. Sentetik bağırsak sıvısında maksimum salınımı (13,3mg/g) pH 4,2’de enkapsüle edilen numunelerde elde edilmiş, en düşük salınım ise (2,9mg/g) pH 7,5’de ekapsüle edilmiş numunede elde edilmiştir. BSA salınım kinetik verilerinin Ritger-Peppas modeline uygunluğu incelenmiş ve salınım mekanizmasının Fick yasasına uymayan davranış gösterdiği görülmüştür. Buna göre hidrojel kürelerden BSA salınımı hem BSA proteininin hidrojel matristen difüzyonu ile hem de çapraz bağın gevşemesi ile gerçekleşmiştir.

2,4-Diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) ve isoproturon herbisitleri hidrojel kürelere enkapsüle edilmiştir. Herbisitlerin enkapsülasyon verimlerini artırmak ve salınımlarını yavaşlatmak için ferihidrit, Ca-bentonit, aktif karbon ve perlit içeren herbisit yüklü hidrojel-kompozit küreler üretilmiştir. Hidrojel kürelere eklenen adsorbanlar enkapsülasyon verimini arttırmada etkili olmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Aljinat, kappa- kerajin, hidrojel, BSA, adsorpsiyon, enkapsülasyon, protein salınımı, 2,4-Diklorofenoksi asetik asit, isoproturon, herbisit salınımı.

**CONTROLLED RELEASED OF PROTEIN AND HERBICIDE BY  
BIOCOMPATIBLE ALGINATE KAPPA CARRAGEENAN HYDROGEL**

Selin SARIYER

Department of Chemical Engineering

MSc. Thesis

Adviser: Assist. Prof. Dr. Dilek DURANOĞLU

Protein adsorption plays a significant role in natural processes. For that reason, it can be applied in pharmaceutical science, biotechnology and tissue engineering. Controlled release systems have been developed for encapsulation and protection of bioactive agent in drug, food industry and agricultural area.

Protein adsorption on biocompatible alginate-kappa carrageenan hydrogels and encapsulation of protein and herbicide molecules into hydrogels were investigated. Alginate-kappa carrageenan hydrogel beads, which were synthesized by dropping alginate-kappa carrageenan mixture in calcium chloride solution, were characterized by using SEM and FT-IR.

Bovine Serum Albumin (BSA) adsorption on hydrogels was investigated at different temperature (25; 32.5 ve 40 °C), pHs (2.8; 4.8 ve 6.8) and contact time. BSA adsorption was not achieved at pH 2.8 due to electrostatic repulsion between BSA and hydrogel. Hydrogel beads disrupted at higher pHs. The highest adsorption capacity (240mg/g) was found at pH 4.8. In addition, adsorption kinetics were evaluated by using theoretical kinetic models; pseudo-first-order, pseudo-second-order, and intraparticle diffusion model. As a result, BSA adsorption kinetic on hydrogel beads followed an intraparticle diffusion model.

At different pHs (4.2; 4.8 ve 7.5) and salt concentration (CaCl<sub>2</sub>/KCl, 2/0; 2/2; 4/4), BSA molecules were encapsulated in alginate-kappa carrageenan hydrogel beads and controlled release of BSA from hydrogel beads was carried out in simulated gastric (pH 1.2) and intestinal fluids (pH 7.4) at 37°C. The highest encapsulation efficiency (88.69%) was obtained at lower pH and higher salt concentration and the lowest encapsulation efficiency (28.50%) was obtained at pH 4.8 and lower salt concentration.

The release of BSA in simulated gastric medium was negligible because of its low release amount. The amount of released BSA in simulated intestinal fluid from hydrogel prepared at pH 4.2 was found 13.3mg/g. However, the lowest amount of released BSA in simulated intestinal fluid from hydrogel prepared at pH 7.5 was found 2.9mg/g. BSA release kinetic data were fitted to Ritger-Peppas model. According to Ritger-Peppas model, release mechanism was demonstrated non-Fickian behaviour. To conclude, BSA release from hydrogel matrix occurred both BSA diffusion and relaxation of chain.

2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and isoproturon herbicides were encapsulated into hydrogel beads. In order to increase the herbicide encapsulation and decrease the herbicide release, Ca-bentonite, activated carbon, perlite and ferrhydrite composite hydrogel beads were synthesized. Addition of adsorbent into hydrogel beads was effective to obtain higher encapsulation efficiency.

**Keywords:** Alginate, kappa-carrageenan, hydrogel, BSA, adsorption, encapsulation, protein release, 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid, isoproturon, herbicide release.



#### 1.1 Literatür Özeti

Bu bölümde, hidrojel üzerine BSA adsorpsiyonu, BSA'nın hidrojellere enkapsülasyonu ve kontrollü salınımı, hidrojellere herbisit enkapsülasyonu ve kontrollü salınımı ile ilgili literatürde yapılan çalışmalar özetlenmiştir.

##### 1.1.1 Hidrojel Üzerine BSA Adsorpsiyonu

Guillermo ve arkadaşları (2012) [1], BSA adsorpsiyonuna sıcaklık, pH ve iyon şiddeti etkilerini ürettikleri emulsan-aljinat ve aljinat küreler üzerinde incelemişlerdir. SEM görüntülerine göre aljinat kürelerin yüzeyi pürüzsüz; emulsan-aljinat kürelerin yüzeyi düzensiz ve benekli. BSA adsorpsiyonu, her iki tip kürede de iki aşamada gerçekleşmiştir. İlk 10 dakikada adsorpsiyon hızlı ve emulsan-aljinat kürelerde BSA adsorpsiyonu % 51,8; alginat kürelerde ise %26,4 olarak hesaplanmıştır. Fakat ikinci aşamada BSA adsorpsiyonu daha yavaş gerçekleşmiş ve 60 dakikada dengeye ulaşmıştır. Denge toplam BSA adsorpsiyonu, emulsan-aljinat kürelerde %73,6 ve aljinat kürelerde %30,5'tir. pH'ın 4'ten 5'e arttırılmasıyla birlikte BSA adsorpsiyonu aljinat kürelerde %60 azalmış; emulsan-aljinat kürelerde ise sabit kalmıştır. BSA adsorpsiyonu, emulsan-aljinat kürelerde aljinat kürelere kıyasla pH değişikliklerine 10 kat daha dirençlidir. Her iki farklı kürede artan pH ile adsorpsiyonun azalması, emulsan kürelerde bulunan iyonlaşabilir karboksilik asit grupları ve 5,15 izoelektrik noktasına sahip BSA molekülü arasındaki itmeden kaynaklandığı bildirilmiştir. Her iki farklı tip kürede sıcaklığın 24 °C' 'den 37 °C'ye arttırılmasıyla adsorpsiyon kapasitesi artmıştır. Bu duruma, zincir dinamiklerindeki

artışın çözeltide daha fazla bağlayıcı bölgenin oluşmasına neden olmaktadır. Buna ek olarak, bağlanmayla ilgili BSA topolojisindeki değişimlerden kaynaklanan BSA-küre etkileşiminden ziyade BSA-BSA etkileşimleri ikincil bir adsorpsiyona neden olabilir. İyon şiddetinin artmasıyla emulsan-aljinat ve aljinat kürelerde BSA adsorpsiyonu azalmıştır. Her iki adsorban için de adsorpsiyon verileri Langmuir izoterm modeline uymuştur. BSA adsorpsiyonu ve kinetik sabitler emulsan-aljinat kürelerde aljinat kürelere kıyasla Langmuir izoterm modeline göre 2 kat daha yüksektir. Emulsan-aljinat kürelerde BSA adsorpsiyon kapasitesi 51,8-149,7 µg/mg'dır [1].

Subrata ve arkadaşları (2015) yaptıkları çalışmada [2], gluteraldehit ile çapraz bağlayarak elde ettikleri kitosan hidrojellere farklı pH ve çapraz bağlanma oranlarında BSA adsorpsiyonunu incelemişlerdir. Çapraz bağlama, hidrojel kürelerin kimyasal ve yapısal dayanıklılığını asidik ortamlarda önemli ölçüde arttırmıştır. Adsorpsiyon denge verileri Langmuir izoterm modeline uymuştur. BSA adsorpsiyonu tek tabakada gerçekleşmiş ve kimyasal bir adsorpsiyondur. Optimum BSA adsorpsiyon kapasitesi (96,4 mg/g), çapraz bağlanma oranı 0,2 ve pH 5,5'te verilmiştir [2].

Gholam Reza ve Hossein (2016) çalışmasında [3],  $Ca^{+2}/K^{+1}$  iyonlarıyla çapraz bağlı  $Fe_3O_4$  nanopartikül ile modifiye ettikleri  $\kappa$ -kerajin/karboksilmetil kitosan kürelere BSA adsorpsiyonunu incelemişlerdir. Adsorpsiyon kinetik verileri yalancı ikinci dereceden kinetik modele; denge adsorpsiyon verileri Langmuir izoterm modeline uymuştur. BSA'nın izoelektrik noktasında (pI; 4,7) maksimum adsorpsiyon kapasitesine ulaşılmıştır ve bu noktadaki kapasite 73,3 mg/g olarak verilmiştir. BSA adsorpsiyon mekanizmasını açıklamak için BSA molekülünün, manyetik nanopartikülün ve manyetik nanopartikül içeren kürelerin zeta potansiyel değerleri ölçülmüştür. Manyetik nanopartikülün zeta potansiyel değeri 6,68; manyetik nanopartikül içeren kürelerin zeta potansiyel değeri 5,85 olarak bulunmuştur. pH 7,4-9,2'de BSA molekülü ve küreler negatif yüklü; pH 3,3'te BSA molekülü ve küreler pozitif yüklüdür. Bu nedenle bu pH değerlerinde yüklerin birbirini itmesinden dolayı BSA adsorpsiyon kapasitesi düşüktür. Termodinamik parametreler hesaplanmış ve BSA adsorpsiyon işleminin ekzotermik ve kendiğinden gerçekleştiği sonucuna varılmıştır [3].

Gholam Reza ve arkadaşları (2016) [4], manyetik Laponite RD nanopartikülleri içeren sodyum aljinat ve polivinilalkol (PVA) karışımını  $Ca^{+2}$  iyonu ile çapraz bağlayarak elde ettikleri manyetik nanokompozit hidrojel küreleri geliştirmişlerdir. Biyouyumlu laponite RD nanoplakalara (nanoplate)  $Fe^{+3}/Fe^{+2}$  iyonlarının çöktürülmesiyle üretilen  $Fe_3O_4$  nanopartiküller sayesinde manyetik özellik kazandırılmıştır. Sentezlenen manyetik hidrojel kürelerin üzerine BSA adsorpsiyonuna, pH, iyon şiddeti, başlangıç BSA konsantrasyonu ve sıcaklık parametrelerinin etkisini incelemişlerdir. BSA adsorpsiyonunun, BSA molekülü ve kürelerin yüzeyi arasındaki elektrostatik etkileşiminden kaynaklandığı bildirilmiştir. Maksimum adsorpsiyon kapasitesi pH 4,5'te elde edilmiştir. Elde edilen kürelerin sıfır yük noktası pH 4,7-4,8'dir. BSA adsorpsiyonu pH 4,5 altında ve üstündeki değerlerde azalmaktadır bu durum şu şekilde açıklanmıştır: pH 4,5 altında pozitif yüzey yüke sahip küreler pozitif yüklü BSA molekülünün yaklaşmasını engeller, pH 4,5 üzerindeki değerlerde kürelerdeki anyonik karboksilat grupları ve negatif yüklü BSA molekülü birbirlerini iterler. Kürelerde yüksek yüzey alanına sahip manyetik laponite RD miktarı arttıkça BSA adsorpsiyon kapasitesi de artmaktadır. Tampon çözeltideki sodyum klorür konsantrasyonu arttıkça BSA adsorpsiyonu azalmaktadır bu durum  $Na^{+1}$  iyonlarının kürelerin negatif yüklü merkezini koruyarak BSA molekülünün kürelere yaklaşmasına engel olmasıyla açıklanmıştır [4].

BSA adsorpsiyon kapasiteleri üç farklı sıcaklıkta 288 K, 298 K, 308 K için sırasıyla 114,4, 119,5 ve 127,3 mg/g olarak bulunmuştur. Her bir sıcaklık için adsorpsiyon verileri Freundlich'e kıyasla Langmuir izoterm modeline daha çok uymuştur. BSA proteinin kürelere adsorpsiyonu tek tabaka adsorpsiyon mekanizmasıyla açıklanmıştır. Termodinamik parametreler olan entalpi değişimini  $\Delta H$  ve entropi değişimini  $\Delta S$  sırasıyla +19,59 kJ/mol ve +76,72 J/mol K olarak hesaplamışlardır. Pozitif entalpi değeri adsorpsiyon işleminin ekzotermik gerçekleştiğini; pozitif entropi değerinin adsorban-çözelti arayüzeyinde rassalitede bir artış olduğunu göstermiştir. Üç farklı sıcaklıkta Gibbs serbest enerji  $\Delta G$  değerleri 288, 298, ve 308 K'de sırasıyla -2,581, -3,146 ve -4,15 kJ/mol olarak hesaplamışlardır. Sıcaklığa bağlı olarak artan  $\Delta G$  değerleri, adsorpsiyon işleminin daha yüksek sıcaklıklarda daha elverişli olduğunu; negatif  $\Delta G$  değerlerin ise adsorpsiyon işleminin kendiliğinden gerçekleştiğini göstermektedir [4].

BSA adsorbe edilmiş kürelerden farklı pH tampon çözeltilerde BSA desorpsiyonu gerçekleştirilmiştir. BSA desorpsiyonu pH 5'ten yüksek değerlerde ve pH 4'ten düşük değerlerde yüksektir. BSA desorpsiyonu pH 2,7 ve 8'de %95 olarak hesaplanmıştır [4].

### 1.1.2 Hidrojellere BSA Enkapsülasyonu ve Kontrollü Salınımı

Anil ve arkadaşları (2003) [5], proteinin mideden geçişi sırasında asit ve enzim degradesiyonuna karşı korumak amacıyla BSA proteini  $Ca^{+2}$  iyonu ile çapraz bağlı aljinat, kitosan-aljinat ve çok katmanlı kitosan-aljinat kürelere yüklemişler ve sentetik mide (SGF, pH 1,2) ve sentetik bağırsak (SIF, pH 7,5) sıvısında salınımını incelemişlerdir. BSA enkapsülasyon verimi artan  $CaCl_2$  tuz çözeltisi ve kitosan konsantrasyonu ile artmaktadır. Düşük tuz çözelti konsantrasyonu çapraz bağlanmanın yetersiz olmasına ve büyük gözenek boyutu proteinin tuz çözeltisine difüzyonuna neden olabilir ve böylece BSA enkapsülasyon verimi düşük olur. %0,5  $CaCl_2$  konsantrasyonunda hazırlanan aljinat kürelerden SIF ortamına BSA salınımı 2 saatte %100'e ulaşmıştır. SIF çözeltisindeki fosfat iyonlarının  $Ca^{+2}$  iyonlarıyla etkileşmesi sonucu kürelerin parçalandığı bildirilmiştir. Kitosan eklenmesi kitosan-aljinat kürelerden BSA salınımını geciktirmiştir ve BSA salınımı 12 saatte %80-90'a ulaşmıştır. Çok katmanlı kitosan-aljinat kürelerden BSA salınımı 12 saatte %40-50'ye ulaşmıştır [5].

Argyrios ve arkadaşları (2008) [6], farklı aljinat miktarına ve aljinat/HPMC oranına göre üretilen aljinat/hidroksipropil-metil selüloz (HPMC) hidrojel kürelerden BSA'nın fizyolojik tuz çözeltisi (%0,9 w/v NaCl) ortamında kontrollü salınımını araştırmışlardır. HPMC, kürelerin fizyolojik ortamda şişme kapasitesini arttırmasına rağmen kürelerin boyutunu etkilememiştir. BSA enkapsülasyon verimi, aljinat miktarına ve aljinat/HPMC oranına bağlıdır ve %65,4-69,1 arasında değişir. HPMC oranı arttıkça BSA salınım yüzdesi de artmaktadır. Bu durum, HPMC'un şişme kapasitesinin fizyolojik tuz çözeltisinde yüksek olmasıyla açıklanmıştır. BSA salınım kinetik verileri, Baker-Lonsdale, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell kıyasla Peppas modeline daha çok uymuştur. Peppas modeline göre BSA salınım mekanizması Fick yasasına uymayan davranış göstermiştir [6].

Márcia ve arkadaşları (2009) [7], 22 ve 37 °C'de saf suda, sentezledikleri sıcaklığa duyarlı hidrojellerden BSA salınımını incelemişlerdir. Hidrojel sentezi iki aşamada

gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, sodyum aljinat (SA) (%1 ve %2 w/v), N-izopropil akrilamid monomeri (NIPAAm) (%2,5, 5,0 ve 10,0 w/v) ve N-N'-metilen-bis-akrilamid (MBAAm) çapraz bağlayıcı içeren sulu çözelti hazırlamışlardır. İkinci aşamada ise ilk aşamada elde ettikleri membranı, kalsiyum klorür çözeltisine (%1 w/v) daldırarak aljinat- $Ca^{+2}$  ağını elde etmişlerdir. Kurutulan hidrojeller, %0,19'lük (w/v) BSA içeren tris-hidroksimetilamin-metan (Tris-Cl, 0,1 M, pH 7,4) çözeltisinde 22 °C'de 2 gün bekletilerek BSA yüklemesi gerçekleştirilmiştir. BSA yükleme kapasitesi %1 ve %2 SA içeren hidrojeller için sırasıyla %35 ve %25'dir. Her iki sıcaklıkta da (22 ve 37 °C), hidrojelin içerdiği NIPAAm miktarı azaldıkça BSA salınımı hızlanmakta ve salınım miktarı artmaktadır. Bu durum, %2,5 NIPAAm içeren hidrojelin yüksek şişme derecesine sahip olmasıyla açıklanmıştır. BSA salınımı 20-25 saatte dengeye ulaşmıştır. BSA ve hidrojel arasındaki güçlü etkileşimden dolayı hidrojellere yüklenen BSA'nın hepsi salınmamıştır. BSA salınım miktarı her üç hidrojelde (%1 SA ve %2,5, 5,0 ve 10,0 NIPAAm) de 37 °C'de 22 °C'dekine göre daha azdır. %1 SA ve %2,5, 5,0 ve 10,0 NIPAAm içeren hidrojellerden BSA salınım miktarı sırasıyla %81, 65 ve 50'dir. %2 SA ve %2,5, 5,0 ve 10,0 NIPAAm içeren hidrojellerden BSA salınım miktarı sırasıyla %62, 37 ve 29'dur. BSA salınım verileri Ritger ve Peppas modeline uydurulmuştur. Hidrojellerden BSA salınımını difüzyon ve zincir gevşemesiyle açıklamışlardır [7].

Hakan ve F.B. (2013) yaptıkları çalışmada [8], sentetik mide (SGF, pH 1,2) ve sentetik bağırsak sıvısında (SIF, pH 7,5) BSA salınımını araştırmak için pH'a duyarlı aljinat-BSA-kil kompozit küreleri ve aljinat-BSA küreleri hazırlamışlardır. Mineral asitle aktive edilen yüksek yüzey alanına ve homojenliğe sahip sentetik K10 Montmorillonit (MMT) kil çeşidini kullanmışlardır. Bağırsak sıvısında kürelerin şişme oranları mide sıvısındakine göre daha yüksektir. SIF çözeltisinde, 400 dakika sonra (MMT içeren kürelerde 200 dakika sonra) kürelerin daha fazla şişmesine izin vermeden artan yüzey erozyonu nedeniyle küreler parçalanmaya başlamıştır. %1'lik (w/v) BSA başlangıç konsantrasyonunda ve %2'lik (w/v) aljinat polimer konsantrasyonunda %0, %0,5, %1 ve %1,5 (w/v) MMT içeren kürelerin BSA enkapsülasyon verimi sırasıyla %40, %68, %72 ve %78 olarak hesaplanmıştır. MMT'nin katmanları arasına giren BSA molekülleri enkapsülasyon veriminin artmasına neden olmuştur. İlk 60-90 dakikada sentetik mide sıvısında aljinat-MMT kürelerden BSA salınımı olmamıştır fakat devam eden 2 saatte

MMT içeriğine bağılı olarak %9-%13 BSA salınımı olmuştur. MMT içeriği arttıkça BSA salınımı azalmıştır. SGF ortamında aljinat kürelerden BSA salınımı 90 dakikada %27'dir. SIF ortamında aljinat kürelerde 2 saatte BSA salınımı %85'e; aljinat-MMT kürelerde ise 9 saatte %45-55'e ulaşmıştır. SIF çözeltisinde BSA salınım verileri Ritger & Peppas kinetik modeline uymuştur. BSA salınımı, aljinat kürelerden erozyon mekanizmasıyla; aljinat-MMT kürelerden ise difüzyon ve yüzey erozyonu mekanizmasıyla gerçekleşmiştir [8].

### **1.1.3 Hidrojellere Herbisit Enkapsülasyonu ve Kontrollü Salınımı**

Villafranca-Sanchez ve arkadaşları (2000) [9], aljinat esaslı granüllere isoproturon enkapsüle etmişlerdir. Çalışmada doğal ve asit ile muamele edilmiş bentonitin eklenmesiyle modifiye edilmiş kontrollü salınım formülasyonlarının isoproturonun salım hızı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Her bir formülasyon için isoproturonun enkapsülasyon verimi %91,9'dan yüksek bulunmuştur. Salınım verileri Ritger-Peppas kinetik modeline uydurulmuş ve salınım mekanizmasının difüzyon kontrollü olduğu bildirilmiştir. Aktif maddenin % 50'sinin suya bırakılma süresi  $t_{50}$  hesaplanmıştır. Bentonit içermeyen (3,78 gün) formülasyonlara kıyasla bentonit içeren (doğal ve asit ile muamele edilmiş bentonit için sırasıyla 5,98 ve 7,43 gündür) isoproturon salınımı daha uzun sürmüştür [9].

Zhifeng ve Wuhan (2000) [10], formaldehit, sodyum metafosfat ve epiklorohidrin kullanılarak çapraz bağlanmış mısır nişastası matrisine 2,4-D (2,4-diklorofenoksiasetik asit) ve 2,4,5-T (2,4,5-triklorofenoksiasetik asit) yüklemişlerdir. Çapraz bağlama maddeleri ve formaldehit miktarlarının modifiye edici etkisinin herbisit salınımına etkisini araştırmışlardır. Enkapsülasyon işleminde kullanılan formaldehit miktarı arttıkça, şişme kabiliyeti ve herbisit salınım oranı düşmüştür. Çapraz bağlanma, artan enkapsülasyon verimine ve herbisit yavaş salınmasına neden olmuştur [10].

Garrido-Herrera ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2006) [11], sodyum aljinat, pestisit (isoproturon, imidakloprid ve cyromazine) ve farklı miktarda bentonit ve aktif karbondan oluşan kontrollü salınım formülasyonları geliştirilmiştir. Yüksek oranda aktif karbon içeren formülasyonların enkapsülasyon verimlerinin ve isoproturonun ve imidaklopridin enkapsülasyon verimleri sudaki çözünürlüğü yüksek olan cyromazine göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Kinetik çalışma sonuçları imidaklopridin salınım hızının

isoproturonun salınım hızından yüksek olduğunu göstermiştir. Bentonit ve aktif karbon adsorbanlarının kullanılması isoproturonun ve imidaklopridin salınma oranını düşürmüştür. En yüksek aktif karbon yüzdesi ile hazırlanan formülasyonlardan pestisit salınımı en az olmuştur [11].

Gholam Reza ve arkadaşları (2009) [12], sentezledikleri gözenekli poliakrilamid hidrojeline 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) enkapsüle etmişler ve 2,4-D'nin salınımını çalışmışlardır. 2,4-D'nin hidrojel üretiminde çapraz bağlayıcı olarak kullandıkları metilenbis akrilamid (MBA) konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak serbest bırakılması araştırılmış ve sonuçlar MBA konsantrasyonunda artışın aktif maddenin salınımını olumsuz etkilediğini göstermiştir. Çeşitli pH'taki salınım profilleri, 2,4-D herbisitinin pH bağımlı salınımını göstermiştir; diğer bir deyişle, etken maddenin bazik çözeltilerde hızlı bir şekilde serbest bırakıldığı ve 2,6'dan daha düşük pH değerine sahip çözeltilerde yavaş salınım gerçekleştiği gözlenmiştir [12].

Jianfa Li ve arkadaşları (2009) [13], anyonik herbisit olan 2,4-D'nin kontrollü salınımı için karboksimetilselüloz (CMC) jeli kullanmışlardır. Suya ve toprağa 2,4-D'nin daha yavaş bırakılma hızını bentonitleri jel formülasyonuna ekleyerek elde etmişlerdir. 2,4-D'nin daha yüksek enkapsülasyon verimleri, modifiye bentonitler üzerinde 2,4-D'nin emilmesi nedeniyle bentonit/CMC jel formülasyonlarında elde edilmiştir [13].

Katarzyna ve arkadaşları (2016) [14],  $Al^{+3}$  ile çapraz bağlayarak sodyum montmorillonit (MMT) içeren karboksimetil nişasta (CMS) esaslı mikropartikülleri hazırlamışlardır. Hidrofilik CMS/MMT kompozit sistemleri, herbisit, yani isoproturonu enkapsüle etmek (%75 enkapsülasyon verimi) için kullanılmıştır. Ticari isoproturon ile karşılaştırıldığında CMS/MMT kompozitlerinden suya herbisit salınım oranı anlamlı bir şekilde azalmıştır. Ticari isoproturonun %95'i 24 saatte; CMS/MMT kompozitlerinden isoproturonun %95'i 24 saatte salınmıştır. CMS / MMT taşıyıcılarının, herbisit sızıntısını ve çevre kirliliğini azaltabileceği sonucuna varmışlardır [14].

## 1.2 Tezin Amacı

Biyoyumlu hidrojellerin protein adsorpsiyonu, protein bazlı ilaçların kontrollü salınımı ve tarımda kullanılan herbisit moleküllerinin kontrollü salınımında kullanımının incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla öncelikle model protein olarak seçilen BSA'nın farklı pH ve sıcaklık koşullarında aljinat-kappa kerajin hidrojeline adsorpsiyonu incelenmiştir. Protein bazlı ilaçlara örnek teşkil etmesi açısından BSA molekülleri pH'a duyarlı aljinat-kappa kerajin hidrojeline enkapsüle edilmiş ve mide-bağırsak sisteminden geçişi sırasında proteinin bağırsak ortamında salınması hedeflenmiştir. Bu amaçla, farklı pH ve tuz çözeltisi konsantrasyonlarında çalışılmış, BSA'nın salınım mekanizması incelenmiştir.

Biyoyumlu aljinat kappa kerajin hidrojelinin herbisitlerin kontrollü salınımında kullanılması amacıyla 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) ve isoproturon herbisitleri hidrojel yapıya enkapsüle edilmiş ve su ortamında salınımı incelenmiştir. Hidrojel matrise eklenen doğaya zararsız adsorbanlar ile enkapsülasyon veriminin artırılması ve salınım hızının düşürülmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla aktif karbon, perlit, bentonit ve ferihidrit adsorbanları kullanılmıştır. Hidrojel matristen kontrollü salınım ile herbisitler bilinçli ve kontrollü bir şekilde kullanılabilir ve doğaya zararı minimum seviyeye indirilebilecektir.

## 1.3 Hipotez

Oral yoldan alınan peptid ve protein ilaçları mideden geçerken asit hidrolizi sonucu bozunabilir. Bu tür ilaçların mideden geçişi sırasında korunmasını sağlamak amacıyla enkapsülasyon yöntemleri uygulanabilir. Protein ilaçları biyoyumlu, biyobozunur ve toksik olmayan aljinat-kappa kerajin içine enkapsüle edilerek pH'a duyarlı hidrojel matris oluşturulabilir. Çapraz bağlı hidrojel yapı mide ortamı gibi düşük pH değerlerinde kararlılığını korurken bağırsak gibi yüksek pH ortamlarında bozularak yapısına hapsedilmiş protein/ilaç moleküllerini açığa çıkaracaktır. Benzer şekilde biyoyumlu aljinat kappa kerajin hidrojel yapı, zırai mücadelede herbisit moleküllerinin kontrollü salınımında kullanılabilir. Böylece bir anda yüksek dozlarda herbisit doğaya karışması önlenecek, yağmur suları ve sulama ile düşük dozlarda herbisit zamanla kontrollü bir biçimde toprağa salınacaktır.

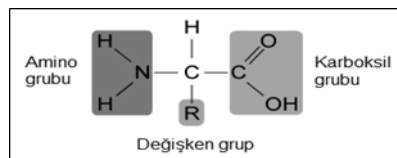


### PROTEİN-HİDROJELLER

#### 2.1 Proteinler ve Protein Adsorpsiyonu

##### 2.1.1 Protein

Proteinler, canlıların yapılarını oluşturan, hücrelerin her bir bölümünde bulunan ve kimyasal reaksiyonlarda katalizör görevi gören biyolojik makromoleküllerdir. Proteinler, gıda sanayinde, endüstride, çevresel uygulamalarda, biyopolimer üretiminde ve nanobiyoteknolojide geniş bir kullanım alanı bulmaktadır [15]. Proteinler, karbon, hidrojen, oksijen, azot, kükürt içeren 20 farklı doğal amino asidin peptit bağlarıyla (kovalent bağ) bağlanmasıyla oluşur ve yalnızca ribozomlarda sentezlenir. Amino asit, karbon grubuna bağlı bir karboksil grup ve bir amino gruptan oluşur (Şekil 2.1). Proteinlerin yapı taşlarını oluşturan amino asitler, karbon grubuna bağlı olan R'ye (değişken grup, yan grup) göre hidrofobik, hidrofilik, asidik, bazik veya nötr özellik gösterir. Proteinler farklı boyutlarda ve şekillerde olabilirler. Boyutları 1-100 nm arasında değişebilir. Şekil olarak lifli (fibröz) ve küresel yapıdadırlar. Lifli proteinler suda çözünmez; enzim ve antikor gibi küresel proteinler suda çözünebilirler [16].



Şekil 2. 1 Amino asidin yapısı [16]

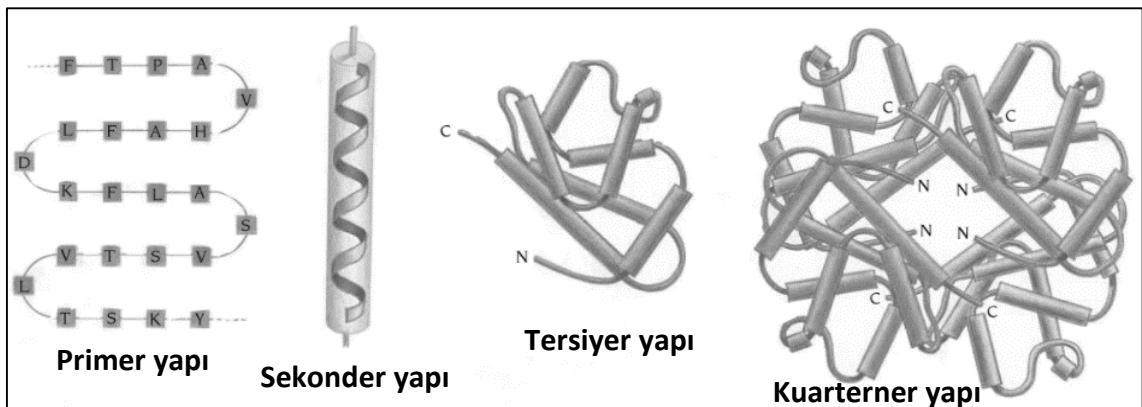
Linderstrøm–Lang ve arkadaşları (1959) tarafından proteinlerin birincil (primer), ikincil (sekonder), üçüncül (tersiyer) ve dördüncül (kuarterner) yapıları tanımlanmıştır (Şekil 2.2) [16].

**Primer yapı**, polipeptid zincirindeki aminoasitlerin doğrusal bir şekilde dizilmesinden oluşur. Amino asitleri birbirine bağlayan bağ kovalent veya peptid bağı olarak adlandırılır. Peptid bağı, amino asidin amino grubu ve diğer bir amino asidin karboksil grubu arasındaki reaksiyondan meydana gelir. Her bir peptid bağının oluşmasında bir su molekülü açığa çıkar. Disülfid bağları, sistein kalıntıları arasında meydana gelen (S-S bağları olarak da adlandırılan) kovalent bağıdır [16].

**Sekonder yapı**, bitişik amino asitler arasındaki hidrojen bağlarının etkisiyle, polipeptid zincirinin katlanmasıyla veya sarmal hale gelmesiyle oluşur.  $\alpha$ -heliks ve  $\beta$ -katmanı olmak üzere iki tip sekonder yapı vardır [16].

**Tersiyer yapı**, ikincil yapının polipeptid zincirlerinin kıvrılıp katlanmasıyla üç boyutlu bir yapı oluşur. Üçüncül yapının oluşmasına neden olan ve  $\alpha$ -heliks ve  $\beta$ -katmanı arasındaki kovalent olmayan bağlar: amino asitlerin polar olmayan R grupları tarafından oluşturulan hidrofobik bölgeler; iyonik; Van der Waals etkileşimleri; ve hidrojen bağlarıdır. Küresel bir konformasyonun oluşmasıyla, proteinlerin çevre ile olan etkileşimi en aza indirgenmiş olur [16].

**Kuarterner yapı**, üçüncül yapının iki veya daha fazla polipeptid zincirlerinin etkileşmesiyle oluşur. Üçüncül yapının oluşmasına neden olan kovalent olmayan bağlar dördüncül yapının oluşmasına da neden olur [16].



Şekil 2. 2 Proteinlerin yapıları [16]

### **2.1.1.1 Sığır Proteini (Bovine Serum Albumin, BSA)**

Albümin, globülin ve fibrinojenden oluşan plazma proteinlerinden oranı en fazla olan albümindir. Albümin, 585 aminoasidin oluşturduğu tek bir polipeptid zincirden meydana gelir ve  $\alpha$ -heliks sekonder yapıya sahiptir [17].

Albümin, kanın osmotik basıncının düzenlenmesinde, organik ve inorganik maddelerin (kortizol, östrojen gibi hormonlar, serbest yağ asitleri, kalsiyum, magnezyum) kovalent bağla bağlanmasında, kanda bulunan ilaçların ilgili yerlere taşınmasında görev alır [17].

### **2.1.2 Protein Adsorpsiyonu**

Protein adsorpsiyonu, sulu çözeltide bulunan proteinlerin (adsorbat) katı yüzeylere (adsorban) tutunması şeklinde tanımlanan bir prosestir [18].

Katı yüzeylerde protein adsorpsiyonu birçok doğal proseste önemli bir rol oynar ve bu nedenle tıp, farmasötik bilimler, analitik bilimler, biyoteknoloji, hücre biyolojisi ve biyofizik gibi çeşitli alanlarda uygulanır. Yapay doku iskelesinde protein adsorpsiyonu uygun damarlaşmanın oluşması için kilit bir faktörken; kan dolaşımı ile temas halindeki biyomedikal implantlarda tromboza neden olabilir. Ayrıca, protein adsorpsiyonu muhtemel iltihap akışlarının veya kirlenme proseslerinin oluşmasını destekleyen parçacıkların, bakterilerin veya hücrelerin yüzeye yapışmasını tetikleyebilir. Sensör yüzeylerinde ve tahlil platformlarında protein adsorpsiyonu, cihazın analitik performansını düşüren ciddi bir sorundur [19]. Proteinlerin kromatografik saflaştırılması, biyomoleküllerin kolon malzemeleriyle etkileşimini gerektirir [18]. Vücuda yerleştirilen biyoseramikler, vücut sıvısındaki proteinlerin yüzeye adsorbe olması ve daha sonra hücre bağlanmasıyla kemik dokusu rejenerasyonunda hayati bir rol oynamaktadır [20].

Dış parametreler, protein ve yüzey özellikleri protein adsorpsiyonunu kontrol eden faktörlerdir. Sıcaklık, pH, iyon şiddeti ve tampon çözelti bileşimi adsorpsiyonu etkileyen dış parametrelerdir. Sıcaklık hem protein adsorpsiyonunun denge halini hem de kinetiğini etkiler. Protein adsorpsiyonunun temel itici gücü yüzeye adsorbe olan su moleküllerinin ve tuz iyonlarının serbest bırakılmasından ve protein içindeki yapıların yeniden düzenlenmesinden kaynaklanan entropi kazancıdır. Yüzeye adsorbe olan protein miktarı genellikle artan sıcaklıkla birlikte artar. pH, proteinlerin elektrostatik

halini belirler. pH, proteinin izoelektrik noktasına (pI) eşit olduğunda net nötr bir molekül oluşturarak negatif ve pozitif yüklerin sayısı dengelenir. Düşük pH koşullarında (pH<pI) proteinler pozitif yüklü; yüksek pH koşullarında (pH>pI) da ise proteinler negatif yüklüdür. Protein ve adsorban zıt yüklere sahip olduğunda elektrostatik etkileşimler proteinin yüzeye adsorpsiyonunu hızlandırır yani adsorpsiyon hızı yüksek olur. Çözünmüş iyonların konsantrasyonunu ifade eden iyon şiddeti, bir elektrolitte sabit bir yükün elektrik potansiyelinin sönümlenme mesafesiyle ilişkili Debye uzunluğunu belirler. Bu, iyonik gücün artmasıyla yüklü birimler arasındaki elektrostatik etkileşimin daha kısa olması demektir. Bunun bir sonucu olarak, yüklü proteinlerin veya protein alanların karşıt yüklü substratlara adsorpsiyonu engellenirken; aynı yüklü substratlara adsorpsiyonunu geliştirir. Yüksek iyon gücü proteinlerin agregasyonunu artırır. Protein çökmesini hızlandıran iyonlar ( $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  ve  $\text{Ca}^{+2}$ ) ve yavaşlatan iyonlar ( $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ) arasında protein adsorpsiyonu maksimum olur [19].

Çizelge 2. 1 Protein adsorpsiyonunu etkileyen protein özellikleri [20]

Protein Özellikleri	Etki
Boyut	Büyük moleküllerin yüzey ile daha fazla temas alanı olabilir
Yük	İzoelektrik noktalarına (pI) yakın moleküller genellikle daha kolay adsorbe olurlar
Yapısal dayanıklılık	Daha az moleküller arası çapraz bağlantıya sahip olan daha az kararlı proteinler geniş ölçüde açılarak yüzey ile daha fazla temas noktası oluşturabilir
Yayıma hızı	Hızla yayılan moleküller yüzey ile daha hızlı temas edebilirler

Protein adsorpsiyonunu etkileyen bir özellik de proteinlerin özellikleridir (Çizelge 2.1). Proteinlerin ara yüzey davranışlarına göre sınıflandırılması, boyut, yapısal dayanıklılık ve bileşim gibi özellikleri dikkate alınarak yapılabilir. Bu amaçla, Lizozim,  $\beta$ -Laktoglobulin veya  $\alpha$ - Kimotripsin gibi küçük ve sert proteinler 'sert' proteinler olarak adlandırılır ve adsorpsiyonda yapısal değişiklikler için genellikle az bir eğilim gösterir. Orta büyüklükteki proteinler (>1mg/mL), Albumin, Transferrin, İmmunoglobulinler gibi plazma proteinleri genellikle yüzey teması üzerinde konformasyonel yönelimlere uğrayabilirler. Protein karışımlarında, adsorpsiyon davranışı çoğu zaman taşınma, adsorpsiyon ve itme

proseslerinin örtüşmesi sonucu oluşur. Küçük proteinler büyük proteinlere göre daha hızlı difüze olur ve erken adsorpsiyon aşamalarında daha baskındır. Bununla birlikte, daha büyük proteinler, geniş temas alanı nedeniyle yüzeye daha güçlü bir şekilde bağlanır ve yüzeye yayılma sırasında önceden adsorbe olan proteinleri itebilir [19].

Protein adsorpsiyonunu etkileyen diğer bir özellik yüzey özellikleridir (Çizelge 2.2). Protein-yüzey etkileşimleri, hem protein özelliklerinden hem de yüzey özelliklerinden etkilenir. Dikkat edilmesi gereken önemli parametreler arasında yüzey enerjisi, polarite, yük ve morfoloji bulunur. Kuvarz, mika, cam, metaller, grafit, polimer kaplı yüzeyler, poli eter sülfon filmler ve membran filtre malzemeler protein adsorpsiyonunda adsorban olarak çalışmalarda kullanılmıştır. Proteinler, polar yüzeylere kıyasla polar olmayan yüzeylere, düşük yüzey gerilimli yüzeylere kıyasla yüksek yüzey gerilimli yüzeylere, yüksüz yüzeylere kıyasla yüklü yüzeylere daha güçlü tutunma eğilimindedirler [19].

Çizelge 2. 2 Protein adsorpsiyonunu etkileyen yüzey özellikleri [20]

Yüzey Özellikleri	Etki
Topografi	Büyük doku, proteinlerin etkileşebileceği daha fazla yüzey alanına neden olur
Bileşim	Yüzeyin kimyasal yapısı moleküller arası kuvvetleri belirler
Hidrofobisite	Hidrofobik yüzeyler daha fazla protein bağlayabilir
Heterojenlik	Yüzey karakteristiklerindeki düzensizlik, proteinlerle farklı etkileşebilen alanlarla sonuçlanır
Potansiyel	Yüzey potansiyeli, çözeltideki iyon dağılımını ve proteinlerle etkileşimi etkiler

Protein adsorpsiyon teorileri iki gruba ayrılmaktadır. İlk gruba göre protein adsorpsiyonu güçlü yüzey/protein etkileşimleri tarafından kontrol edilirken; ikinci gruba göre protein adsorpsiyonu hidrofobik etkiler tarafından kontrol edilir. İlk grupta, protein adsorpsiyonunun moleküler ölçekte karmaşık olması, protein adsorpsiyonunun temel biyofiziğini anlamak için istatistiksel mekanik seviyesinde hesaplamalar gerektirir. İkinci grup, suyun (çözücü) protein adsorpsiyonunu kontrol ettiğini ve sonuç olarak kan proteinlerinin adsorpsiyonunun çok daha genel bir temelde anlaşılabilirliğini göstermektedir [21].

## 2.2 Hidrojeller

Hidrojeller, üç boyutlu (3D), suda çözünmeyen, çok miktarda suyu (moleküler ağırlığının 10 veya 20 katı) ve biyolojik sıvıları absorplayabilen doğal veya sentetik polimerlerin fiziksel veya kimyasal olarak çapraz bağlanmasıyla elde edilen hidrofilik polimerik ağlardır. Kimyasal çapraz bağlanmada, polimer zincirleri çapraz bağlayıcıya kovalent bağla bağlanır; fiziksel çapraz bağlanmada ise iyonik kompleksleşme, hidrofobik etkileşim ve hidrojen bağı ile bağlanır. Çapraz bağlanma hidrojelin suda çözünmemesini ve hidrojellerin fiziksel bütünlüğünün yanı sıra gerekli olan mekanik mukavemeti de sağlar. Polimerik zincir ağı ve su veya biyolojik sıvılar arasındaki kapiler etki, osmotik basınç, hidrasyon kuvvet etkileşimleri zincir ağının genişlemesine neden olur. Polimer zincir ağındaki hidrofilik gruplar  $-NH_2$ ,  $-COOH$ ,  $-OH$ ,  $-CONH_2$ ,  $-CONH$ ,  $-SO_3H$  hidrojele suyu absorplama özelliği kazandırır [22].

İstenilen fonksiyonellik, tersinmezlik, sterilizasyon ve biyouyumluluk gibi karakteristik özelliklere sahip olan hidrojeller, dokuları ve organları tedavi etmek veya onların yerine geçmek veya canlı dokuların işlevini yerine getirmek ve biyolojik sistemle etkileşimde bulunmak için biyolojik gereklilikleri karşılamaktadır. Hidrojeller hayatın başlangıcından beri doğada bulunur. Hidratlanmış hücre dışı matris bileşenleri olan bakteri biyofilmleri ve bitki yapıları doğada her yerde bulunan suda şişmiş motiflerdir. Wichterle ve Lim kontakt lens olarak kullanılan, yumuşak, suda şişen, esnek ve berrak jeli (poli(2-hidroksietil metaakrilat)) ilk kez 1960 yılında sentezlemiştir. Bu yenilik, günümüzde modern biyomedikal hidrojellerin kullanılmasına neden olmuştur [23].

Hidrojellerin avantajları: doğal dokulara benzer esneklik derecesi, biyolojik olarak uyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir ve bu yüzden enjekte edilebilirler, ilk geçiş metabolizmasını geçerek yerel olarak uygulanır, geleneksel ilaç dağıtım sistemlerine kıyasla sürekli ve uzun süreli etki, azalan dozaj uygulaması, yan etkileri azaltır, ilaçların daha iyi kullanılması, geliştirilmiş hasta uygunluğu, ilacın kolon gibi spesifik bölgelere hedeflenmesi, mukozanın uyuşturucudan korunması, ilaç kaybı kapsamlı ilk geçiş metabolizması ile önlenir, terapide hasta tarafından daha az dozaj birimi olması nedeniyle hastaya daha düşük günlük maliyet gerektirir, hücreleri korur, kolayca

değiştirilebilir, ilaçların veya besin maddelerinin zamanında salınımını sağlar, ilaç, vücut fonksiyonlarının veya hastalıklarının biyolojik saate uyacak şekilde adapte olur [24].

Hidrojellerin dezavantajları: kontak lensler lenslerin tutulmasına, dehidrasyona, hipoksi (oksijen oranının azalması), göz reaksiyonlarına neden olur, düşük mekanik mukavemeti, yüksek maliyet, sterilizasyonu zor olabilir, ilaçları veya besinleri yüklemesi zor olabilir, yapışkan değıllerdir ve işlenmesi zor olabilir [24].

İdeal bir hidrojin işlevsel özellikleri şu şekilde olmalıdır [24]:

- Fizyolojik sıvıda maksimum şişme kapasitesi,
- Uygulama gereksinimine bağlı olarak istenilen emilim hızı (partikül boyutu ve gözeneklilik),
- Düşük maliyet,
- Şişme ortamında ve depolama süresince yüksek dayanıklılık ve kararlılık.
- Parçalanmayı takiben toksik türlerin oluşumu olmadan en yüksek biyolojik bozunabilirlik.
- Renksiz, kokusuz, toksik olmayan, fotostabilitesi yüksek,
- Emilen çözeltiyi geri verebilmeli veya muhafaza etmeli,
- Düşük çözünür içerik ve düşük artık monomer miktarı, suda şiştikten sonra pH nötr olmalıdır.

### 2.2.1 Hidrojellerin Sınıflandırılması

Polisakkarit esaslı hidrojeller, hazırlama yöntemine, monomerlerin tiplerine ve iyonik yüklere göre sınıflandırılabilir (Çizelge 2.3) [25].

Fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojeller, polimerik birimlerin hidrojen bağı, iyonik veya hidrofobik etkileşimlerle birbirine bağlı olduğu, tersinir ve kararsız hidrojellerdir. Bu hidrojellerin kararlılığı değişen çevre koşullarıyla değişebilir. Nişasta/karboksimetil selüloz, jelatin/agar ve kitosan/glisero1-2-fosfat hidrojelleri biyomedikal uygulamalarda kullanılan fiziksel olarak çapraz bağlanmış hidrojellere örnek verilebilir [25].

Çizelge 2. 3 Polisakkarit esaslı hidrojenlerin sınıflandırılması [25]

Polisakkarit esaslı hidrojenlerin sınıflandırma şekilleri	İçerik
Hazırlanma yöntemi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojenler</li> <li>• Fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojenler</li> </ul>
Monomer türleri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Homopolimer hidrojen</li> <li>• Kopolimer hidrojen</li> <li>• İç içe geçmiş ağ yapılı hidrojen</li> </ul>
İyon yükleri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nötr hidrojen</li> <li>• İyonik (anyonik, katyonik) hidrojen</li> <li>• Amfolitik hidrojen</li> </ul>

Kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojenler, polimer yapısındaki hidroksil, amin ve karboksilik asit grupları çapraz bağlayıcıyla kovalent bağlanabilir ve çapraz bağlayıcı ve polimer arasındaki kovalent bağlanma nedeniyle hidrojenler geri döndürülemez niteliktedir ve karardır. Nişasta ve türevleri, selüloz, dekstrin, dekstran, kitosan, agar, aljinat, guar zamkı, hyalüronan gibi polisakaritler, bir başlatıcı ya da radyasyon varlığında çapraz bağlayıcılarla kimyasal olarak çapraz bağlanır [25].

Tek bir monomer (polisakkarit) türünden oluşturulan hidrojenler homopolimerdir. Polimer ağının zinciri boyunca rasgele, blok veya alternatif konfigürasyonda düzenlenmiş en az bir hidrofilik bileşen içeren iki veya daha fazla farklı monomer (polisakkarit) türünden oluşan hidrojenler kopolimer hidrojenlerdir. Bir ağ biçiminde bulunan iki bağımsız çapraz bağlı sentetik ve/veya doğal polimerden oluşan hidrojenler iç içe geçmiş ağ yapılı hidrojenlerdir [26].

Hyalüronik asit, aljinat, pektin, kerajin, dekstran sülfat anyonik polisakaritlerden ve kitosan, polilisin katyonik polisakaritlerden sentezlenen hidrojenler iyoniktir. Dekstran, agaroz ve pullulan polisakaritlerinden sentezlenen hidrojenler nötrdür. Üç boyutlu bir ağa sahip olan hidrojenler hem katyonik hem de anyonik kısımlar içeriyorsa bunlar amfolitik hidrojenler olarak kabul edilir [27].



### 2.2.2 Hidrojellerin Kullanım Alanları

Birçok sentetik ve doğal polimer kaynaklı hidrojel doku mühendisliği, ilaç ve biyomedikal alanlarda kullanılmaktadır. Yüksek su emme kapasitesi ve biyouyumluluk özelliklerinden dolayı, yara sargısında, ilaç salınımında, tarım alanında, hijyenik pedlerde, dış malzemelerinde, implantlarda, enjekte edilebilir polimerik sistemlerde, hibrid tip organlarda (kapsüllenmiş yaşayan hücreler) kullanılırlar [28]. Biyomedikal alanda kontak lens, yara sargısı, doku mühendisliği, ilaç salınım sistemleri, hijyen ürünlerinde kullanılır [29].

Hidrojeller, pH, sıcaklık, enzim ve elektrik alanı gibi çevre koşullarındaki değişikliklere tepki vererek insan organlarının davranışlarını kopyalayabilirler ve böylece protez kaslar ve organlar, robotik tutucular, kemik implantlarının stabilizasyonu ve medikal implantlarda kullanılırlar. Üriner kateterlerde kullanılan hidrojeller yüzeyde bakteri kolonizasyonunu önleyebilir ve yüzeyin biyouyumluluğunu iyileştirmek için pürüzsüz ve kaygan bir yüzey sağlar [23]. Süper emici hidrojeller kan ve idrar sıvılarını emdiği için yetişkin ve bebek bezlerinde kullanılır [22].

Hidrojeller atık su arıtımında da kullanım alanı bulmaktadır. Özellikle demir, bakır, nikel, çinko, kurşun ve kadmiyum gibi ağır metal iyonlarının; metil oranj, congo kırmızısı, asit kırmızısı, malaşit yeşili, metil violet ve kristal violet gibi boyaların adsorpsiyonunda kullanılmaktadır [23].

Tarımda, gübre yüklü kitosan, pektin ve kaboksimetil selülozdan sentezlenen hidrojeller toprağa besin maddelerinin kontrollü salınımında kullanılır [23]. Aynı zamanda hidrojeller sulama suyunun tüketiminin azaltılması, topraktaki gübre tutarlılığını arttırmak, bitkilerin ölüm oranını düşürmek ve bitkilerin büyüme hızını arttırmak için kullanılır [22].

Gıda paketlenme sanayinde nişasta/selüloz, jelatin/aljinat, kitosan/jelatinden sentezlenen hidrojeller, gelişmiş paketlenme (gaz ve nem bariyerleri), antibakteriyel ambalajlama, ürün nano katkı maddeleri, raf ömrünü uzatmak ve gıda maddelerini oksidasyondan koruma amacıyla kullanılır [23].

Polihidroksietil metakrilat esaslı hidrojeller, iyi yara iyileştirme koşulları sağlar ve bu nedenle, pansumanlarda, özellikle de yanık pansuman uygulamalarında yaygın olarak

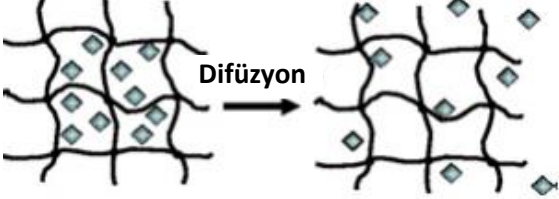
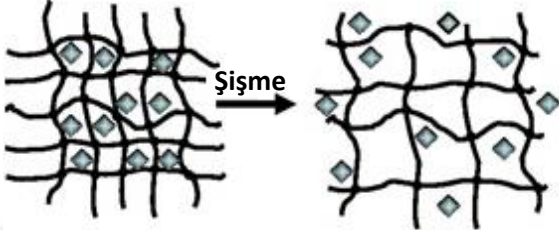
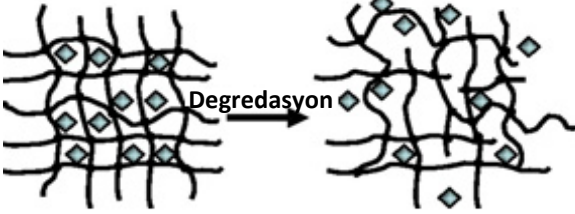
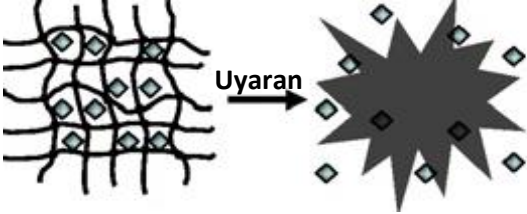
kullanılır. Kemik iliği ve omurilik hücresi rejenerasyonu için ilaç salınımı ve doku mühendisliğinde, kontakt lenslerde, hücre adhezyonunu arttırmak için iskele ve suni deri üretiminde, yapay kıkırdak üretim uygulamalarında kullanılır. Polivinilalkol esaslı hidrojeller, yapay gözyaşı, ilaç salınımı, suni hücre kapsülleri, kıkırdak rekonstrüktif, estetik cerrahi, yapay organlar, yara pansumanlarında enjekte edilen implantlar ve yumuşak doku dolgu maddelerinde kullanılır. Poli etilen glikol esaslı hidrojeller matris olarak doku yenilenmesinde hücre naklini sağlar. Poli (üretan) hidrojel, ilaç taşıyıcı olarak, yara sargı bezlerinde, suni böbrek zarlarında, kateterde kaplama malzemelerinde ve kontak lenslerde kullanılır. Ayrıca poli (üretan) /poli (akrilamid) 'den yapılmış hidrojeller pansumanlar, yapay kaslar, sensör sistemleri ve biyolojik ayırıcılar için kullanılır [22].

### **2.2.3 Hidrojellerin Kontrollü İlaç Salınımında Kullanımı**

Kontrollü ilaç salınım sistemlerinde ilaçlar belirli dozlarda ve belirlenen sürelerde vücuda verilir [30]. Hidrojeller, benzersiz şişme özellikleri ve yapıları nedeniyle biyomedikal ve farmasötik uygulamalarda son derece yararlı olmuştur. Bu biyomalzemeler, kendi işlevlerine dayanarak, kontrollü ilaç salım sistemleri, biyoyapışkanlı veya hedeflenebilir aygıtlar ve kendi kendini düzenleyen salınım formülasyonları için mükemmel bir aday olabilir. Salınım yöntemine göre, hidrojel esaslı cihazlar oral, nazal, oküler, rektal, vajinal, epidermal ve subkütan uygulamalar için kullanılabilir [31].

Proteinler veya ilaç etken maddeleri, hidrojel matrise fiziksel olarak hapsedilebilir veya kovalent veya kovalent olmayan bağlar, etkileşimlerle hidrojele adsorbe olur ve daha sonra difüzyon, şişme, erozyon, bozunma veya pH, sıcaklık gibi belirli bir tetikleyici vasıtasıyla serbest bırakılabilir. Hidrojellerden ilaç salınım mekanizmaları Çizelge 2.4'de verilmiştir [32].

Çizelge 2. 4 Proteinlerin hidrojellerden salınım mekanizmaları [32]

Hidrojellerden salınım mekanizması	Salınım sistemi
	Difüzyon kontrollü
	Şişme kontrollü
	Kimyasal olarak kontrol edilen
	Çevreye duyarlı

Hidrojellerden ilaç salınım sistemleri dört kategoriye ayrılır: Difüzyon kontrollü sistemler, şişme kontrollü sistemler, kimyasal olarak kontrol edilen sistemler ve çevreye duyarlı sistemler [31].

**Difüzyon kontrollü sistemler:** Bu sistemler de kendi içinde matris sistemler ve membran sistemler olmak üzere ikiye ayrılır. Difüzyonel kütle taşınımı, fiziksel olarak kontrollü ilaç salınım sürecini yöneten en önemli mekanizmadır. İlacın molar akısı  $J$  ( $\text{mol}/\text{cm}^2\text{s}$ ) ile konsantrasyon farkı ( $\Delta C$ ) doğru orantılıdır. Difüzyon akısı, Fick'in birinci kanunu kullanılarak hesaplanabilir; burada  $C$ , ilacın konsantrasyonu ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ ),  $D$  ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ) ise polimerin difüzyon katsayısını gösterir [29].

$$J = -D \cdot \Delta C \quad (2.1)$$

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -\Delta \cdot J = \Delta(D \cdot \Delta C) \quad (2.2)$$

Membran sistemlerde ilaç, hızı kontrol eden polimerik bir zar (kapsül, silindir veya küre olan hidrojel membran) ile çevrelenmiş bir çekirdekte bulunur. İlacın salınımı çekirdekten polimer membranın dışına doğru difüzyonla gerçekleşir [31]. Sabit bir salınımı sağlamak için sistemin merkezinde ilacın konsantrasyonu daha yüksektir [29].

Matris sistemlerde ilaç, hidrojin üç boyutlu yapısında eşit olarak dağılır veya çözülür. İlaç salınımı makromoleküler ağ veya gözenekler vasıtasıyla sağlanır ve bu durumda ilacın başlangıç salınım hızı, membran sistemlerde olduğu gibi sabit ve zaman bağımsız olmaktan ziyade zamanın karesi ile orantılıdır [29].

**Şişme kontrollü sistemler:** Şişme kontrollü ilaç salınımı, ilacın difüzyonunun hidrojin şişme oranından daha hızlı olması durumunda oluşur. Hidrojin şişmesiyle polimerin esnekliği artar ve gözenekler büyüyerek ilacın salınması sağlanır. Bu mekanizmanın modellenmesi genellikle moleküllerin şişmiş hidrojinlerin lastik ve camsı fazlarının arayüzünde serbest bırakıldığı sınır koşullarının taşınmasını içerir. Birçok küçük molekül ilacın hidroksipropil metilselüloz hidrojel tabletlerden salınması yaygın olarak bu mekanizma kullanılarak modellenmiştir. Şişme kontrollü sistemlerde ilaç, iki farklı mekanizma ile serbest bırakılabilir: camsı lastik arayüzeyinde oluşan polimer zincirlerinin difüzyonu ve gevşemesi. Erozyon kontrollü sistemlerde, ilacın bozulmamış polimer matristeki hareketi kısıtlıdır ve ilacın salınımı polimer degradasyonu ve gözenekliliğin artması tarafından yönetilir [31].

**Kimyasal olarak kontrol edilen sistemler:** Kimyasal olarak kontrol edilen salınım sistemleri, hidrojel matriste meydana gelen reaksiyonlar tarafından belirlenir. Örneğin, hidroliz ve enzimatik degradasyonuyla polimer zincirin bölünmesi, polimer ağ ve salınan ilaç arasında meydana gelen tersinir/tersinmez reaksiyonlardır [33].

**Çevreye duyarlı sistemler (pH'a duyarlı):** pH'a duyarlı ilaç salınım sistemleri, mide-bağırsak yolu, vajina ve kan damarları gibi vücudun çeşitli bölgelerinde pH'ın değişmesi nedeniyle bu bölgelerde kullanıma uygundur. pH kontrollü ilaç salınım sistemleri, ilacın acı tadının maskelenmesi, ağızdan kontrollü ilaç salınımı ve bazı kardiyovasküler

olumsuzluklarda yüksek kan pH'ında intravasküler ilaç salınımını amaçlar [34]. Çeşitli dokuların ve hücrel bölmelerin pH'ı: kan 7,35-7,45; mide 1-3; on iki parmak bağırsağı 4,8-8,2; kolon 7-7,5; vücut 6,8-7,4; tümör 6,5-7,2; golgi 6,4'tür. Tüm pH duyarlı polimerler, çevresel pH'daki değişikliklere cevap olarak protonları kabul eden veya serbest bırakan asidik (karboksilik ve sülfonik asitler) veya bazik (amonyum tuzları) grupları içerir. Poli (akrilamid), poli (akrilik asit), poli (metakrilik asit), poli (dietilaminoetil metakrilat) ve poli (dimetilaminoetil metakrilat) iyonik polimerler pH'a duyarlı davranış gösterir [35].

Uygun pH ve iyonik kuvvetteki sulu ortamda, pendant gruplar, iyonize olur ve polimer ağında sabit yükler geliştirerek, hidrojin pH bağımlı şişmesi veya şişmemesinden sorumlu olan elektrostatik itici kuvvetleri üretir ve böylece ilaç salınımını kontrol eder. pH'daki küçük değişiklikler, polimerik ağların ağ boyutunda belirgin bir değişime neden olabilir. Anyonik hidrojinlerin pendant grupları polimer ağ  $pK_a$ 'sının altında iyonlaşmaz fakat üzerinde iyonlaşır.  $pK_a$  değerinin üzerindeki pH değerlerinde hidrojel iyonların osmotik şişme kuvvetleri nedeniyle şişer. Katyonik hidrojinlerde ise  $pK_a$  değerinin altındaki pH değerlerinde hidrojel şişer. Katyonik hidrojinlerin nötr pH ortamda şişmesi çok azdır ve bu nedenle ilaç salınımı bu ortamlarda çok az olur [36].

İlaç taşıyıcı hidrojinlerin uygulanabileceği organlarla ilgili yapılan çalışmalar Çizelge 2.5'te verilmiştir [33].

Çizelge 2. 5 İlaç salınımında hidrojinlerle ilgili yapılan çalışmalar [33]

Bölge	Hidrojel	Açıklama
Mide	Sodyum aljinat-poli akrilamid	Kalsiyum iyonu ile çapraz bağlı sodyum aljinat-polieksilamid hidrojel küreler sentezlenmiştir. Hidrojinin kimyasal bileşimi, ilaç yükleme verimini ve ilaç salınımını etkiler.
Ağız	Poli(etilen glikol) (PEG)	Suberoillanilid hidroksamik asit ve sisplatin yüklü PEG hidrojinleri, tümör kütlelerini başarıyla azaltmıştır.

Çizelge 2. 5 İlaç salınımında hidrojellerle ilgili yapılan çalışmalar (devamı)

Bölge	Hidrojel	Açıklama
Cilt	Poloksamer hidrojel	Poloksamer hidrojel, morfinin sürekli salınımı sağlayarak yaraların tedavi edilmesinde gerekli olan pansuman değişikliklerinin sayısının azaltılmasında etkili olmuştur.
	Kitosan esaslı hidrojel	İbuprofen içeren jel formülasyonları önemli analjezik etkilere yol açmıştır.
Kolon	Kitosan/polivinil alkol hidrojel	$\beta$ -cyclodextrin naproksen yüklü kitosan/polivinil alkol hidrojelinden ilacın, sentetik bağırsak sıvısında salınımı gerçekleşirken sentetik mide sıvısında salınımı gerçekleşmemiştir.

**Çevreye duyarlı sistemler (Sıcaklığa duyarlı):** Sıcaklığa duyarlı sistemler ilaç salınımında çevreye duyarlı polimer sistemlerin en çok çalışılan sınıfıdır. Poli (N-izopropilakrilamid) ve poli (N,N-dietilakrilamid) polimerleri, sıcaklığa tepki veren bir faz geçiş özelliği sergiler. Sıcaklığa duyarlı polimerlerin ortak özelliği, metil, etil ve propil grupları gibi hidrofobik grupları içermesidir. Sıcaklığa duyarlı polimerlerin en yaygın kullanılanı poli (N-izopropilakrilamid)'dir. Poli (N, N-dietilakrilamid) 25-32 °C aralığındaki kritik çözelti sıcaklığının (LCST) vücut sıcaklığına yakın olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır [36].

Poli (N-izopropil akrilamid)'in düşük kritik çözelti sıcaklığı (LCST) 32 °C'dir. Poli (N-izopropil akrilamid) LCST altındaki sıcaklıklarda hidrofilik ve suda çözünürken; üzerindeki sıcaklıklarda hidrofobik ve suda çözünmez. Yani LCST üzerindeki sıcaklıklarda hücreler gibi biyolojik bileşenlerle etkileşime girer. İlaç salınım sisteminde ilaç, LCST altındaki sıcaklıklarda hidrojele yüklenirken hedeflenen bölgeye LCST üzerindeki sıcaklıklarda salınır [37].

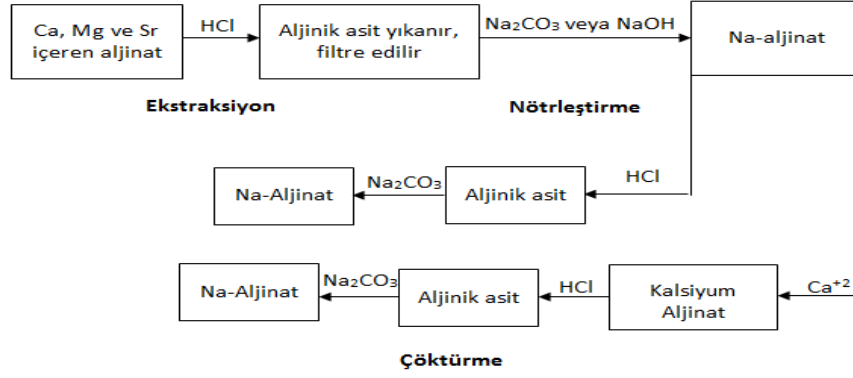
## 2.3 Aljinat

### 2.3.1 Ticari Aljinat

Ticari aljinat, Laminaria hyperborean, Ascophyllum nodosum ve Macrocystis pyrifera kahverengi alg türlerinin ekstraksiyonuyla elde edilir. Bu türlerin kuru ağırlığının % 40'ını

aljinat oluşturur. Aljinat, deniz suyunda bulunan magnezyum, stronsiyum, baryum ve sodyum gibi çeşitli katyonların karışık bir tuzu olarak bulunur. Bakteriyel aljinat, *Azotobacter vinelandii* ve birkaç *Pseudomonas* türlerinden sentezlenir [38].

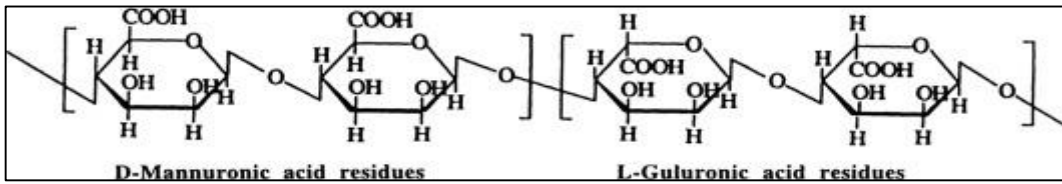
Ticari aljinatı hazırlamak için ıslak olarak kullanılabilen *Macrocystis Pyrifera* hariç diğer kahverengi yosunlar mekanik olarak hasat edilir ve kurutulur. Aljinatlar kahverengi alglerde (yosunlar) hücre içi matraste sodyum, kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), baryum (Ba) ve stronsiyum (Sr) içeren jeller olarak bulunur, böylece karşıt iyon bileşimi, deniz suyu ile iyon değişim dengesiyle belirlenir. Ekstraksiyon sürecinin ilk basamağı, 0,1-0,2 M mineral asidi kullanarak proton değişimiyle karşıt iyonların uzaklaştırılmasıdır. İkinci aşamada, çözünmeyen aljinik asit, sodyum aljinat oluşturmak üzere sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) veya sodyum hidroksit (NaOH) gibi alkaliler ile nötralize edilerek çözünür hale getirilir. Parçacık halindeki maddeyi uzaklaştırmak için eleme, yüzdürme, santrifüjleme ve filtrasyon gibi ayırma işlemleri uygulanır. Sodyum (Na) aljinat daha sonra doğrudan alkol, kalsiyum klorür veya bir mineral asit ile çöktürülür. Ürün kurutulur ve öğütülür (Şekil 2.3). Bu yöntem kullanarak elde edilen aljinatlar, biyomedikal uygulamalar için uygun olmayan birkaç mitojen ve sitotoksik safsızlık içerir. Bu nedenle, biyomedikal amaçlar için uygun ultra saf ve amitojenik alginatlar, daha titiz ekstraksiyon işlemleri kullanılarak hazırlanır. Serbest akışlı elektroforez, ticari aljinatlardan mitojenik yabancı maddeleri uzaklaştırmak için kullanılan yöntemdir. Bununla birlikte, bu yöntem zaman alıcı ve pahalı elektroforez ekipmanı gerektirdiği için büyük ölçekte kullanılması uygun değildir. Bundan dolayı, bir kimyasal ekstraksiyon yöntemi, baryum (Ba) -aljinat jellerde kullanılır. Baryum iyonları, kalsiyum iyonlarına kıyasla aljinatlara karşı daha yüksek çekim gösterirler. Ba-aljinat jelleri bu nedenle asidik ve nötr pH ortamlarında kararlıdır, ancak alkali pH koşullarında parçalanırlar. Ba-alginat kürelerdeki mitojenik kirleticiler önce çeşitli solüsyonlarla işleme tabi tutulur ve etanol ekstraksiyonuyla Ba-alginat kürelerden ayrıştırılır ve daha sonra saf aljinat küreler alkali çözeltilerde çözülür. Son olarak çözelti diyaliz edilir, baryum ve sodyum iyonları yer değiştirerek etanolde saf aljinat çökeltisi oluşur [39].



Şekil 2. 3 Aljinatın üretim şeması [39]

### 2.3.2 Aljinatın Kimyasal yapısı

Aljinat doğal bir biyopolimerdir. Aljinatlar, değişen miktarda 1,4-bağlı  $\beta$ -D-mannuronik asit ve  $\alpha$ -L-guluronik asit kalıntıları içeren doğrusal dallanmamış polisakaritlerin bir ailesidir (Şekil 2.4). Tortular, bileşim ve dizilim bakımından geniş çapta değişebilir ve zincir boyunca bir blok halinde düzenlenir.  $\beta$ -D-mannuronik asit bloklarının ve  $\alpha$ -L-guluronik asit bloklarının homopolimerik bölgeleri değişen yapının ( $\beta$ -d-mannuronik asit- $\alpha$ -L-guluronik asit blokları) bölgeleri ile birbirine dağıtılır. Serilerin bileşimi ve kapsamı ve molekül ağırlığı aljinatların fiziksel özelliklerini belirler. Moleküler değişkenlik, aljinatların izole edildiği organizma ve dokuya bağlıdır. Örneğin, L. hiperborea yosunundan elde edilen aljinatlar, en yüksek  $\alpha$ -l-guluronik asit tortusu içerirken, A. nodosum ve L. japonica'tan elde edilen aljinatların  $\alpha$ - L -guluronik asit bloklarının içeriği düşüktür. Alginatların düzenli tekrar eden bir birimi yoktur ve monomerlerin polimer zinciri boyunca dağılımı Bernoulli istatistikleriyle açıklanamaz. Aljinat solüsyonlarının viskozitesi esas olarak malzemenin molekül ağırlığına bağlıdır. Arotobacter Vinelandii'nin ve Pseudomonas Aeruginosa'nın içerdiği aljinatın molekül ağırlığı sırasıyla 80 ve 290 kilodaltons (kDa)'dur [40].

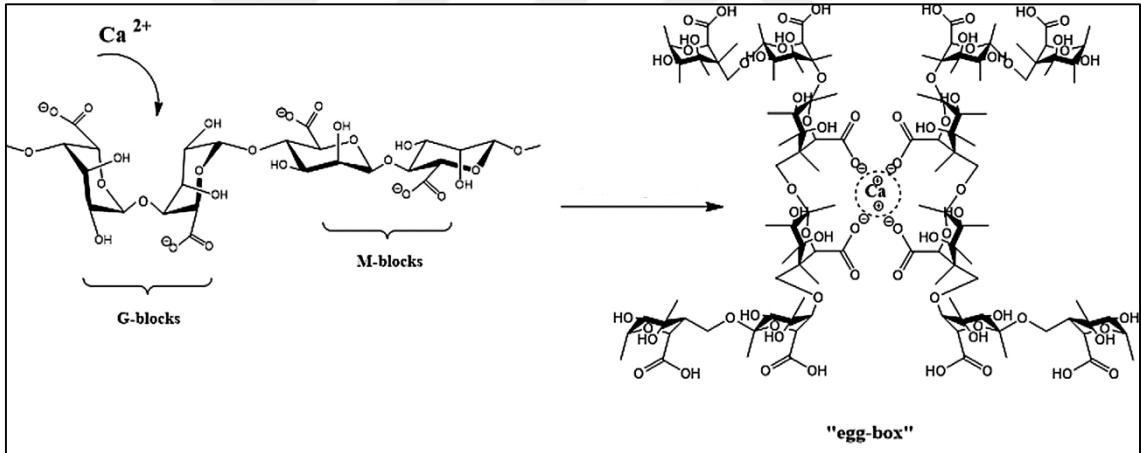


Şekil 2. 4 Aljinatın yapısı  $\beta$ - D-mannuronik asit ve  $\alpha$ -L- guluronik asit kalıntılarını gösteren aljinatın yapısı [40]



### 2.3.3 Aljinatın Jelleşme Mekanizmaları

Çapraz bağlı Aljinat matrisi, polimer zincirlerinin fiziksel veya kimyasal-çapraz bağlanması yoluyla hazırlanabilir. İyonik çapraz bağlanma, çoğunlukla, guluronat parçalarının karbonil gruplarının çok değerli katyonlarla etkileşime girmesiyle üç boyutlu bir ağ oluşturur ve "egg-box" konformasyonuna neden olur (Şekil 2.5). Önemli aljinat çapraz bağlama katyonlarının etkileşim kuvveti şu sırayı izlemektedir: üç değerli katyonlar >  $Pb^{+2}$  >  $Cu^{+2}$  >  $Cd^{+2}$  >  $Ba^{+2}$  >  $Sr^{+2}$  >  $Ca^{+2}$  >  $Co^{+2}$  >  $Ni^{+2}$  >  $Zn^{+2}$  >  $Mn^{+2}$ . Kalsiyum iyonu, en yüksek etkileşim mukavemetini göstermese de, en fazla kullanılır. Kalsiyum iyonunun fazla kullanılmasının nedeni Ca-aljinat jelinin yeterli ağ oluşturması ve insan organizması tarafından kalsiyumun kabul edilebilirliği ile ilişkilendirilebilir, çünkü kalsiyum iskelet sisteminin ana bileşenidir ve çeşitli fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol oynar.  $Sr^{+2}$  ve  $Ba^{+2}$  katyonları da çapraz bağlayıcı ajanlar olarak kabul edilir, ancak toksisitesi nedeniyle  $Pb^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  ve  $Cd^{+2}$  kullanımları sınırlıdır [41].



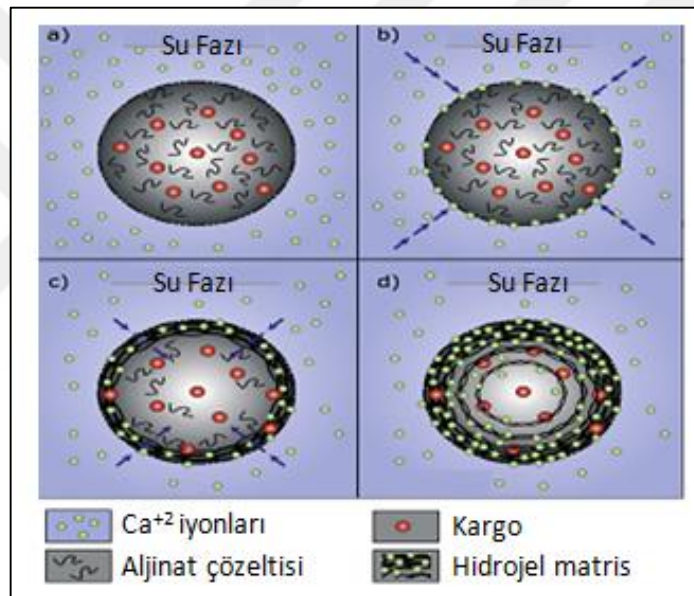
Şekil 2. 5 Aljinat guluronat birimlerinin karboksilat iyonlarının ve  $Ca^{+2}$  iyonlarının iyonik etkileşimi ile oluşan "egg-box" yapısının şematik gösterimi [41]

İyonik çapraz bağlama, iki ve üç değerli katyonların tek değerli iyonlarla değişimi nedeniyle üç boyutlu matrisin bozulmasına neden olur. Etilen diaminetetra asetik asit (EDTA) gibi bir şelatlaştırıcı ajan ve sitrat, sülfat ve laktat tuzları çapraz bağ yapmak için kullanılan kalsiyum iyonlarıyla aynı etkiye sahiptir. Mekanik özelliklerin iyileştirilmesi için çapraz bağlanma yöntemleri hidrojen bağları, yük etkileşimleri, kovalent bağlar ve stereo kompleksleşmeyi içerir. Glutaraldehit veya epiklorohidrin çapraz bağlayıcıları ile kurulan kovalent bağ daha güçlü ve daha kararlı ağ oluşumunu sağlar. Fakat bu yöntem,

insan organizması için biyolojik açıdan zararlı olabilecek artık toksik reaktifler içerebilir [41].

### 2.3.3.1 Dış Jelleşme

Aljinat hidrojelleri oluşturmak için klasik ve belki de en yaygın kullanılan iyonotropik jelleşme mekanizmasıdır. Bu işlemde, kalsiyum iyonları, sıvı-hava veya sıvı-sıvı yöntemleri ile oluşturulan aljinat damlacıklarına harici olarak eklenir. Kalsiyum iyonları, çapraz bağlanmayı başlatmak için aljinat polimer zincirleri arasındaki boşluklardan içeri doğru yayılır (Şekil 2.6). Protein veya canlı hücre gibi herhangi bir yük içeren bir aljinat çözeltisi kalsiyum iyonları ihtiva eden bir jelleşme banyosuna damlatılır [42].

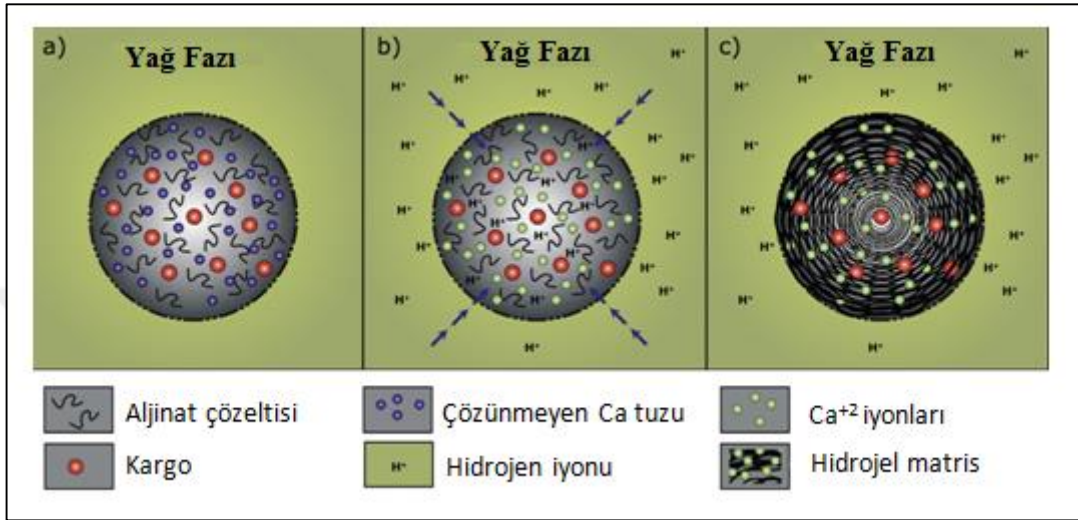


Şekil 2. 6 Aljinat kürelerin oluşumu için dış jelleşme mekanizması: (a) kalsiyum çözeltisi ile temas halindeki aljinat damlacığı, (b) kalsiyum iyonlarının içe doğru difüzyonu, (c) damlacıkların jelleşmesi ve (d) tamamlanmış jelasyon [42]

### 2.3.3.2 İç Jelleşme

Aljinat çözeltisi, emülsiyona kalsiyum çözeltisi eklenerek dış jelleştirme yoluyla jel haline getirilen mikro damlacıklara dağıtılır. Elde edilen kürelerin verimliliği artar, ancak küreler emülsiyonda jelleşme koşullarının kontrol edilmesinde zorluklar nedeniyle koagüle olma eğilimindedirler. Bu yöntemde, çözünmeyen kalsiyum karbonat parçacıkları dispersiyonu içeren aljinat çözeltisi önce bir yağ fazında emülsiyon haline getirilir. Ardından pH'ı düşürmek için emülsiyona asetik asit eklenir, böylece kalsiyum karbonatın

kalsiyum, karbondioksit ve su içinde çözülmesi sağlanır. Daha sonra, kalsiyum iyonları aljinat polimer zincirleri ile içten çapraz bağlanır. Çapraz bağlama ve jelleşme aljinat damlacıklarının içinde meydana geldiğinden, bu jelleşme mekanizması iç jelleşme olarak adlandırılır (Şekil 2.7) Bu jelleşme mekanizması, sadece aljinat solüsyonu karışmayan bir sıvıda dağıtıldığında kullanılır [42].



Şekil 2. 7 Aljinat kürelerin oluşumu için iç jelleşme mekanizması: (a) yağda aljinat damlacıklarının dağılması, (b) kalsiyum tuzunun çözülmesi için asit ilavesi ve (c) damlaların jelleşmesi [42]

Dış jelleştirme yöntemiyle oluşan parçacıkların aksine, iç jelleştirme ile üretilen jel yapısı daha homojendir [42].

### 2.3.4 Aljinatın Özellikleri

#### 2.3.4.1 Biyoyapışabilirlik

Biyoyapışkanlık mukozal ilaç salınımında önemli bir özelliktir. Biyoyapışma iki yüzey arasındaki yapışma veya bir yüzeyin diğer bir biyolojik alt katmana teması olarak tanımlanabilir. Eğer ilgili yüzeylerden biri mukozal bir tabaka ise, muko yapışma terimi kullanılır. Karboksil son grupları içeren aljinat anyonik bir muko yapışkan polimer olarak sınıflandırılır. Aljinat, polistiren, kitosan, karboksimetilselüloz ve poli (laktik asit) gibi polimerlere kıyasla en yüksek muko yapışkan mukavemete sahiptir [38].

İyi bir muko yapışkan ajan olan aljinat, oral yoldan kolona ilaç salınımında umut verici bir materyal olarak değerlendirilir. Biyoyapışma, bir maddenin, elektrostatik etkileşimler,

hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve spesifik ligand reseptör etkileşimleri gibi farklı kuvvetler vasıtasıyla temas tabakasına yapışabilmesidir. Bu nedenle, bir polimerik maddenin yapışma özellikleri, mukus yüzeyi ile etkileşime girmesine izin veren yapısında bulunan polar kimyasal gruplara bağlıdır. Aljinatın iyi muko yapışkan özellikleri, omurga boyunca dağılmış serbest karboksil ve hidroksil gruplarının varlığıyla açıklanabilir. Fizyolojik ortamda, aljinat ve mukos arasındaki elektrostatik itici güç, mukus ağı içindeki sialik asit ve sülfat kalıntılarının sonucu olarak önemli negatif yüklere ve aljinatın anyonik karboksilik gruplarına bağlı olarak gerçekleşir [41].

#### **2.3.4.2 Biyouyumluluk**

Aljinat, gıda endüstrisinde yoğunlaştırıcı, emülgatör ve stabilizatör olarak yaygın şekilde kullanılır. Aljinatın oral yoldan kullanıldığında toksik olmadığı ve biyolojik olarak bozunabildiği bildirilmiştir [38].

#### **2.3.4.3 pH Duyarlılık**

pH, hazırlama, saflaştırma, hidrojel oluşumu, şişme, salınma ve bozunma hızı gibi farklı proseslerde önemli bir rol oynamaktadır. Aljinat yapısındaki karboksilik grupların varlığı, polimerin dışarıdan pH uyarılarına karşı belirgin bir duyarlılık kazandırır.  $pK_a$  değerinin ( $pK_a < 3,4$ ) altında bir pH değeri için, karboksilik asit grupları iyonize olmamış haldedir ( $COOH$ ) ve çözünmez bir yapıya sahiptir.  $pH > 4,4$  olduğunda aljinatın karboksil grubu iyonize olur ( $COO^-$ ), negatif yüklerin elektrostatik iticiliğinde artış meydana gelir ve böylece polimer zinciri genişler ve hidrofilik matris şişer, pH 7,4 civarında zincir genişlemesi ve matris şişmesi en yüksek hale gelir. Bu nedenle, aljinatın pH'a duyarlı olması, pH duyarlı ilaç salınım sistemlerinde kullanılmasına olanak sağlar [41].

#### **2.3.5 Aljinatın Kullanım Alanları**

Aljinatın hidrojel yapısı canlı hücrelerin hücre dışı matrislere benzerliğinden dolayı yaraların iyileşmesinde, ilaç veya protein gibi biyoaktif ajanların salınımında ve doku mühendisliğinde hücre transplantasyonunda kullanılır. Aljinat yara bantlarında yara bölgesinin bakteriyel enfeksiyonunu azaltır ve yaranın iyileşmesine yardımcı olur. Çapraz bağlanmanın türüne ve yöntemine bağlı olarak aljinat jellerden küçük molekülü

kimyasal ilaçlar veya makromolekül proteinler kontrollü salınır. Aljinat jellerin oral yoldan kullanılabilmesi ve vücuda enjekte edilebilmesinden dolayı farmasötik alanda kullanılır [43].

Aljinat, gıda sanayinde kıvamlaştırıcı ve stabilizatör olarak kullanılır. Biyolojik veya kimyasal herbisitlerin enkapsülasyonunda ve toprağa veya suya kontrollü salınımında aljinat jel küreler kullanılır [43].

## 2.4 Kerajin

Kerajin, Chondrus, Eucheuma, Gigartina ve Hypnea su yosunu türlerinden üretilir. Kerajin üretiminde öncelikle su yosunlarının bozunmasını önlemek için su yosunları kurutulur. Daha sonra su yosunları kum, tuz gibi safsızlıkları ortamdaki uzaklaştırmak için birçok kez yıkanır. Yıkama işleminden sonra, sıcak alkali ekstraksiyon prosesiyle su yosunu hücrelerinden kerajin salınımı gerçekleşir. Kerajin sıcak çözeltiden saflaştırılır ve toz haline dönüştürülür. Kerajinin kimyasal yapısını ve jelleşme özelliklerini ekstraksiyon prosesinin sıcaklığı, pH ve süresi etkiler [44].

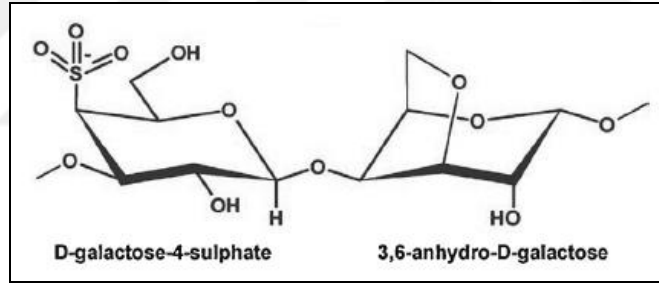
Kerajini çözümlerden ayırma yöntemlerinden biri "donma-çözülme" yöntemidir. Çözelti tuzlarla jelleştirilir ve daha sonra jel dondurulur. Çözülme işleminde su ortamdaki uzaklaştırılır geriye kalan kerajin ve onun tuzlarını içeren kısım istenilen partikül boyutuna öğütülür. Diğer bir yöntem "alkol çöktürme" yöntemidir. Bu yöntemde konsantre kerajin çözeltisi 2-propanol alkolde hazırlanır ve kerajin çözeltide çöktürülür. Daha sonra çözücü buharlaştırılır, çöken kerajin kurutulur ve istenilen partikül boyutuna öğütülür. Üçüncü yöntem "KCl çöktürme"dir. Bu yöntemde sıcak ekstraksiyondan sonra, filtrat buharlaştırılır ve ekstrüzyon cihazında soğuk %1-1,5 KCl çözeltisinden geçirilir. Ortaya çıkan jel iplikleri KCl çözeltisi ile yıkanır, preslenir, kurutulur ve kerajin tozu haline öğütülür [44].

k-kerajin üretiminde ilk aşamada, ham madde olarak kullanılan güneşte kurutulan eucheuma, hypnea, chondrus ve furcellaria kuru yosunlar 80-90 °C'de %5-10 NaOH çözeltisiyle muamele edilir. Daha sonra su yosunları kaynatılır ve jel hacmini azaltmak için evaporatörde ekstrakt biriktirilir. Furcellaria ve Eucheuma türlerine KCl çöktürme prosesi uygulanır. Bu proseste, sıcak ekstraksiyondan sonra filtrat buharlaştırılır ve

ekstrüzyon cihazında %1-1,5 KCl çözeltisinden geçirilir. Jel ipleri KCl çözeltisiyle yıkanır. Daha sonra presleme yöntemiyle dehidrasyon yapılır, kurutulur ve öğütülerek  $\kappa$ -kerajin toz haline getirilir [45].

#### 2.4.1 Kerajinin Kimyasal Yapısı

Kerajin, 3-bağlı- $\beta$ -D-galaktopiranoza (G-birimleri) ve 4-bağlı- $\alpha$ -D-galaktopiranoza (D-birimleri) bağlı D-galaktoz kalıntılarından oluşur (Şekil 2.8). Kerajin ester sülfatları bulunan D-galaktozun ve D-anhidrogalaktozun uzun lineer zincirlerinden oluşur ve anyoniktir. Kappa, iota ve lambda kerajinin en önemli üç türüdür ve sırasıyla bir, iki ve üç sülfat esterleri içerir, sülfat içeriği %20, 33 ve 41'dir. 3, 6-anhidro köprüler kappa ve iota kerajinde bulunur; fakat lambda kerajinde bulunmaz. Ortalama molekül ağırlığı 100-1000 kDa'dur. Kerajinlerdeki anyonik sülfat gruplarının farklı ortamlardaki iyonizasyon derecesini belirleyen  $pK_a$  değeri 2 civarındadır. Kappa-kerajinin kimyasal yapısı Şekil 2.8'de verilmiştir [46].



Şekil 2. 8 Kappa kerajinin kimyasal yapısı [46]

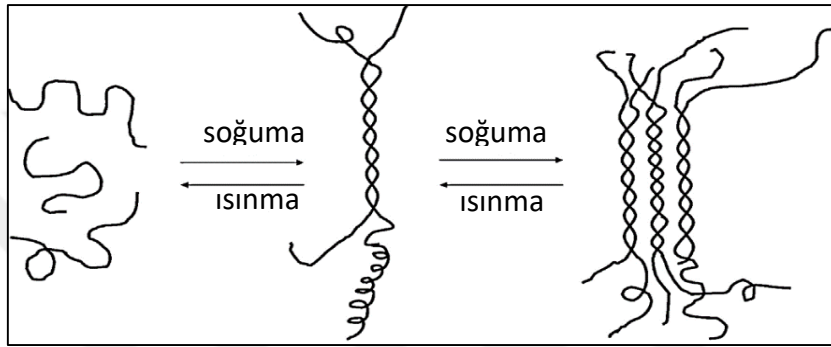
#### 2.4.2 Biyolojik Aktivitesi

Kerajinler, antikoagulan, anti kanser, antihiperlipidemik ve immünmodülatör gibi çeşitli potansiyel farmasötik özellikler gösterir. Antioksidan ve serbest radikal aktivite sergiler. Sülfat içeriği ile antioksidan aktivite arasında pozitif bir korelasyon vardır [47].

#### 2.4.3 Kerajinin Jelleşme özelliği

Kappa ve iota kerajinden jel oluşturulur. Kerajin moleküllerinde anhidro köprülerin varlığı jelleşme oluşturmak için önemli bir faktördür. 3,6-anhidro-D-galaktopiranosil birimlerinin C<sub>4</sub>-konformasyonu, jel oluşturmak için gerekli olan sarmal bir ikincil yapıyı

sağlar. Kerajin moleküllerinin iki adımda jel oluşturduğu varsayılır. İlk olarak, sıcaklık ve  $K^+$  veya  $Ca^{+2}$  gibi katyonlar tarafından kontrol edilen bir bobin-heliks geçişi gerçekleşir (Şekil 2.9). Daha kuvvetli kappa kerajin jelleri LiCl, NaCl,  $MgCl_2$ ,  $CaCl_2$  ve  $SrCl_2$  gibi tuzlara kıyasla KCl'nin varlığında oluşturulur. Sonra, bu heliksler paralel olarak toplanır. Sülfat grupları heliks dışındadır. İki zincir arasında oluşan hidrojen bağları heliks stabilizasyonundan sorumludur. Yani kappa ve iota kerajin üç boyutlu çift helezonlar ağı oluşturabilir. Jeller termal olarak geri dönüşümlüdür. Jeller yaklaşık 50 °C'ye soğutulduktan sonra oluşmaya başlar ve 80 - 90 °C'ye ısıtıldığında erir [48].



Şekil 2. 9 Kerajin moleküllerinin jelleşme mekanizması [48]

#### 2.4.4 Kerajinin Kullanım Alanları

Kerajin, jelleşme, koyulaştırma, emülsiyon yapma ve stabilizatör gibi mükemmel fiziksel işlevsel özellikleri nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Süzme peynir, pudingler ve süt tatlılarının dokusunu iyileştirmek için stabilizatör olarak et işleme endüstrisinde sosis, köfte ve az yağlı hamburger üretiminde kullanılır. Kerajin, ilaç, kozmetik, baskı ve tekstil alanlarında da kullanılır. Diş macununda stabilizatör, yara sargı bezlerinde insan sıvısını absorplar, karotenle etkileşime girerek el losyonları ve şampuanlarda yumuşak cilt ve ipeksi saçlar sağlar. Doğal bir polisakkarit olan kerajinin biyolojik aktivitesi, farklı kimyasal yapıları ve fiziksel özellikleri nedeniyle biyomedikal alanda, doku mühendisliğinde ve ilaç salınımlarında kullanılır. Tablet sıkıştırma işlemi sırasında uyumluluğu, yüksek dayanıklılığı ve kalıcı viskoelastikliği nedeniyle tabletleme yardımcı maddeler olarak kullanılır. Negatif yüklü gruplar içermesi pH-duyarlı salınımda, hidrofilik gözenekli ağ yapısı doku mühendisliğinde kullanılmasında,

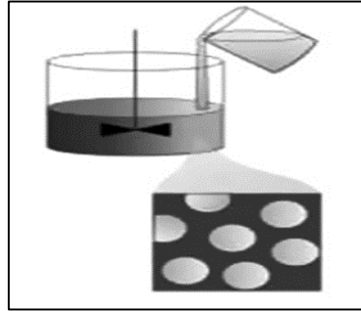
jel oluşumu, suyu absorplama, başka polimerlerle çapraz bağlanması sıcaklığa-duyarlı ilaç salınımda kerajinin kullanılmasına olanak sağlar [47].

## 2.5 Enkapsülasyon

İzolasyon veya ayırma (canlı hücrelerin veya enzimlerin izolasyonu, gıda ürünlerinin bozunmasının önlenmesi), stabilizasyon veya koruma (canlı hücreler, enzimler veya gıda bileşenleri, uzun ömür ve stabilitesini iyileştirmek için nem, oksijen çevresel faktörlerden korumak), kontrollü salınım (ilaçlar, gıda maddeleri veya böcek ilaçlarının etkinliğini arttırmak için kontrollü bir şekilde salınması) ve ürün özelliklerini geliştirmek (hoş olmayan koku ve tadı maskeleyerek) amacıyla enkapsülasyon yöntemleri uygulanır. Damlama ve emülsifikasyon yaygın olarak kullanılan enkapsülasyon yöntemleridir [42].

### 2.5.1 Emülsifikasyon Yöntemi

Damlacıkları oluşturmak için kullanılan yöntemlerden biri emülsifikasyondur (Şekil 2.10) ve bu yöntemle daha küçük küreler elde edilir, ancak damlama yöntemine kıyasla daha büyük bir boyut dağılımı sağlar. Bu yöntem, bir ana maddenin (core material) karışmayan bir fazla emülsiyon haline getirilmesine dayanır [49].



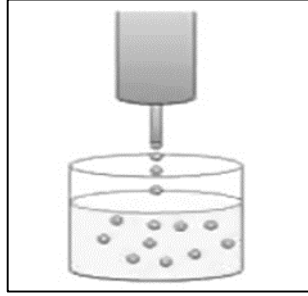
Şekil 2. 10 Emülsifikasyon yöntemi [49]

### 2.5.2 Damlama Yöntemi

Damlacıkları oluşturmak için kullanılan basit bir yöntemdir. Damlacıkları oluşturmak için şırınga ucuna bağlı iğne kullanılır. Bu yöntem az bir parçacık boyutu dağılımı gösterir, ancak iğnenin çapına bağlı olarak nispeten büyük küreler (1-4 mm) oluşur ve üretim kapasitesi damla oluşum hızı ile sınırlanır. Basınçlı uygulamalar, fazla sayıda iğne olan



damlama cihazları daha büyük akış hızlarında daha küçük küreler elde etmek için kullanılır (Şekil 2.11) [49].



Şekil 2. 11 Damlama yöntemi [49]

Bu çalışmada, damlama yöntemi kullanılarak BSA ve herbisit molekülleri kerajin-aljinat hidrojellerine enkapsüle edilmiştir.

### DENEYSEL ÇALIŞMALAR

#### 3.1 Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır ve Sigma Aldrich firması tarafından üretilmiştir.

Hidrojel üretiminde, 9005-38-3 CAS numaralı sodyum aljinat ve 11114-20-8 CAS numaralı kappa kerajin ( $\kappa$ -kerajin) kullanılmıştır. Protein olarak 9048-46-8 CAS numaralı sığır proteini (bovine serum albumin, BSA), pestisit olarak 34123-59-6 CAS numaralı isoproturon ve 94-75-7 CAS numaralı 2,4-Diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) kullanılmıştır.

Hidrojel üretiminde çapraz bağlayıcı olarak kalsiyum klorür dihidrat ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ve potasyum klorür (KCl); tampon çözeltilerin hazırlanmasında sodyum klorür (NaCl), glasiyal asetik asit ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), sodyum asetat ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), monosodyum fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ); sentetik mide sıvısının (SGF) hazırlanmasında hidroklorik asit (HCl); sentetik bağırsak sıvısının (SIF) hazırlanmasında potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ve sodyum hidroksit (NaOH); ferihidrit sentezinde demir (III) nitrat ( $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ) ve potasyum hidroksit (KOH) kullanılmıştır.

Herbisit enkapsülasyon deneylerinde kullanılan adsorbanlar perlit, kalsiyum bentonit ve aktif karbon sırasıyla Taşper, Ünye Madencilik ve Cargill firmalarından temin edilmiştir.

### 3.1.1 Sığır Proteini (Bovine Serum Albumin, BSA)

BSA çözeltileri adsorpsiyon ve enkapsülasyon deneylerinden hemen önce taze hazırlanmıştır ve hazırlanan BSA çözeltileri buzdolabında muhafaza edilerek bir hafta süreyle kullanılmıştır. Çizelge 3.1’de BSA proteininin genel özellikleri verilmiştir.

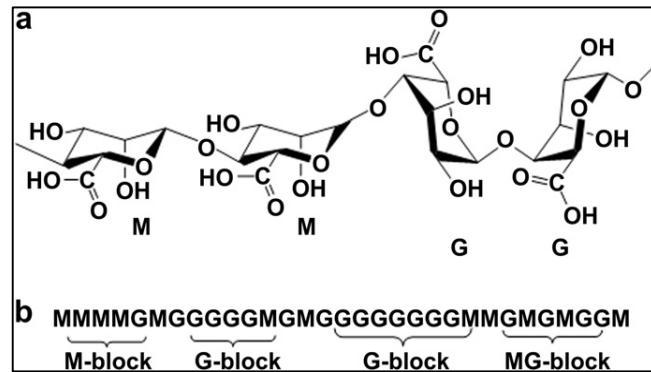
Çizelge 3. 1 BSA’nın genel özellikleri [50]

Molekül Ağırlığı kDa	Hidrodinamik Çapı nm	İzoelektrik Noktası pI	Aminoasit Sayısı	%1’lik Çözelti pH	Görünüşü
66	7,2	4,6-4,8	585	5,2-7	Soluk sarı

### 3.1.2 Sodyum Aljinat

Sodyum aljinat, (1,4)-bağlı  $\beta$ -D-mannuronik asit (M) ve  $\alpha$ -L-gluronik asit (G) bloklarını içeren lineer kopolimerdir. Bloklar, ardışık G kalıntılarında (GGGGGG), ardışık M kalıntılarında (MMMMMM) ve değişen G ve M kalıntılarında (GMGMGM) oluşur. Ticari sodyum aljinatın molekül ağırlığı 32,000-400,000 g/mol’dür [38].

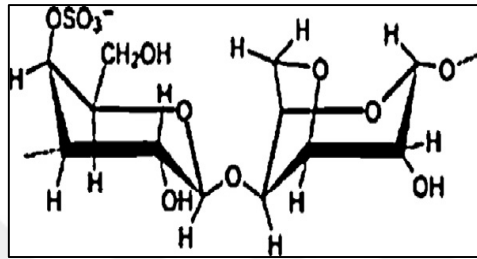
İki değerli katyonlarla ( $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Sr}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  ve  $\text{Ba}^{+2}$ ) sodyum aljinatın sadece G blokları çapraz bağlanarak hidrojel meydana gelir. Aljinatın iki değerli iyonlarla afinitesi şu sırayla azalır:  $\text{Pb} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Ba} > \text{Sr} > \text{Ca} > \text{Co}, \text{Ni}, \text{Zn} > \text{Mn}$ . Hidrojel oluşumunda en çok kullanılan iki değerli katyon  $\text{Ca}^{+2}$ ’dir. Sodyum aljinat omurgasının temsili bir yapısı Şekil 3.1’de gösterilmiştir [42].



Şekil 3. 1 Sodyum aljinatın yapısı (a) zincir konformasyonu (b) blokların dağılımı [43]

### 3.1.3 Kappa Kerajin ( $\kappa$ -Kerajin)

$\kappa$ -kerajin, 3-bağlı- $\beta$ -D-galaktopiranoz (G-birimleri) ve 4-bağlı- $\alpha$ -D-galaktopiranoz (D-birimleri) veya 4-bağlı-3,6-anhidro- $\alpha$ -D galaktopiranozdan (DA-birimleri) oluşan  $\kappa$ -kerajin anyonik, sülfatlanmış lineer bir polimerdir. Ticari  $\kappa$ -kerajinin molekül ağırlığı 100-1000 kDa'dur. Alkali metal iyonları ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ )  $\kappa$ -kerajinin jelleşmesine neden olur fakat düşük katyon ve kerajin konsantrasyonlarında  $\text{K}^+$  ve  $\text{Rb}^+$  iyonları jel oluşmasında daha fazla etkilidir [46]. şekil 3.2'de  $\kappa$ -kerajinin kimyasal yapısı gösterilmiştir.

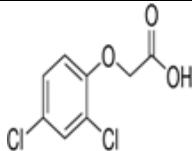


şekil 3. 2  $\kappa$ -kerajinin kimyasal yapısı [45]

### 3.1.4 2,4-Diklorofenoksit Asetik Asit (2,4-D)

2,4-D, buğday, mısır, yulaf, şavdar ve arpa gibi tahıl ürünlerinde ve aynı zamanda şimen, mera ve şayırlarda bulunan geniş yapraklı yabancı otların kontrolünde kullanılmaktadır [50]. 2,4D'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

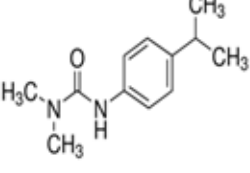
Çizelge 3. 2 2,4D'nin kimyasal ve fiziksel özellikleri [51]

Kimyasal yapısı	Molekül formülü	Molekül ağırlığı g/mol	Görünüşü	Sudaki çözünürlüğü mg/L (25 °C)	Erime noktası °C	pKa
	$\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_3$	221,04	Toz beyaz kristal	900	135	2,3

### 3.1.5 Isoproturon

Isoproturon (3-(4-izopropilfenil)-1,1-dimetilüre), geniş yapraklı otların kontrolünde kullanılmaktadır. Çizelge 3.3'de isoproturonun fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmiştir.

Çizelge 3. 3 Isoproturonun kimyasal ve fiziksel özellikleri [11]

Kimyasal yapısı	Molekül formülü	Molekül ağırlığı g/mol	Görünüşü	Sudaki çözünürlüğü mg/L (20 °C)	Erime noktası °C
	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O	206,3	Toz renksiz	55	158

### 3.2 Kullanılan Cihazlar

Hidrojel üretiminde, protein adsorpsiyonu, protein enkapsülasyonu ve salınımı, herbisit enkapsülasyonu ve salınımı deneylerinde aşağıdaki cihazlar kullanılmıştır.

- UV spektrofotometre (ANALYTIC JENA SPECORD 200)
- FT-IR (Bruker Alpha-P)
- SEM (Zeiss EVO LS 10)
- HPLC (Agilent 1200 series)
- pH metre (EUTECH alpha-pH1000)
- Etüv (redLine BINDER)
- Hassas terazi (OHAUS Pioneer)
- Peristaltik pompa (Masterflex L/S)
- Orbital çalkalayıcı (WiseShake SHO-1D)
- Çalkalamalı inkübatör (IKA KS4000i)
- Ayar kollu çalkalayıcı (S50 -Shaker for 8 Erlenmeyer 100-800rpm)
- Santrifüj (NÜVE NF 400)
- Liyofilizatör (Christ Alpha 1-2 LD Plus)
- Manyetik karıştırıcı (IKA RCT Basic)

### 3.3 Hidrojel Üretimi

Sodyum aljinat κ-kerajin oranı hacimce 70:30 olacak şekilde hidrojeller üretilmiştir [52, 53]. %2'lik sodyum aljinat çözeltisi 140 mL saf suda hazırlanmış ve oda sıcaklığında 24 saat boyunca karıştırılmıştır. %2'lik kappa kerajin çözeltisi için 1,2 g κ-kerajin 60 mL saf suda ilk 1 saat 80 °C ve sonra oda sıcaklığında 24 saat boyunca karıştırılarak

hazırlanmıştır. Daha sonra her iki polimer çözeltisi bir araya getirilerek homojen hale gelene kadar 2 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım persitalk pompa yardımıyla (0,5 mL/dak) %2'lik kalsiyum klorür dihidrat ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) çözeltisine damla damla eklenmiştir. Böylece polimer karışımındaki sodyum ile kalsiyum iyonlarının yer değiştirmesi sağlanmış ve böylece suda çözünmeyen çapraz bağlı kalsiyum-aljinat-  $\kappa$ -kerajin hidrojel elde edilmiştir. Elde edilen hidrojel 1 gün süreyle kalsiyum klorür dihidrat ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) çözeltisi içerisinde bekletilerek çapraz bağlanma işleminin tamamlanması sağlanmıştır. Daha sonra saf su ile birçok kez dekantasyon işlemi yapılmıştır. Hidrojeller sabit tartıma gelene kadar oda sıcaklığında kurutulmuştur.

### **3.4 Hidrojel Karakterizasyonu**

Sentezlenen hidrojin adsorpsiyon öncesi ve sonrası, tampon çözeltide (pH 4,8) bekletildikten sonra ve enkapsülasyon sonrası yapısı Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. FT-IR analizleri ile hidrojel yapısında bulunan fonksiyonel gruplar belirlenmiştir.

#### **3.4.1 FT-IR Analizi**

BSA adsorpsiyonu öncesi ve sonrası hidrojin, tampon çözeltide (pH 4,8) bekletilen hidrojin, saf haldeki BSA, aljinat ve  $\kappa$ -kerajinin yapısındaki fonksiyonel gruplar Bruker Alpha-P markalı FT-IR cihazıyla belirlenmiştir.

#### **3.4.2 SEM Analizi**

Hidrojin BSA adsorpsiyonu öncesi ve sonrası, tampon çözeltide (pH 4,8) bekletilen hidrojin ve BSA enkapsülasyonundan sonra hidrojin yüzeyi Zeiss EVO LS 10 markalı Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntülenmiş ve morfolojisi belirlenmiştir.

### **3.5 Protein Adsorpsiyonu Deneyleri**

BSA proteininin aljinat- $\kappa$ -kerajin hidrojel kürelerine adsorpsiyonu farklı sıcaklık (25, 32,5 ve 40 °C), pH ve süre koşullarında çalışılmıştır. BSA çözeltilerinde pH ayarı için fosfat tamponu (pH 2,8 ve 6,8) ve asetat tamponu (pH 4,8) kullanılmıştır.

Kullanılacak hidrojel, protein adsorpsiyonu işleminden önce 1 gün süreyle ilgili tampon çözeltide (200 mL) bekletilip oda sıcaklığında sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur.

**50mM sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH 2,8) hazırlanışı:** 4,79 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 500 mL 0,01 M NaCl çözeltisinde çözülüp üzerine 0,68 mL H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (safılık %85) eklendikten sonra 0,01 M NaCl çözeltisiyle 1 L'ye tamamlanmıştır [17].

**10mM sodyum asetat tampon çözeltisi (pH 4,8) hazırlanışı:** 0,68 g CH<sub>3</sub>COONa.3H<sub>2</sub>O 500 mL 0,01 M NaCl çözeltisinde çözülüp, 17,4 M glacial asetik asitten (safılık %99,5) 0,287 mL eklendikten sonra 0,01 M NaCl çözeltisiyle 1 L'ye tamamlanmıştır [17].

**100mM sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH 6,8) hazırlanışı:** 5,99 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 7,098 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 500 mL NaCl çözeltisinde çözüldükten sonra 0,01 M NaCl ile 1 L'ye tamamlanmıştır [17].

### 3.5.1 Protein Adsorpsiyon Kinetiği

Kinetik çalışma için 0,5 mg/mL BSA çözeltisi asetat tamponunda (pH 4,8) hazırlanmıştır. 100 mL BSA çözeltisine 0,2 gram adsorban eklenerek kinetik çalışma başlatılmıştır. Kinetik çalışmanın 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90 ve 120. dakikalarında karışımdan 1 mL örnekler alınarak 0,45 µm membran filtreden süzölmüştür. 1 mL örnekler 4 mL asetat tamponu ile seyreltildikten sonra BSA konsantrasyonu ölçülmüştür. Kinetik çalışma 25, 32,5 ve 40 °C sıcaklıklarda ve 130 rpm çalkalama hızında gerçekleştirilmiştir.

Belirli bir t zaman sonra hidrojin BSA proteini adsorpsiyon kapasitesi denklem (3.1)'e göre hesaplanmıştır:

$$Q_t = \frac{C_0 - C_t}{M} \times V \quad (3.1)$$

Burada,

Q<sub>t</sub>: adsorpsiyon kapasitesi: t zaman sonra 1 gram adsorban başına adsorplanan madde miktarını (mg/g),

C<sub>0</sub>: başlangıçtaki BSA konsantrasyonunu (mg/mL),

C<sub>t</sub>: t zaman sonra BSA konsantrasyonunu (mg/mL),

M: adsorban miktarını (g),

V: çözeltili hacmini (mL) ifade eder.

### 3.5.1.1 Adsorpsiyon Kinetik modelleri

Hidrojel üzerine BSA adsorpsiyon mekanizmasını açıklamak için kinetik çalışmada elde edilen deneysel sonuçların; yalancı (pseudo) birinci derece, yalancı (pseudo) ikinci derece ve parçacık içi difüzyon modellerine uygunluğu incelenmiştir.

Yalancı (pseudo) birinci dereceden kinetik model Lagergren tarafından Denklem (3.2) ile ifade edilmiştir [54]:

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1 \times t}{2,303} \quad (3.2)$$

$q_e$ : denge durumunda 1 gram adsorban başına adsorplanan BSA miktarını (mg/g),

$q_t$ : t zaman sonra 1 gram adsorban başına adsorplanan BSA miktarını (mg/g),

$k_1$ : birinci dereceden hız sabitini (dak<sup>-1</sup>),

t: temas süresini (dak) ifade eder.

t-log( $q_e - q_t$ ) doğrusunun eğiminden birinci dereceden hız sabiti  $k_1$ ; kesim noktasından teorik  $q_e$  bulunur.

Yalancı (pseudo) ikinci dereceden kinetik model Ho ve McKay tarafından Denklem (3.3) ile ifade edilmiştir [54]:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (3.3)$$

Burada;

$q_t$ : t zaman sonra 1 gram adsorban başına adsorplanan BSA miktarını (mg/g),

$q_e$ : denge anında 1 gram adsorban başına adsorplanan BSA miktarını (mg/g),

$k_2$ : ikinci dereceden hız sabitini (g/(mg.dak)),

t: temas süresini (dak) ifade eder.

t-(t/ $q_t$ ) doğrusunun eğiminden teorik  $q_e$ ; kesim noktasından ikinci dereceden hız sabiti  $k_2$  bulunur.



Parçacık içi difüzyon modeli Weber ve Morris tarafından Denklem (3.4) ile ifade edilmiştir [54]:

$$q_t = k_p t^{1/2} + C \quad (3.4)$$

Burada,

$q_t$ : t zaman sonra 1 gram adsorban başına adsorplanan BSA miktarını (mg/g),

C: sınır tabaka kalınlığıyla ilgili sabit,

$k_p$ : parçacık içi difüzyon hız sabitini (mg/(g.dak<sup>1/2</sup>)),

t: temas süresini (dak) ifade eder.

$t^{1/2}$ - $q_t$  grafiğinin eğiminden parçacık içi difüzyon hız sabiti  $k_p$ ; kesim noktasından C sabiti bulunur.

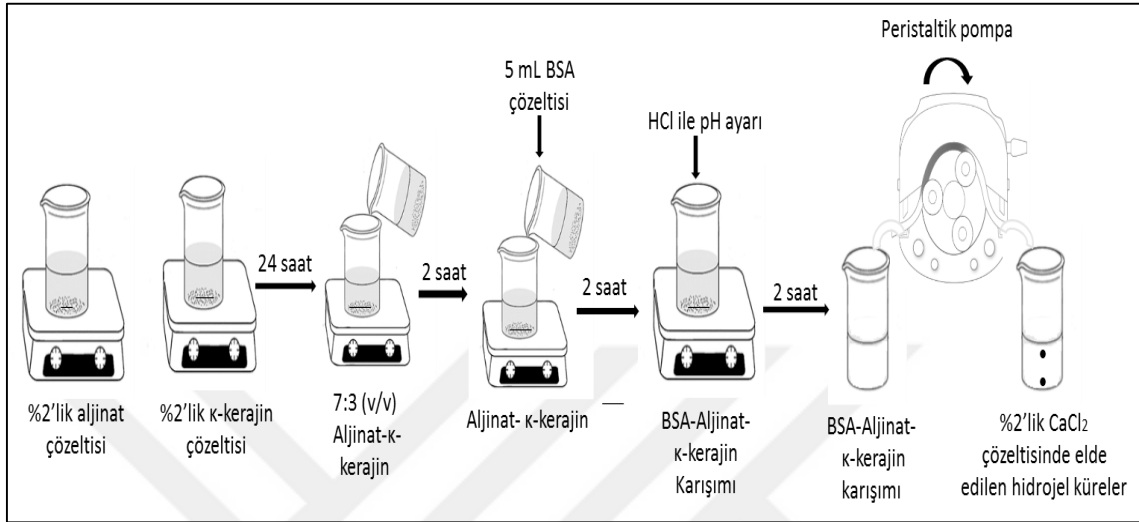
### 3.6 Enkapsülasyon Deneyleri

Bu amaçla öncelikle, BSA'nın hidrojele enkapsülasyonunu Çizelge 3.4'te belirtildiği gibi farklı pH ve tuz çözelti konsantrasyonlarında gerçekleştirilmiştir. %2'lik  $\kappa$ -kerajin çözeltisi ilk 1 saat 80 °C'de ısıtıldıktan sonra oda sıcaklığında 24 saat; %2'lik sodyum aljinat çözeltisi oda sıcaklığında 24 saat homojen hale gelene kadar 400 rpm'de karıştırılmıştır. 1 gün sonra viskoz  $\kappa$ -kerajin çözeltisi viskoz sodyum aljinat çözeltisine eklenmiş ve 2 saat 400 rpm'de karıştırılmıştır. Sodyum aljinat-  $\kappa$ -kerajin karışımına saf suda hazırlanan %1'lik BSA çözeltisinden 5 mL eklenmiş ve 2 saat sonra 0,1 ve 1 M HCl ile karışımın pH'ı istenilen değerlere ayarlanmıştır. BSA- sodyum aljinat-  $\kappa$ -kerajin karışımı 250 mL tuz çözeltisine peristaltik pompa kullanılarak 0,5 mL/dak hızla damlatılarak BSA yüklü küreler elde edilmiştir. Küreler 10 dak tuz çözeltisinde bekletildikten sonra tuz çözeltisi 250 mL saf suyla seyreltilmiş ve BSA konsantrasyonu ölçülmüştür. Elde edilen küreler 2 gün saf suda bekletildikten sonra BSA salınım deneyleri için ıslak halde kullanılmıştır. Oda sıcaklığında kurutulan küreler buzdolabında 4 °C'de muhafaza edilmiştir. BSA yüklü aljinat- $\kappa$ -kerajin hidrojeller Çizelge 3.4'de gösterilen şekilde kodlanmıştır. Enkapsülasyon verimi (EE) Denklem (3.5) kullanılarak hesaplanmıştır:

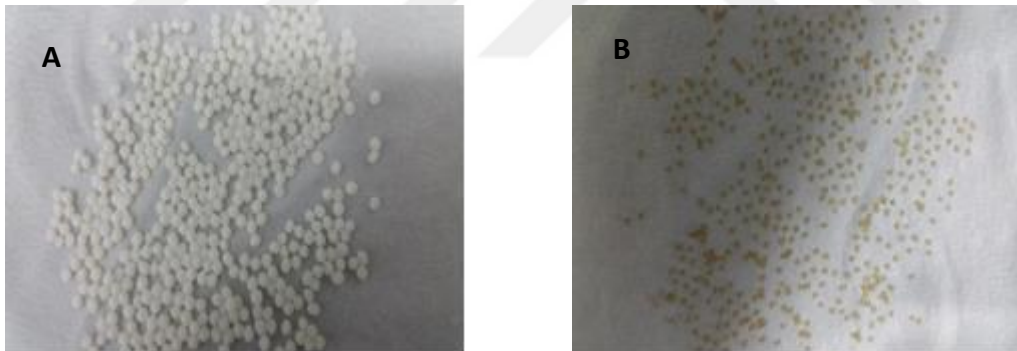
$$EE (\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \quad (3.5)$$

Burada,  $M_i$ : başlangıçtaki sodyum aljinat-  $\kappa$ -kerajin karışımına eklenen BSA miktarını (mg);  $M_f$ : tuz çözeltisinde tayin edilen BSA miktarını (mg) belirtmektedir.

Şekil 3.3'te BSA yüklü hidrojel kürelerin üretimi, Şekil 3.4'te elde edilen BSA yüklü hidrojel kürelerin (pH 4,2 ayarlanan) ıslak ve kuru halleri gösterilmiştir.



Şekil 3. 3 BSA yüklü hidrojel kürelerin sentez aşamaları



Şekil 3. 4 A: pH 4,2'de elde edilen BSA yüklü ıslak küreler B: pH 4,2'de elde edilen BSA yüklü kurutulmuş küreler

Çizelge 3. 4 BSA yüklü hidrojelilerin formülasyonu

Numune <sup>a</sup>	pH	Tuz Çözeltisi	
		CaCl <sub>2</sub> (%)	KCl (%)
B3.08-2/0	3,08	2	0
B3.77-2/0	3,77	2	0
B3.96-2/0	3,96	2	0
B4.2-2/0	4,2	2	0
B4.2-2/2	4,2	2	2
B4.2-4/4	4,2	4	4
B4.8-2/0	4,8	2	0
B4.8-2/2	4,8	2	2
B4.8-4/4	4,8	4	4
B7.5-2/0	7,5	2	0
B7.5-2/2	7,5	2	2
B7.5-4/4	7,5	4	4

<sup>a</sup> B3.77-2/0 kodundaki B küreyi; 3.77 pH'ı; 2 tuz çözeltisindeki CaCl<sub>2</sub> yüzdesini; 0 tuz çözeltisindeki KCl yüzdesini göstermektedir.

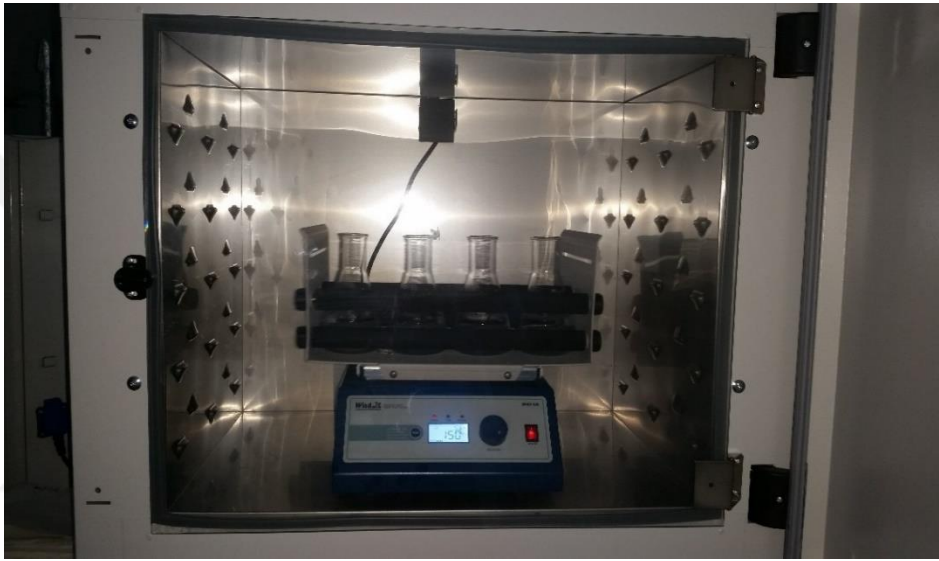
### 3.7 BSA Salınım Deneyleri

BSA yüklü hidrojellerden BSA salınım deneyleri sentetik mide sıvısı (simulated gastric fluid, SGF) ve sentetik bağırsak sıvısı (simulated intestinal fluid, SIF) içinde gerçekleştirilmiştir. Süzgeç kağıdı yardımıyla yüzey suyu alınan BSA yüklü kürelerden ıslak halde erlen içerisinde 5 gram tartılıp, 100 mL sentetik mide sıvısına eklenmiştir. Erlenler 37°C'de etüv içinde bulunan orbital çalkalayıcıya yerleştirilmiştir (Şekil 3.5). Salınım işlemi mide sıvısında 2 saat süreyle gerçekleştirildikten sonra küreler mide sıvısından alınıp 100 mL bağırsak sıvısına aktarılmıştır. BSA salınım işlemi 37 °C'de ve 150 rpm'de gerçekleştirilmiştir. Belirlenen zaman aralıklarında sentetik mide ve bağırsak sıvısından 1 mL numune enjektör yardımıyla çekilip, 0,45 µm membran filtreden geçirilmiştir. Alınan her 1 mL numune çalışma pH'ındaki sentetik mide veya sentetik

bağırsak sıvısından 2 mL ilave edilerek seyreltilmiş ve daha sonra BSA konsantrasyonu ölçülmüştür. BSA konsantrasyonu UV spektrofotometre’de 280 nm dalga boyunda mikroküvet kullanılarak ölçülmüştür. Kümülatif BSA salınımı (KS) Denklem (3.6) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$KS (\%) = \frac{M_t}{M_\infty} \times 100 \quad (3.6)$$

Burada;  $M_t$ : t zaman sonra salınan BSA (mg) miktarını;  $M_\infty$ : başlangıçta kürelere yüklenen BSA (mg) miktarını göstermektedir.



Şekil 3. 5 Etüv (37 °C) içine yerleştirilen orbital çalkalayıcıda 150 rpm’de karıştırılan BSA yüklü kürelerin SIF ortamında BSA salınımı

**Sentetik mide sıvısının (SGF) hazırlanması (pH 1,2):** 2 g sodyum klorür (NaCl) 500 mL saf suda çözüldükten sonra üzerine 7 mL hidroklorik asit (HCl; saflık % 37,4) eklenip 1L ye saf suyla tamamlanmıştır [5].

**Sentetik bağırsak sıvısının (SIF) hazırlanması (pH 7,4):** 6,8 gram potasyum dihidrojen fosfat ( $KH_2PO_4$ ) 500 mL saf suda çözüldükten sonra üzerine 0,2 M sodyum hidroksitten 190 mL eklenip 1 L’ye saf suyla tamamlanmıştır [5].

### 3.7.1 BSA Analizi

BSA konsantrasyonu UV spektrofotometre’de 280 nm dalga boyunda 1 cm’lik kuvarz küvetler kullanılarak ölçülmüştür. Belirlenen her bir pH değeri için ayrı ayrı kalibrasyon

eğrileri oluşturulmuştur. Hazırlanan 2 mg/mL stok BSA çözeltileri ilgili tampon çözelti kullanılarak 0-1,2 mg/mL konsantrasyon aralığına seyreltilmiştir. Kalibrasyon eğrileri 0-0,2-0,5-0,8-1-1,2 mg/mL kalibrasyon çözeltileri kullanılarak oluşturulmuştur. Elde edilen kalibrasyon eğrilerinin R<sup>2</sup> değerleri pH 2,8;4,8 ve 6,8 için sırasıyla 0,9995; 0,9999 ve 1 şeklindedir. Tuz çözeltisindeki BSA konsantrasyonunu ölçmek için 1 mg/mL BSA stok çözeltisi saf suda hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisi 0-0,2-0,4-0,6-0,8-1 mg/mL saf suda hazırlanan BSA çözeltileri kullanılarak oluşturulmuştur. Elde edilen kalibrasyon eğrisinin R<sup>2</sup> değeri 0,9958 şeklindedir. BSA salınım deneylerinde BSA analizi için, sentetik mide ve sentetik bağırsak sıvısında 0,4 mg/mL BSA stok çözeltisi hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrileri 0-0,02-0,05-0,1-0,15-0,2-0,3-0,4 mg/mL BSA çözeltileri sentetik mide sıvısında (pH: 1,2) ve sentetik bağırsak sıvısında (pH: 7,4) ayrı ayrı hazırlanarak oluşturulmuş, analizler için kuvarz mikroküvet kullanılmıştır. Elde edilen kalibrasyon eğrilerinin R<sup>2</sup> değerleri mide sıvısı ve bağırsak sıvısı için sırasıyla 0,9993 ve 0,9998 şeklindedir.

### 3.8 BSA Salınım Kinetiği

BSA salınım mekanizmasını anlamak için BSA yüklü hidrojellerin sentetik bağırsak sıvısındaki salınım sonuçları Ritger-Peppas model denklemine (3.7) uydurulmuştur. Ritger-Peppas tarafından 1984 yılında geliştirilen bu modele göre ilaçların polimerik salınım sistemlerinden kontrollü salınım mekanizması belirlenir [55].

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K \times t^n \quad (3.7)$$

Burada,  $M_t/M_\infty$  t zamanda salınan ilacın başlangıçtaki miktarına oranı, k yapısal/geometrik sabit ( $t^{-n}$ ), n salınım mekanizmasının difüzyon katsayısını ifade eder.

### 3.9 Herbisit Enkapsülasyon Deneyleri

2,4-D ve isoproturon herbisitlerinin sodyum aljinat-κ-kerajin kürelerinden kontrollü salınımı için formülasyonlar hazırlanmıştır. Formülasyonların hazırlanması iki farklı şekilde gerçekleştirilmiştir. İlk yöntem olarak herbisitler sodyum aljinat-κ-kerajin kürelerine enkapsüle edilmiştir. İkinci yöntemde ise sodyum aljinat- κ-kerajin kürelerine çeşitli adsorbanlar (ferihidrit, aktif karbon, kalsiyum bentonit ve perlit) eklendikten

sonra enkapsülasyon gerçekleştirilmiştir. 2,4-D ve isoproturon için enkapsülasyon verimi (EE) Denklem (3.8) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$EE (\%) = \frac{M_{i,h} - M_{f,h}}{M_{i,h}} \quad (3.8)$$

Denklem 3.8'de  $M_{i,h}$ : başlangıçtaki sodyum aljinat-  $\kappa$ -kerajin karışımına eklenen herbisit miktarını (mg);  $M_{f,h}$ : tuz çözeltisinde tayin edilen herbisit miktarını (mg) belirtmektedir.

### 3.9.1 Herbisit Yüklü Hidrojellerin Hazırlanması

2,4-D ve isoproturon saf suda çözünerek sırasıyla  $2,5 \times 10^{-4}$  mol/L ve  $10^{-4}$  mol/L stok herbisit çözeltileri hazırlanmıştır. 1,4 gram sodyum aljinat 70 mL herbisit stok çözeltisi içinde çözülmüş, oda sıcaklığında  $21^\circ C$ 'de manyetik karıştırıcıda 1 gün karıştırılarak (400 rpm) homojen viskoz sodyum aljinat çözeltisi elde edilmiştir. 0,6 gram  $\kappa$ -kerajin 30 mL herbisit stok çözeltisi içinde çözülmüş, 1 saat  $80^\circ C$ 'de ve sonra oda sıcaklığında  $21^\circ C$ 'de manyetik karıştırıcıda 1 gün karıştırılarak (400 rpm) homojen viskoz  $\kappa$ -kerajin çözeltisi elde edilmiştir. 1 gün sonra, herbisit içeren  $\kappa$ -kerajin çözeltisi herbisit içeren sodyum aljinat çözeltisine eklenmiş ve karışım oda sıcaklığında  $21^\circ C$ 'de 2 saat karıştırılmıştır. Karışım, 250 mL %2 KCl ve %2  $CaCl_2$  içeren tuz çözeltisine peristaltik pompa (0,5 mL/dak) kullanılarak damlatılmıştır. Elde edilen herbisit yüklü hidrojel küreler, jelleşmenin tamamlanması için 10 dak tuz çözeltisinde bekletilmiştir. Tuz çözeltisinden alınan hidrojel filtre kâğıdıyla filtre edildikten sonra  $40^\circ C$ 'de etüvde kurutulmuştur ve kurutulan küreler buzdolabında  $4^\circ C$ 'de muhafaza edilmiştir.

### 3.9.2 Herbisit Yüklü Adsorban-Hidrojel Kompozitlerin Hazırlanması

Gerek herbisit enkapsülasyon verimini artırmak gerekse salınım hızını düşürmek amacıyla hidrojel kürelerin hazırlanması sırasında yapıya farklı adsorban malzemeler eklenmiştir. Bu amaçla üretim aşamasında sodyum aljinat ve  $\kappa$ -kerajin çözeltileri hazırlanırken yapıya toz halde 0,5 gram ferihidrit, kalsiyum bentonit, perlit veya ticari aktif karbon eklenerek adsorbanların enkapsülasyon verimine ve kümülatif salınım etkisi ayrı ayrı deneylerle incelenmiştir.

Elde edilen herbisit yüklü hidrojenlerin kodları ve üretim yöntemleri Çizelge 3.5'te özetlenmiştir. Elde edilen kürelerin ıslak ve kuru halleri Şekil 3.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 3. 5 Herbisit yüklü hidrojenlerin formülasyonu

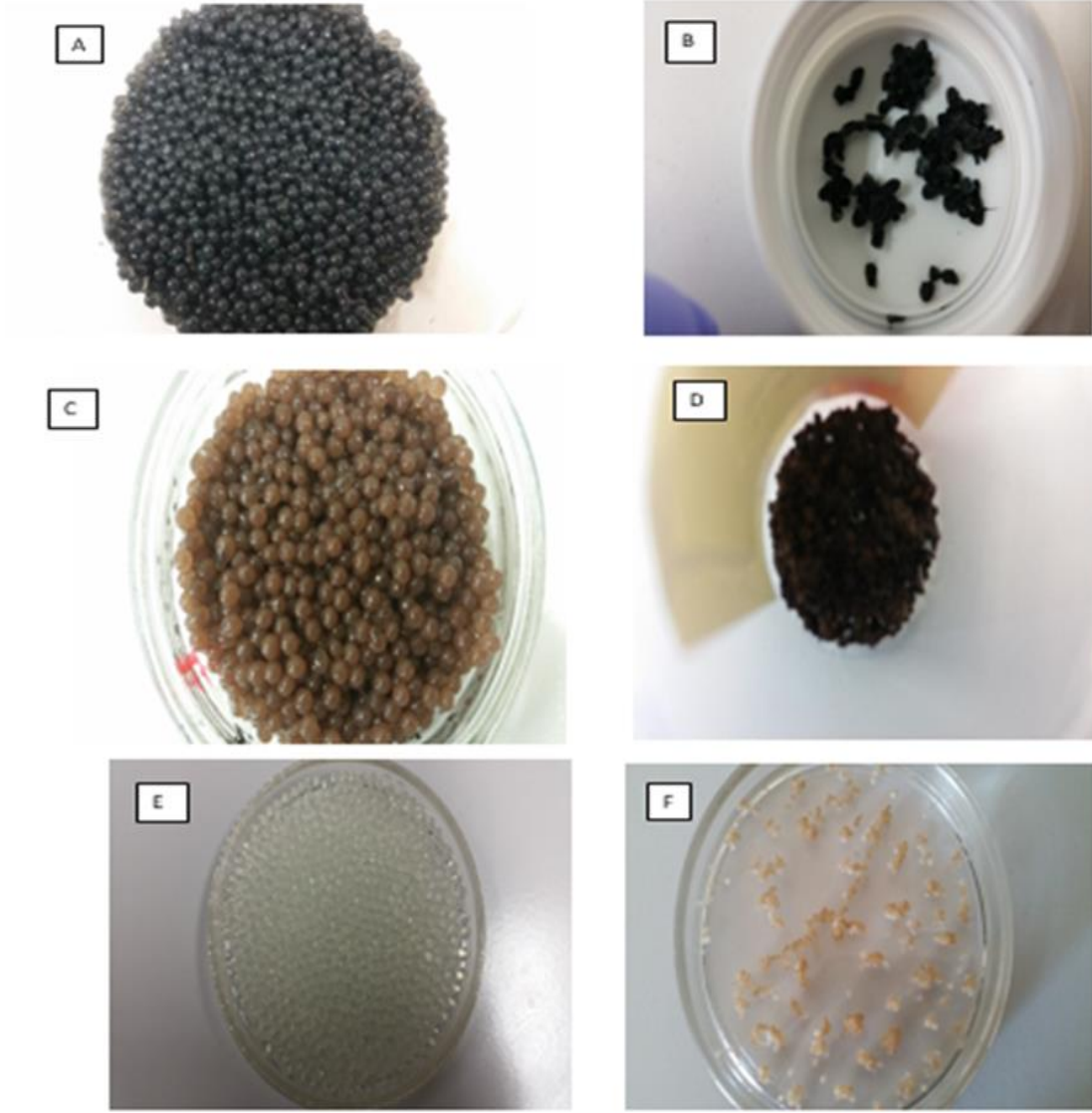
Numune <sup>a</sup>	Herbisit			Adsorban		
	2,4D	Isoproturon	Ferihidrit	Aktif karbon	Ca-bentonit	Perlit
D	+	-	-	-	-	-
DF	+	-	+	-	-	-
DAC	+	-	-	+	-	-
IPU	-	+	-	-	-	-
IPUF	-	+	+	-	-	-
IPUAC	-	+	-	+	-	-
IPUB	-	+	-	-	+	-
IPUP	-	+	-	-	-	+

<sup>a</sup> D: 2,4D; DF: 2,4D-ferihidrit; DAC: 2,4D-aktif karbon; IPU: isoproturon; IPUF: isoproturon-ferihidrit; IPUAC: isoproturon-aktif karbon; IPUB: isoproturon- bentonit; IPUP: isoproturon- perlit içeren sodyum aljinat κ-kerajin küreleri şeklinde kodlanmıştır.

Adsorbanların herbisit adsorpsiyon kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla 2,4-D ve isoproturonun kalsiyum bentonit, perlit, ferihidrit ve ticari aktif karbon üzerine adsorpsiyonu kinetik açıdan incelenmiştir. Kinetik çalışma için saf suda hazırlanan  $2,5 \times 10^{-4}$  mol/L 2,4-D ve  $10^{-4}$  mol/L isoproturon çözeltileri kullanılmıştır. Her bir adsorban 0,05 gram adsorban içeren on bir ayrı seri polipropilen reaktör hazırlanmıştır. Kinetik çalışma adsorban içeren her bir reaktöre 10 mL herbisit çözeltisinden eklenerek başlatılmıştır. Adsorpsiyon işlemi, 21 °C oda sıcaklığında ve 600 rpm'de ayar kollu bilek çalkalayıcıda gerçekleştirilmiştir. Belirlenen zamanlarda (1, 2, 3, 5, 8, 12 ve 24 saat) reaktörlerden numune alınıp süspansiyon selüloz asetat filtreden geçirildikten sonra herbisit konsantrasyonu ölçülmüştür. Adsorpsiyon kapasitesi denklem (3.9) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$Q_{t,h} = \frac{C_{o,h} - C_{t,h}}{M} \times V \quad (3.9)$$

Burada,  $Q_{t,h}$ : herbisit adsorpsiyon kapasitesini (mg/g);  $C_{o,h}$ : başlangıçtaki herbisit konsantrasyonunu (mg/mL);  $C_{t,h}$ : t zaman sonra herbisit konsantrasyonunu (mg/mL); M: adsorban miktarını (g); V: çözelti hacmini (mL) ifade eder.



Şekil 3. 6 A: ıslak halde IPUAC; B: kuru halde IPUAC; C: ıslak halde IPUF; D: kuru halde IPUF; E: ıslak halde IPUB; F: kuru halde IPUB

### 3.9.2.1 Adsorbanların Özellikleri

Çalışmada herbisitlerin enkapsülasyon verimini arttırmak ve salınım hızını yavaşlatmak için adsorban olarak ticari kalsiyum bentonit, perlit ve aktif karbon ve ayrıca sentezlenen ferihidrit kullanılmıştır. Ticari kalsiyum-bentonit, aktif karbon ve perlitin genel özellikleri Çizelge 3.6'da verilmiştir.



Çizelge 3. 6 Ca-Bentonit, perlit ve aktif karbonun genel özellikleri

	Ca-Bentonit [56]	Perlit [57]	Aktif karbon [58]
Kimyasal bileşen	$Ca_{0.33}(Al,Mg)_2(Si_4O_{10})(OH)_2.nH_2O$	-	-
%SiO <sub>2</sub>	73,5	71,0-75,0	-
%Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	13,5	12,5-18	-
Yüzey alanı (m <sup>2</sup> /g)	749	1,22	868
Özgül ağırlığı (g/cm <sup>3</sup> )	2,51	2,30	0,45
pH	8,5-10,5	6,6-8,0	10,5

### 3.9.2.2 Ferihidrit Sentezi

2L polipropilen reaktöre 1L 0,2M Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> çözeltisi eklenmiştir. Sabit hızda karıştırılan çözeltiye pH 7-8 olana kadar yavaş yavaş 1M KOH eklenmiştir. pH istenilen değere ulaştıktan sonra süspansiyon oda sıcaklığında 24 (yaşlanma süresi) saat bekletilmiştir. Süspansiyon 10 dakika 5000 rpm'de santrifüj edilip katı üzerindeki sıvı alınıp yerine saf su eklendikten sonra tekrar santrifüj edilmiştir. Bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. 3 gün sonra liyofilizere konulan ferihidrit alınıp ince toz halinde 20 gram ürün elde edilmiştir.

### 3.10 Herbisit Salınım Deneyleleri

Herbisit yüklü kürelerden herbisit salınım deneyleleri saf suda gerçekleştirilmiştir. Çalkalayıcıya yerleştirilen 100 mL saf su içeren erlene 0,2 gram kuru herbisit yüklü kürelerden eklenerek salınım işlemi 150 rpm ve oda sıcaklığında (21 °C) gerçekleştirilmiştir. Belirlenen zaman aralıklarında mikro pipet ile salınım ortamından 30µL numuneler alınmış ve daha sonra herbisit konsantrasyonu ölçülmüştür. Kümülatif herbisit salınımı denklem (3.10) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$KHS (\%) = \frac{M_{t,h}}{M_{\infty,h}} \times 100 \quad (3.10)$$

Burada; M<sub>t,h</sub>: t zaman sonra salınan herbisit (mg) miktarını; M<sub>∞,h</sub>: başlangıçta kürelere yüklenen herbisit (mg) miktarını göstermektedir.

### 3.10.1 Herbisit Analizi

2,4-D ve isoproturon konsantrasyonu HPLC kullanılarak ölçülmüştür. Her bir herbisit için saf suda ve tuz çözeltisinde (%2 CaCl<sub>2</sub> ve %2 KCl içeren) kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Stok 2,4D çözeltisi, 0-2,5×10<sup>-4</sup> mol/L aralığında seyreltilerek kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Elde edilen kalibrasyon eğrilerinin R<sup>2</sup> değerleri saf su ve tuz çözeltisi için sırasıyla 0,9995; 0,9996 şeklindedir. Stok isoproturon çözeltisi, 0-10<sup>-4</sup> mol/L aralığında seyreltilerek kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Elde edilen kalibrasyon eğrilerinin R<sup>2</sup> değerleri saf su ve tuz çözeltisi için sırasıyla 0,9999; 0,9999 şeklindedir. Her bir herbisit için HPLC çalışma koşulları çizelge 3.7’de verilmiştir.

Çizelge 3. 7 HPLC çalışma koşulları

Herbisit	Kolon tipi	Dalga boyu (nm)	Numune hacmi (µL)	Akış hızı (mL/dak)	Zaman (dak)	Mobil faz (v/v)		
						% 0,1 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Asetonitril	Su
2,4D	LC18	230	20	0,8	0	50	50	-
	25 cm				8	20	80	-
Isoproturon	LC18	242	20	1	0	-	50	50
	25 cm				6	-	50	50

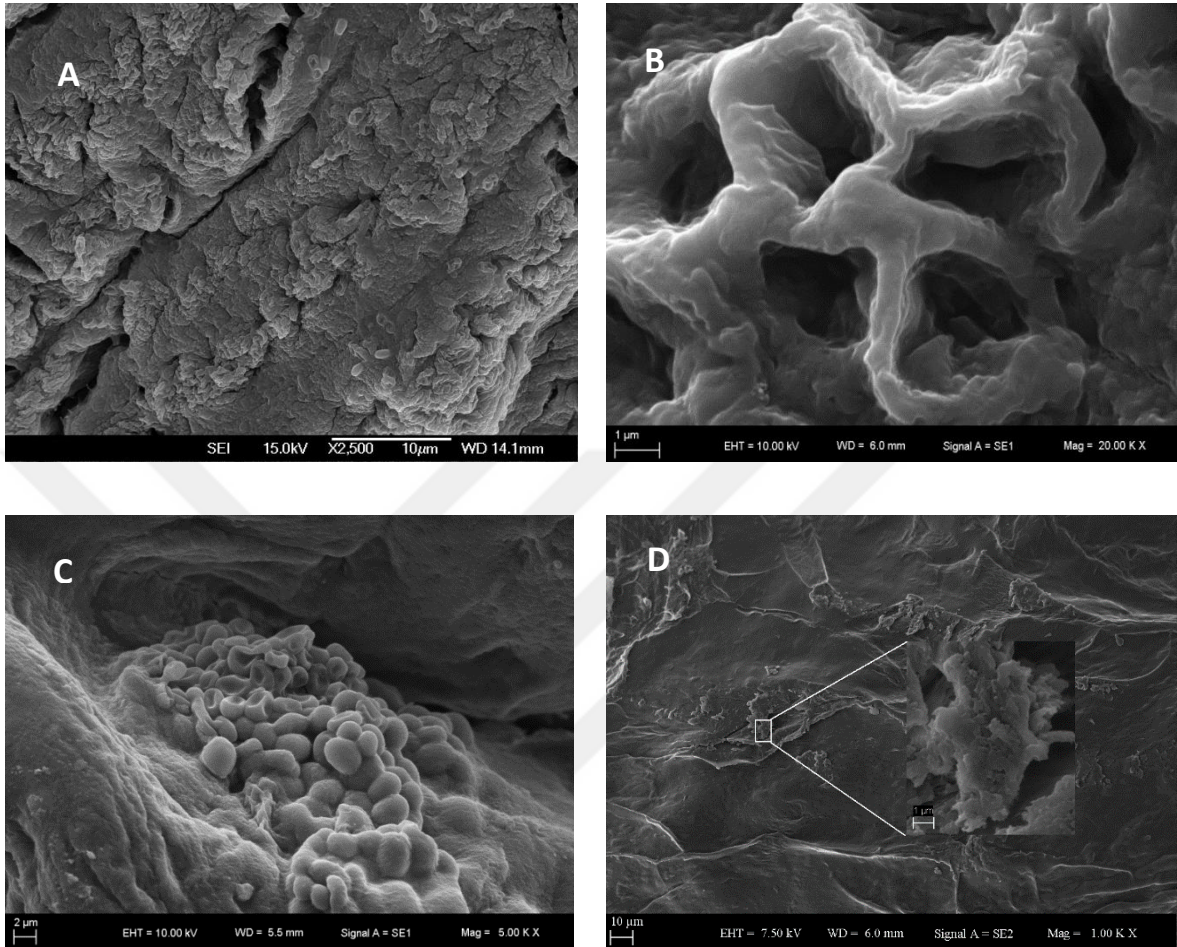
### DENEYSEL ÇALIŞMALARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

#### 4.1 Hidrojellerin Karakterizasyonu

##### 4.1.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleri

Sentezlenen hidrojelin, tampon çözeltisinde bir gün bekletildikten sonra ve BSA adsorpsiyonu sonrası hidrojelin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 4.1 (A;B;C)'de, BSA enkapsüle edilen hidrojelin SEM görüntüsü Şekil 4.1-D'de verilmiştir. Şekil 4.1-A'daki SEM görüntüsüne bakıldığında sentezlenen hidrojelin gözeneksiz ve sıkı bir yüzeye sahip olduğu görülmektedir. Yapılan BSA adsorpsiyon denemeleri sonucu bu hidrojele BSA adsorpsiyonu gerçekleştirilememiştir. Fakat hidrojeli asetat tampon çözeltisinde (pH 4,8) bir gün beklettikten sonra elde edilen SEM görüntülerinde (Şekil 4.1-B) hidrojel yüzeyinde gözeneklerin oluştuğu görülmektedir. Şekil 4.1-A'da görülen hidrojel, aljinat- $\kappa$ -kerajin karışımının sadece kalsiyum klorür çözeltisine damlatılmasıyla elde edilmiştir. Ancak Mohamadnia ve arkadaşları, aljinat ve  $\kappa$ -kerajin hidrojel kürelerin oluşması için aljinatın kalsiyum klorüre;  $\kappa$ -kerajinin ise potasyum klorüre damlatılması gerektiği sonucunu bulmuşlardır [59]. Dolayısıyla, çapraz bağlanan aljinat hidrojelin içinde  $\kappa$ -kerajinin çapraz bağlanmayarak tutulduğunu ve hidrojelin tampon çözeltide (pH 4,8) bekletilmesiyle bir miktar  $\kappa$ -kerajinin hidrojelin dışına difüze olarak hidrojel yüzeyinde gözeneklerin oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir (Şekil 4.1-B). Ayrıca Şekil 4.1-C'de BSA adsorpsiyonundan sonra hidrojel yüzeyindeki gözeneklerde biriken

BSA molekülleri görülmektedir. Hidrojela enkapsüle edilen BSA'nın hidrojel yapısına bağlandığı ve yapıda hapsoldüğü Şekil 4.1-D'de görülmektedir.

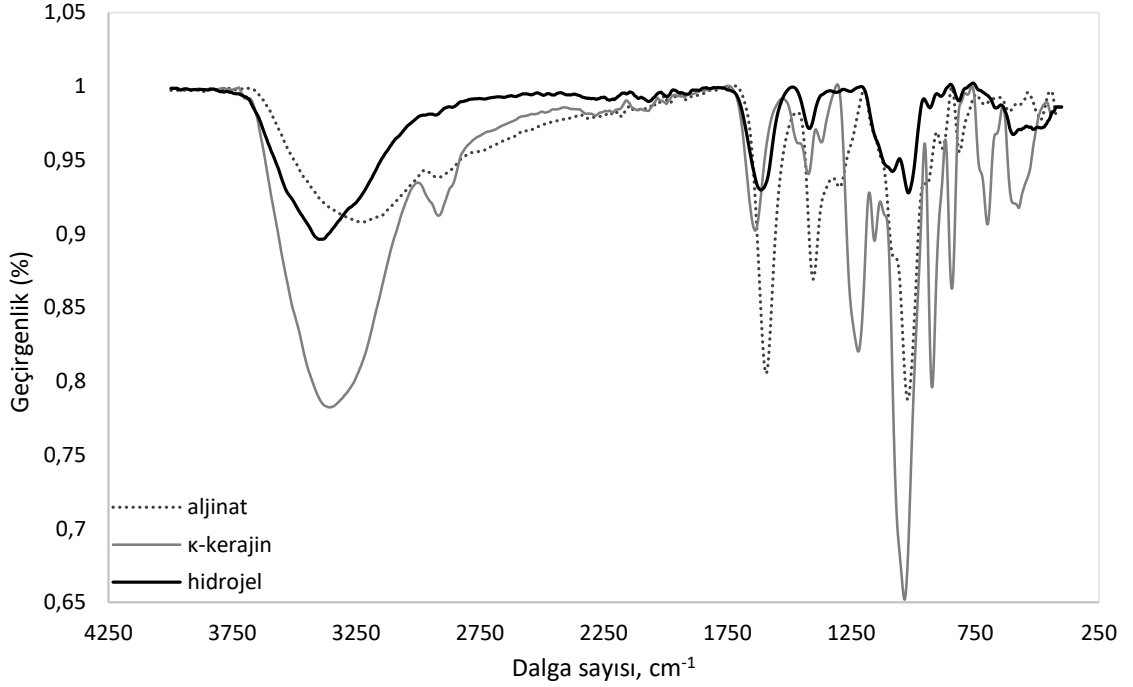


Şekil 4. 1 Hidrojelin SEM görüntüleri (A: hidrojel B: tampon çözeltide (pH 4,8) bekletilen hidrojel C: BSA adsorbe edildikten sonra hidrojel D: BSA enkapsüle edildilen hidrojel)

#### 4.1.2 Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrumları (FT-IR)

Saf haldeki aljinatın,  $\kappa$ -kerajininin ve sentezlenen hidrojinin Şekil 4.2'deki FTIR spektrumları incelendiğinde saf aljinatın,  $\kappa$ -kerajininin ve sentezlenen hidrojinin karakteristik pikleri görülmektedir.  $\kappa$ -kerajine ait 1035, 1221, 923 ve 843  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki karakteristik pikler sırasıyla 3,6-anhidro-D-galaktozun C-O bağından, sülfat esterlerin S=O gerilmesinden, 3,6-anhidro-D-galaktozun C-O bağından ve D-galaktoz-4-sülfattaki C-O-SO<sub>3</sub> varlığından kaynaklanmaktadır [60]. Aljinata ait 1594, 1404 ve 1022  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki karakteristik pikler sırasıyla karboksil grubunun (COO<sup>-</sup>) asimetrik gerilme titreşiminden, karboksil grubunun (COO<sup>-</sup>) simetrik gerilme titreşiminden, C-O-C

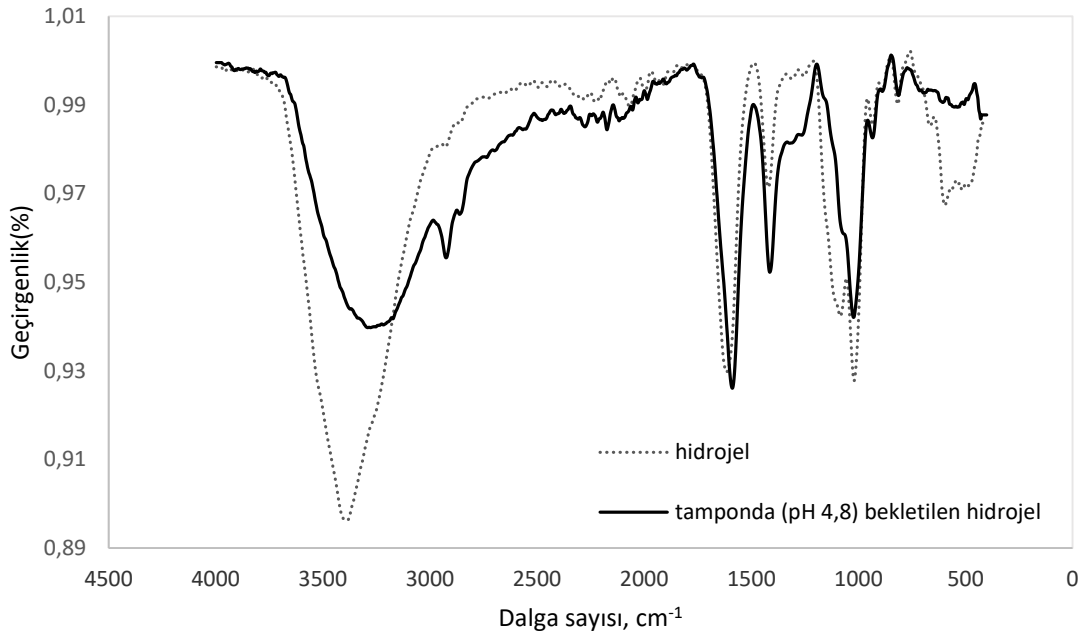
gerilmesinden kaynaklanmaktadır [61]. Sentezlenen hidrojinin yapısındaki  $\kappa$ -kerajine ait karakteristik pikler 923'den 930'a, 843'den 815'e, 1035'ten 1017'ye ve 1221'den 1244 dalga boyuna kaydığı görölmektedir (Şekil 4.2). Hidrojel yapısındaki aljinatın karakteristik pikleri 1594'ten 1609'a, 1404'ten 1421'e ve 1022'den 1017 dalga boyuna kaydığı görölmektedir (Şekil 4.2).



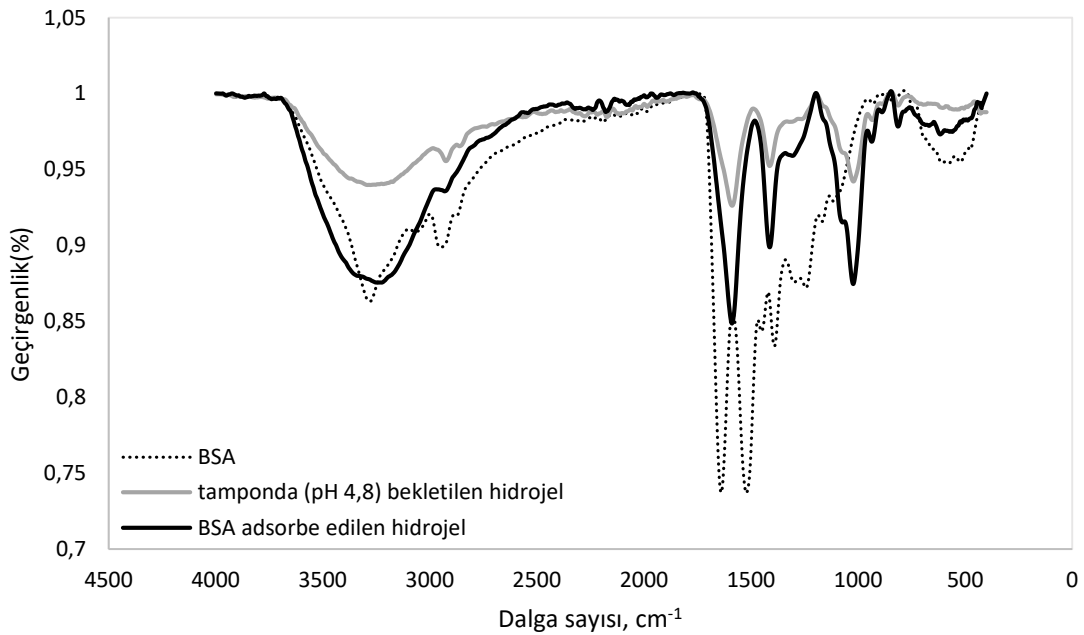
Şekil 4. 2 Saf haldeki aljinatın,  $\kappa$ -kerajinin ve sentezlenen hidrojinin FT-IR spektrumları

Sentezlenen hidrojinin ve tampon çözeltide (pH 4,8) bekletilen hidrojinin FTIR spektrumları Şekil 4.3'te verilmiştir. Şekil 4.3 incelendiğinde hidrojinin tampon çözeltide bekletilmesiyle 2928  $\text{cm}^{-1}$  ve 1413  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki piklerin şiddetinin arttığı; 1089, 595 ve 483 dalga boyundaki piklerin ise şiddetinin azaldığı görölmektedir. Hidrojel yapısındaki  $\kappa$ -kerajine ait 575  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikin 597  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyuna kaydığı görölmektedir. Hidrojel tampon çözeltide bekletildikten sonra 597  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikin kaybolduğu görölmektedir (Şekil 4.3).

Her üç kimyasalda da 3235, 3281 ve 3355  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyunda görülen ortak pikler hidroksil gruplarının  $-\text{OH}$  karakteristik absorpsiyonundan kaynaklanmaktadır [61].



Şekil 4. 3 Hidrojelin ve hidrojelin tampon çözeltide (pH 4,8) bekletildikten sonra FT-IR spektrumları



Şekil 4. 4 BSA, tampon çözeltide bekletildikten sonra hidrojelin ve BSA adsorpsiyonundan sonra hidrojelin FT-IR spektrumları

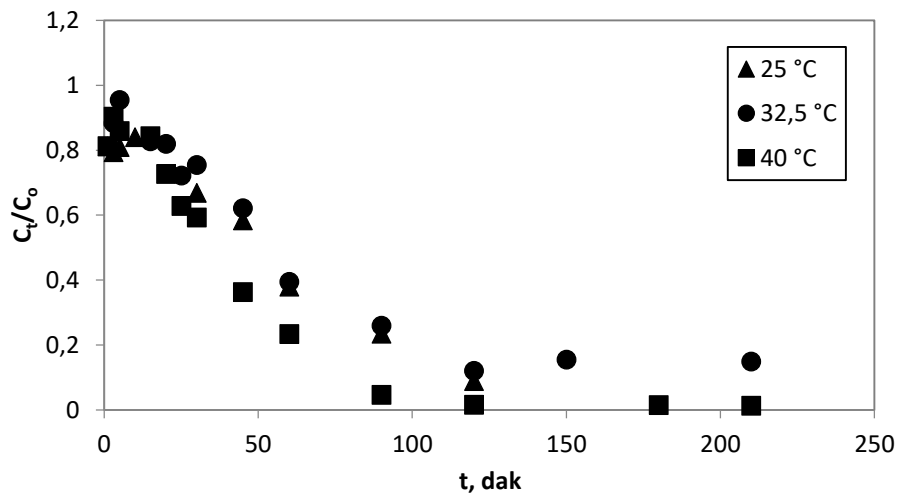
Hidrojele BSA adsorbe edilmeden önce ve BSA adsorbe edildikten sonraki FTIR spektrumları Şekil 4.4'te verilmiştir. Şekil 4.4 incelendiğinde BSA molekülüne ait amit I

(-NH<sub>2</sub>) grubundaki C=O gerilme titreşimlerinden, amit II (-NH-) grubunun N-H arasındaki bükülmeden kaynaklanan karakteristik pikler sırasıyla 1639 ve 1521 cm<sup>-1</sup> dalga sayılarında görülmektedir [62]. BSA molekülüne ait bu karakteristik pikler BSA adsorplanmış hidrojelde görülmemiştir. Bu duruma adsorplanan BSA moleküllerinin hidrojel kürelere hapsolmasıyla açıklanabilir. Bölüm 4.2’de görüleceği üzere BSA moleküllerinin hidrojel kürelere adsorpsiyonu parçacık içi difüzyon modeline göre gerçekleşmiştir. 3281, 2952 ve 834 cm<sup>-1</sup> dalga boyundaki pikler sırasıyla amit gerilmesinde, NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grubunun simetrik ve asimetrik gerilmesinden ve düzlem dışı N-H sallanmasından kaynaklanmaktadır [63]. BSA molekülünün bu karakteristik pikleri hidrojele adsorbe olduktan sonra da yapıda görülmektedir.

## 4.2 BSA Adsorpsiyon Deneylelerinin Değerlendirilmesi

### 4.2.1 BSA Adsorpsiyon Kinetiği

BSA adsorpsiyon kinetiği, 0,5 mg/mL BSA başlangıç konsantrasyonunda pH 4,8’de, 25; 32,5 ve 40 °C’de gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.5’de BSA konsantrasyonunun adsorpsiyon süresince zamanla değişimi verilmiştir. Şekil 4.5 incelendiğinde, her üç sıcaklıkta da ilk 15 dakikada BSA başlangıç konsantrasyonunun çok fazla değişmediği gözlenirken; 15 dakikadan sonra BSA başlangıç konsantrasyonu azalarak 120 dakikada dengeye ulaşmıştır.

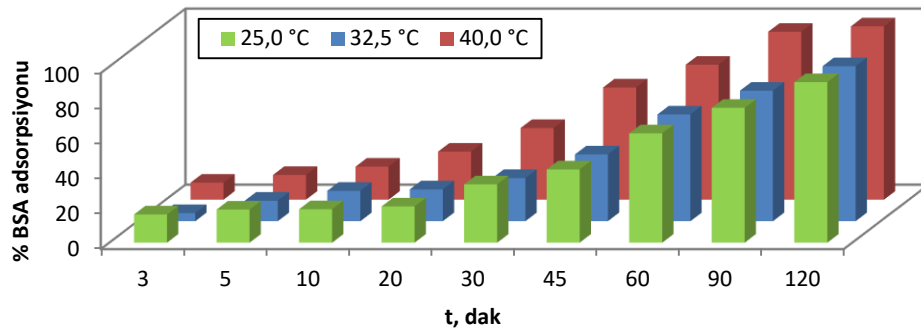


Şekil 4. 5 BSA'nın belirli zamandaki konsantrasyonunun başlangıç konsantrasyonuna oranının zamanla değişimi

BSA adsorpsiyonunun dengeye ulaştığı sürede (120 dakika) adsorpsiyon kapasiteleri (4.1) 25; 32,5 ve 40 °C için sırasıyla %91, %88 ve %98 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.6). Hidrojel üzerine BSA adsorpsiyonu 40 °C’de en yüksek; 32,5 °C’de ise en düşüktür.

$$\% \text{ BSA adsorpsiyonu} = \frac{C_t - C_0}{C_0} \times 100 \quad (4.1)$$

Denklem 4.1’de t zaman sonra BSA konsantrasyonunu (mg/mL)  $C_t$ ; başlangıç BSA konsantrasyonunu  $C_0$  ifade etmektedir.



Şekil 4. 6 Zamana karşı % BSA adsorpsiyonu

#### 4.2.2 BSA Adsorpsiyon Kinetik Modelleri

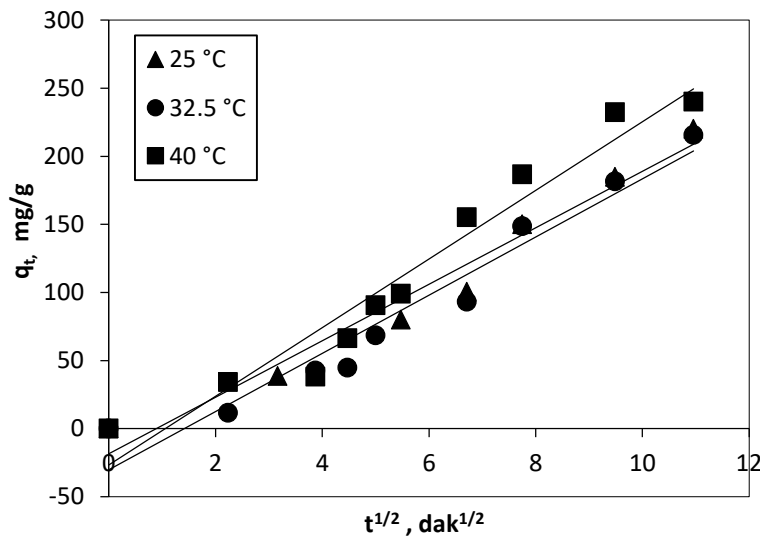
BSA adsorpsiyon mekanizmasının anlaşılması için deneysel veriler, Lagergren’in yalancı birinci derece kinetik modeline, yalancı ikinci derece kinetik modele ve parçacık içi difüzyon modeline uydurulmuştur.

Çizelge 4. 1 Kinetik parametreler

Sıcaklık (°C)	Yalancı			Parçacık içi difüzyon			
	birinci derece R <sup>2</sup>	ikinci derece R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	k <sub>i</sub> (mg/g.dak <sup>0,5</sup> )	Q <sub>e,deneysel</sub> (mg/g)	Q <sub>e,hesaplanan</sub> (mg/g)	Hata (%)
25	0,9633	0,8536	0,9813	24,16	220,20	218,38	0,83
32,5	0,9670	0,6026	0,9810	24,48	215,59	214,50	0,51
40	0,9331	0,5979	0,9575	27,90	240,12	259,20	7,95



Lagergren yalancı birinci derece kinetik modele göre zamana karşı çizilen  $\ln(q_e - \ln q_t)$  grafiklerinden elde edilen korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) (Çizelge 4.1), BSA adsorpsiyonunun bu modele uygun olmadığını göstermektedir. Bu modele göre, BSA'nın hidrojel üzerine adsorpsiyon hızını belirleyen basamağın yığın fazdaki kütle transferiyle gerçekleşmediği söylenebilir [64]. Yalancı ikinci derece kinetik modele göre zamana karşı çizilen  $t/q_t$  grafiklerinden elde edilen korelasyon katsayıları ( $R^2$ ), BSA adsorpsiyonunun bu modele kesinlikle uymadığını göstermektedir (Çizelge 4.1).



Şekil 4. 7 pH 4,8'de her bir sıcaklıkta kinetik verilerin parçacık içi difüzyon modeline uydurulması

Parçacık içi difüzyon modeline göre  $t^{0,5}$  karşı çizilen  $q_t$  grafikleri (Şekil 4.7) bir doğru vermektedir ve elde edilen korelasyon katsayılarının ( $R^2$ ) 1'e oldukça yakın olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2). Bu durumda BSA'nın hidrojel üzerine adsorpsiyon kinetiğinin parçacık içi difüzyon modeline uyduğu söylenebilir. BSA adsorpsiyonunun hız sınırlayıcı basamağının, BSA moleküllerinin hidrojel içine difüzyonu olduğu söylenebilir [65]. pH 4,8'de sıcaklığın 25 °C'den 40 °C'ye artırılmasıyla parçacık içi hız sabiti ( $k_i$ ) değerleri az miktarda da olsa artmaktadır buna göre artan sıcaklıkla birlikte adsorpsiyonun biraz da olsa hızlandığını söyleyebiliriz (Çizelge 4.1). Deneysel adsorpsiyon kapasitesi 25 °C; 32 °C ve 40 °C için yaklaşık olarak sırasıyla 220, 215, 240mg/g'dır. Sıcaklığın 25 °C'den 32,5 °C'ye artırılırken deneysel adsorpsiyon kapasitesi

azalırken sıcaklığın 40 °C'ye arttırılmasıyla birlikte denge adsorpsiyon kapasitesi artmıştır.

Her bir sıcaklık için hata değerleri Denklem 4.2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% Hata = \frac{Q_{teorik} - Q_{deneysel}}{Q_{teorik}} \times 100 \quad (4.2)$$

Hesaplanan hata değerleri oldukça düşüktür. Bu durumda, deneysel denge adsorpsiyon kapasite değerlerinin ( $Q_{e,deneysel}$ ) parçacık içi difüzyon modeline göre hesaplanan ( $Q_{e,hesaplanan}$ ) denge adsorpsiyon kapasite değerlerine oldukça yakın olduğu söylenebilir (Çizelge 4.1).

#### 4.2.3 BSA Adsorpsiyonuna pH'ın Etkisi

Hidrojel üzerine BSA adsorpsiyonu pH 2,8'de gerçekleşmemiştir. Hidrojelin yüzey yüklerinin ve şişme derecesinin bu durumu etkilediği düşünülmektedir. Bu pH değerinde aljinatin içerdiği karboksil grubu iyonlaşmadığı için pozitif yüklüken; κ-kerajinin içerdiği sülfat grubu iyonlaşmadığı için negatif yüklüdür [66]. pH 2,8'de pozitif yüklü olan BSA ile pozitif yüklü hidrojel arasındaki elektrostatik itmeden dolayı BSA hidrojel üzerine adsorbe olamamıştır.

Hidrojel üzerine BSA adsorpsiyonu pH 4,8'de gerçekleşmiştir. Bu pH değerinde yüksüz olan BSA ile hidrojel yapısındaki aljinatin içerdiği negatif yüklü  $-COO^-$  grubu arasında elektrostatik çekimden dolayı adsorpsiyon gerçekleşmiştir [66].

pH 6,8'de gerçekleştirilen adsorpsiyon çalışmasında, bazik ortamda hidrojel yapısı bozulmuş, küreler dağılmıştır. Tampon çözeltideki sodyum ve fosfat iyonları,  $Ca^{+2}$  ile çapraz bağlı olan aljinat/κ-kerajin hidrojelindeki çapraz bağların kolayca kırılmasına neden olmaktadır. Ayrıca, yüksek pH değerlerinde hidrojel yapısındaki aljinatin negatif yüklü  $-COO^-$  grubu ve κ-kerajinin negatif yüklü sülfat grubu arasındaki itmeden dolayı hidrojel yapısında genişleme olur, şişme derecesi artar [66], bu durumun da hidrojel kürelerinin dağılmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

### 4.3 BSA Enkapsülasyon DeneYlerinin Değerlendirilmesi

BSA yüklü hidrojellerin enkapsülasyon verimleri izelge 4.2’de verilmiştir. Tuz zeltisi konsantrasyonu ve pH, enkapsülasyon verimini etkilemiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde en yüksek BSA enkapsülasyon verimi pH 3,77’de ve CaCl<sub>2</sub>/KCl tuz oranı 2/0’da %96,97 elde edilirken, en düşük BSA enkapsülasyon verimi ise pH 4,8’de ve CaCl<sub>2</sub>/KCl tuz oranı 2/0’da %28,50 olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4. 2 Hidrojellerin BSA enkapsülasyon verimleri

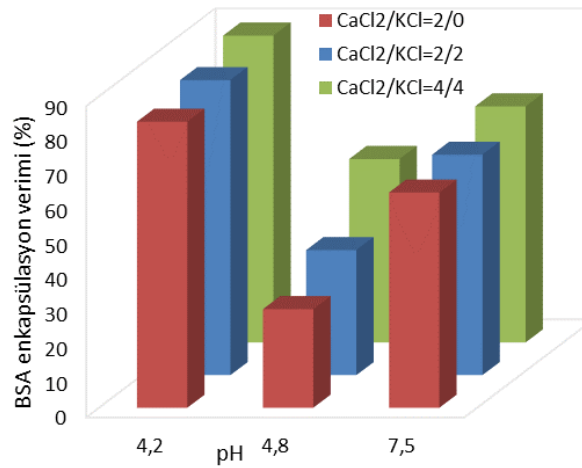
Numune	Enkapsülasyon Verimi (EE) (%)
B3.08-2/0	89,83
B3.77-2/0	96,97
B3.96-2/0	94,33
B4.2-2/0	82,68
B4.2-2/2	85,25
B4.2-4/4	88,69
B4.8-2/0	28,50
B4.8-2/2	36,10
B4.8-4/4	53,00
B7.5-2/0	62,20
B7.5-2/2	63,69
B7.5-4/4	68,22

#### 4.3.1 BSA Enkapsülasyonuna pH’ın Etkisi

BSA’nın izoelektrik noktasının (pI) altındaki (pH 4,2), üzerindeki (pH 7,5) ve izoelektrik noktasındaki (pH 4,8) pH değerlerinin BSA’nın enkapsülasyon verimine etkisi incelenmiştir.

BSA yükleme ortamının pH'ına karşı BSA enkapsülasyon verimi (%) değerleri Şekil 4.8'de verilmiştir. En düşük enkapsülasyon verimi pH 4,8'de, en yüksek enkapsülasyon verimi ise pH 4,2'de elde edilmiştir.

Şekil 4.8 incelendiğinde CaCl<sub>2</sub>/KCl (2/0) tuz oranında pH 4,2; 4,8 ve 7,5'da BSA enkapsülasyon verimi değerleri sırasıyla %82,68; %28,50 ve %62,20 olarak elde edilmiştir. CaCl<sub>2</sub>/KCl (2/2) tuz oranında pH 4,2; 4,8 ve 7,5'da BSA enkapsülasyon verimi değerleri sırasıyla %85,25; %36,10 ve %63,69 elde edilmiştir. CaCl<sub>2</sub>/KCl (4/4) tuz oranında pH 4,2; 4,8 ve 7,5'da BSA enkapsülasyon verimi değerleri sırasıyla %88,69; %53,0 ve %68,22 elde edilmiştir.



Şekil 4. 8 BSA enkapsülasyon verimine pH'ın etkisi

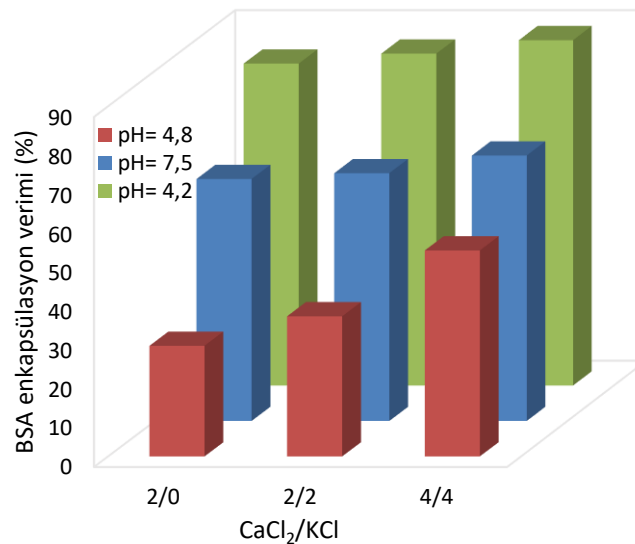
BSA'nın izoelektrik noktasının altındaki değerlerde BSA molekülü pozitif yüklüken aljinat yüksüzken; κ-kerajin negatif yüklüdür [67]. Aljinat iyonlaşabilen karboksil grupları (-COO<sup>-</sup>) içermektedir (guluronik asit için pK<sub>a</sub> 3,65 ve mannuronik asit için pK<sub>a</sub> 3,38). Asidik ortamda (pH < 3,4) aljinatın içerdiği -COO<sup>-</sup> grubu -COOH grubuna dönüşmektedir. κ-kerajin sülfat grubu (-OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) içermektedir ve çalışılan pH değerlerinde sülfat grubu değişmeden kalmaktadır [66]. pH 4,2'de negatif yüklü aljinat κ-kerajin hidrojeli ile pozitif yüklü BSA molekülüleri arasındaki elektrostatik etkileşimden dolayı enkapsülasyon verimi en yüksek değere ulaşmıştır. BSA'nın izoelektrik noktasının üzerindeki değerlerde BSA, aljinat ve κ-kerajin negatif yüklüdür. pH 7,5'da enkapsülasyon veriminin pH 4,2'den düşük olmasının nedeni negatif yükler arasındaki elektrostatik itmeden

kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda BSA'nın izoelektrik noktasının üzerindeki değerlerde polimer zincirlerin BSA yakalayabilme kapasitesi enkapsülasyon verimini etkilemektedir [6].

Daha yüksek enkapsülasyon verimlerine ulaşmak için  $\text{CaCl}_2/\text{KCl}$  (2/0) tuz oranında pH 3,08; 3,77 ve 3,96'da BSA yükleme deneyleri yapılmış ve enkapsülasyon verimi değerleri sırasıyla %89,83; %96,97 ve %94,33 elde edilmiştir. İsoelektrik noktanın altında pH değeri azaldıkça enkapsülasyon verimi artan elektrostatik çekim nedeniyle artmaktadır. Ancak karboksilik asidin  $\text{pK}_a$  değerinin altına inildiğinde ( $\text{pH} < 3,4$ ) karboksilik asidin protonlanması nedeniyle enkapsülasyon verimi tekrar düşme eğilimindedir.

#### 4.3.2 BSA Enkapsülasyonuna Tuz Konsantrasyonunun Etkisi

İyonik çapraz bağlanarak sentezlenen hidrojellerin jelleşme ortamındaki tuz oranının ( $\text{CaCl}_2/\text{KCl}$ ) BSA enkapsülasyon verimine etkisi incelenmiştir.  $\text{CaCl}_2/\text{KCl}$  tuz oranına karşı BSA enkapsülasyon verimi grafiği Şekil 4.9'da verilmiştir. Şekil 4.9'a bakıldığında her bir pH değerinde (pH 4,2; 4,8 ve 7,5) tuz oranı arttırıldıkça BSA enkapsülasyon veriminin de arttığı görülmüştür. BSA yüklü hidrojellerin enkapsülasyon verimi pH 4,2'de  $\text{CaCl}_2/\text{KCl}$  tuz oranı 2/0; 2/2; 4/4 için yaklaşık olarak sırasıyla %83; %85; %89, pH 4,8'de %28; %36; %53 ve pH 7,5'te %62; %64; %68 bulunmuştur.



Şekil 4. 9 BSA enkapsülasyon verimine  $\text{CaCl}_2/\text{KCl}$  etkisi

pH 4,2 ve pH 7,5'te hazırlanan BSA yüklü hidrojellerin enkapsülasyon verimi tuz oranının artmasıyla az bir miktarda artış göstermesine rağmen pH 4,8'de hazırlanan BSA yüklü hidrojellerin enkapsülasyon verimindeki artış oranı çok daha fazladır. Düşük tuz konsantrasyonlarında enkapsülasyon veriminin düşük olması yetersiz çapraz bağlanma ile açıklanmıştır. Jelleşme oluşumu sırasında BSA, yetersiz çapraz bağlanan hidrojellerden dışarı difüze olmaktadır. Benzer şekilde, Anil ve arkadaşları BSA yüklemesi yaptıkları aljinat-kitosan kürelerin BSA enkapsülasyon veriminin CaCl<sub>2</sub> tuz konsantrasyonunun artmasıyla arttığını bildirmişlerdir [5].

#### **4.4 BSA Salınım Deneylerinin Değerlendirilmesi**

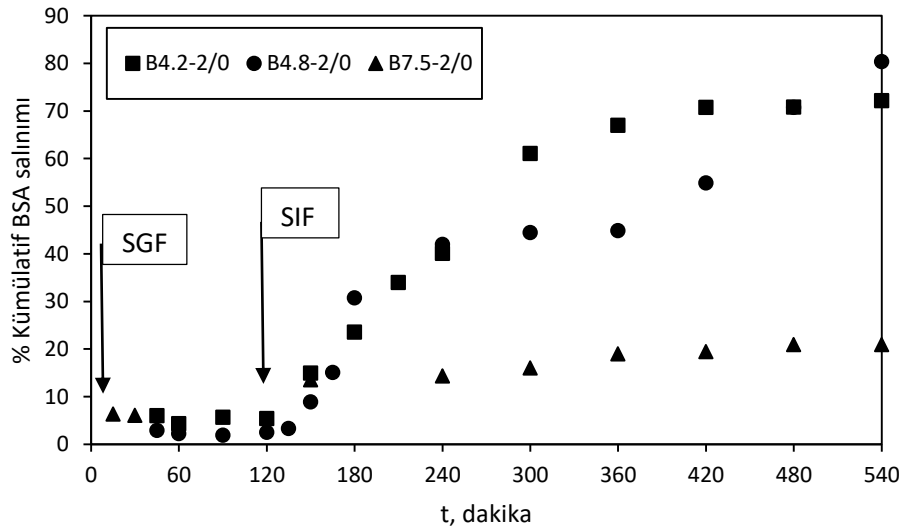
##### **4.4.1 BSA Salınımına pH'ın Etkisi**

BSA'nın izoelektrik noktasında (pH 4,8), izoelektrik noktasının altında (pH 4,2) ve üzerinde (pH 7,5) BSA yüklenen hidrojellerin mide sıvısı (SGF, pH:1,2) ve bağırsak sıvısı (SIF, pH:7,4) ortamındaki BSA salınım profilleri Şekil 4.10-4.14'te gösterilmiştir.

BSA'nın hidrojelden ortama difüzyonu, hidrojelin şişme davranışı ve BSA proteininin kimyasal yapısı tarafından kontrol edilmektedir [68]. BSA yüklü hidrojellerden ilk 2 saat SGF ortamında BSA salınım işlemi gerçekleştirildikten sonra SIF ortamına aktarılan hidrojellerden BSA salınımı 2 ila 4 saatte dengeye ulaşmıştır. Sentetik mide sıvısında, BSA salınımı çok az miktarda (<%10) olduğu için BSA salınımı ihmal edilmiştir. Sentezlenen hidrojelin yapısındaki aljinatın pH'a duyarlı olması nedeniyle düşük pH'larda (pH 1,2) hidrojelin şişme kapasitesi çok düşüktür. Bağırsak sıvısı ortamında (pH 7,4), kalsiyum iyonları potasyum ve sodyum iyonlarıyla yer değiştirmektedir. Bu değişim, hidrojelin şişme potansiyelinin artmasına neden olurken aynı zamanda hidrojelin stabilitesinin azalmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla, hidrojelin şişme potansiyeli ve hidrojel matrisin gözenekliliğinin artmasıyla SIF (fizyolojik ortamda) ortamında BSA salınım miktarı SGF ortamındakine göre daha fazladır. Sentetik bağırsak sıvısında BSA salınımına, hidrojel matris yapısının gözenekliliği, BSA'nın çözünürlüğü, hidrojel matrisin şişme derecesi ve çevre şartları (pH gibi) etkilidir [67].

Kojal ve Sarbani diklofenak yüklemesi yaptıkları sodyum aljinat ve hidrokispropil metil selüloz (HPMC) kürelerden pH 1,2'de ilaç salınımını %12 yüksek pH'larda ise %100 olarak

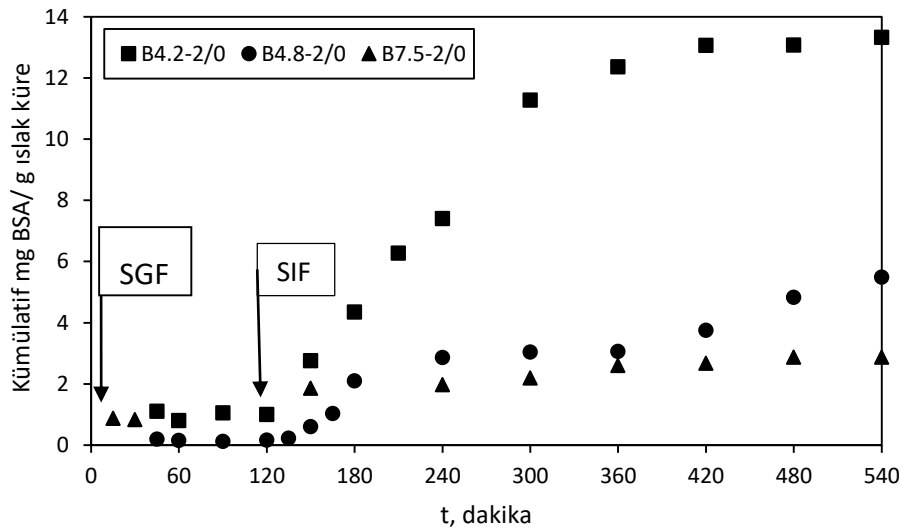
bulmuşlardır [69]. Başka bir çalışmada pH 7,4’de biyobozunur mikrokapsüllerden BSA salınımı %60; pH 5’te %44 ve pH 1’de ise %30 olarak rapor edilmiştir [70]. Diğer bir çalışmada ise fosfat iyonlarının şelatlaştırıcı etkisi nedeniyle, kalsiyum aljinat matrisin parçalanması pH 5,5 üzerindeki fosfat tampon çözeltide daha hızlı olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada, pH 7,4’de aljinatın kalsiyumla olan etkileşimi fosfat iyonlarıyla olan etkileşime göre daha az olması nedeniyle BSA’nın aljinat matristen yavaş ve sürekli erozyonla salındığı bildirilmiştir [71]. Cunen ve arkadaşları, 3 mg kitosan-kerajin parçacığından SGF (pH; 1,2) ortamında (4 saatte) 11 µg BSA salınımı gerçekleştirirken SIF (pH; 7,5) ortamında (4 saatte) 180 µg BSA salınımı gerçekleştirmişlerdir [72]. Yapılan başka bir çalışmada aljinat-N,O-karboksimetil kitosan hidrojel kürelerine yüklenen BSA proteini bazik ortamda (pH 7,5) yaklaşık olarak %82-87 (24 saatte) salınmıştır. Hidrojel matrisin yapısı bozulmadığı için BSA salınımı %100 ulaşmamıştır [73]. Sevgi ve Aybige’nin çalışmasında, aljinat-kitosan kürelere enkapsüle edilen BSA’nın tamamı fosfat tampon çözeltide (pH; 6,8) 1 saatte salınmıştır [74].



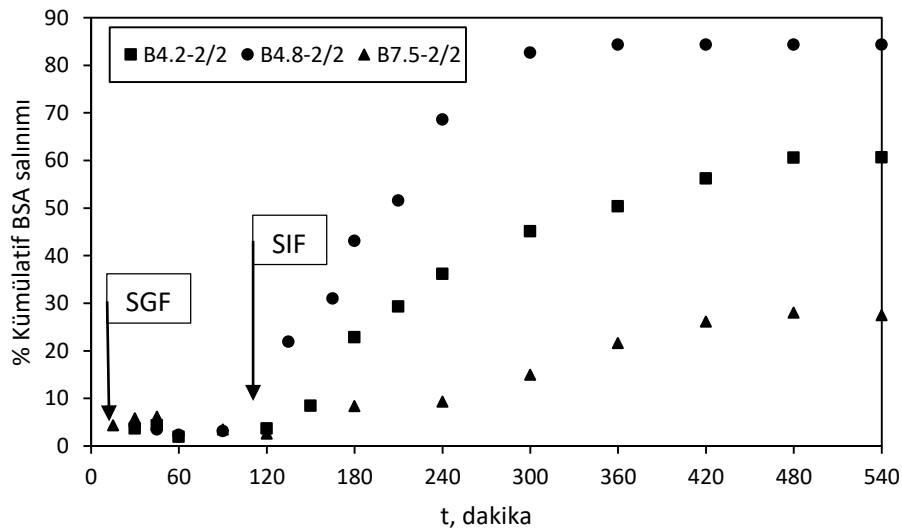
Şekil 4. 10 Farklı pH'larda ve CaCl<sub>2</sub>/KCl (2/0) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C)

Şekil 4.10 incelendiğinde BSA salınımı B4.2-2/0 hidrojelde %72, B4.8-2/0 hidrojelde %80 ve B7.5-2/0 hidrojelde %21'e ulaşmıştır. En düşük BSA enkapsülasyon verimi (%28,50) pH 4,8'de BSA yüklemesi yapılan hidrojelde elde edilirken; en fazla BSA salınımı %80 ile bu hidrojelden gerçekleşmiştir. Ancak en az BSA salınımı miktar olarak incelendiğinde

(Şekil 4.11 ve Çizelge 4.3) enkapsülasyon verimi en yüksek olan hidrojelden (B4.2-2/0) BSA salınım miktarının en fazla olduğu görülmektedir.



Şekil 4. 11 Farklı pH'larda ve CaCl<sub>2</sub>/KCl (2/0) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C)

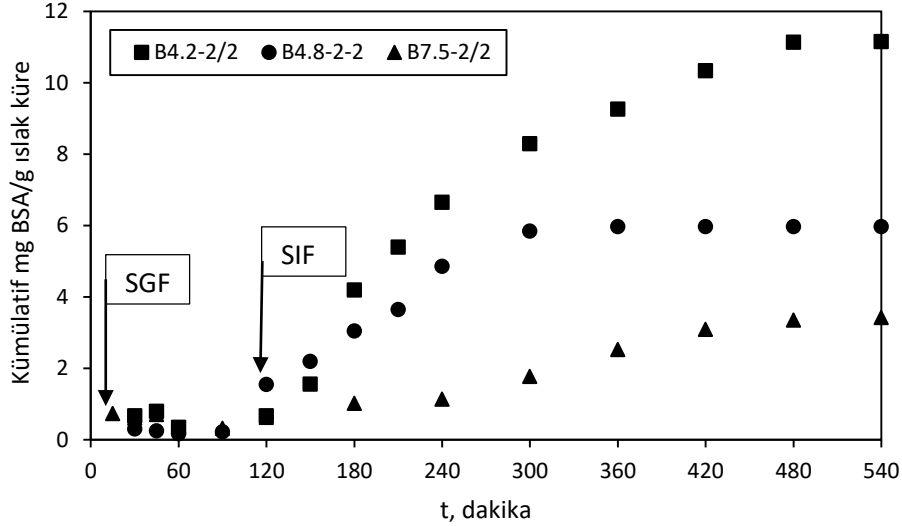


Şekil 4. 12 Farklı pH'larda ve CaCl<sub>2</sub>/KCl (2/2) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C)

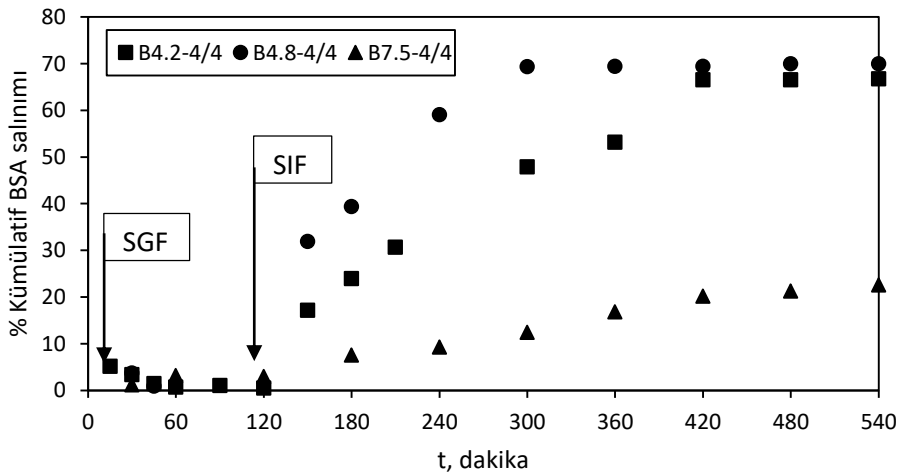
Şekil 4.12 incelendiğinde BSA salınımı 540 dakikada B4.2-2/2 hidrojelde %61, B4.8-2/2 hidrojelde %84 ve B7.5-2/2 hidrojelde %27'ye ulaşmıştır. En düşük BSA enkapsülasyon verimi (%36,10) pH 4,8'de BSA yüklemesi yapılan hidrojelde elde edilirken; en fazla BSA salınımı %84 ile bu hidrojelden gerçekleşmiştir. Ancak BSA salınımı miktar olarak



incelendiğinde (Şekil 4.13 ve Çizelge 4.3) yine enkapsülasyon verimi en yüksek olan pH 4,2’de üretilmiş hidrojelden (B4.2-2/2) BSA salınım miktarının en fazla olduğu görülmektedir.



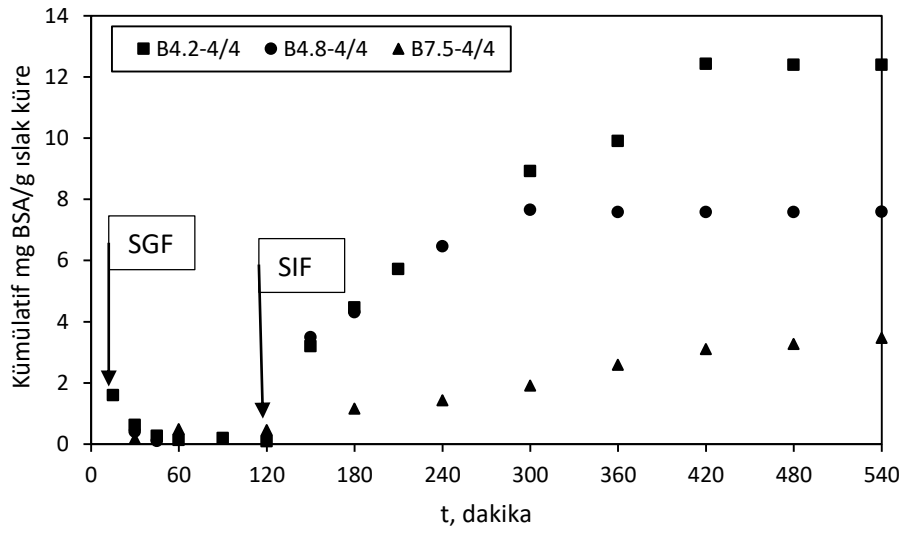
Şekil 4. 13 Farklı pH'larda ve CaCl<sub>2</sub>/KCl (2/2) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C)



Şekil 4. 14 Farklı pH'larda ve CaCl<sub>2</sub>/KCl (4/4) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C)

Şekil 4.14 incelendiğinde BSA salınımı 540 dakikada B4.2-4/4 hidrojelde %67, B4.8-4/4 hidrojelde %70 ve B7.5-4/4 hidrojelde %22'ye ulaşmıştır. En düşük BSA enkapsülasyon verimi (%53) pH 4,8'de BSA yüklemesi yapılan hidrojelde elde edilirken; en fazla BSA salınımı %69 ile bu hidrojelden gerçekleşmiştir. BSA salınım miktarları incelendiğinde

(Şekil 4.15 ve Çizelge 4.3) benzer şekilde en yüksek BSA salınımı pH 4,2'de üretilmiş hidrojelden (B4.2-4/4) gerçekleşmiştir.



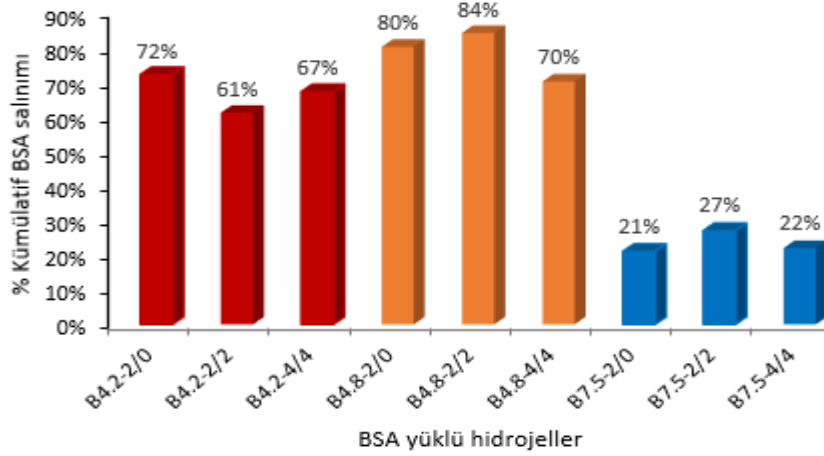
Şekil 4. 15 Farklı pH'larda ve CaCl<sub>2</sub>/KCl (4/4) tuz oranında BSA yüklenen hidrojellerden SGF ve SIF ortamında BSA salınımı (37 °C)

Çizelge 4. 3 BSA enkapsülasyon verimi ve salınım miktarları karşılaştırılması

Numune	Enkapsülasyon verimi (EE) (%)	BSA salınım (mg/1g hidrojel)	BSA salınım (%)
B4.2-2/0	82,68	13,3	72
B4.2-2/2	85,25	11,2	61
B4.2-4/4	88,69	12,4	67
B4.8-2/0	28,50	5,5	80
B4.8-2/2	36,10	5,7	84
B4.8-4/4	53,00	7,6	70
B7.5-2/0	62,20	2,9	21
B7.5-2/2	63,69	3,4	27
B7.5-4/4	68,22	3,5	22

#### 4.4.2 BSA Salınımına Tuz Konsantrasyonunun Etkisi

Farklı tuz konsantrasyonunda BSA yüklemesi yapılan hidrojellerden SIF (pH 7,4) ortamında 5 saatte ulaşılan BSA salınım oranları Şekil 4.16'da görülmektedir.



Şekil 4. 16 BSA yüklemesi yapılan hidrojellerden SIF (pH; 7,4) ortamında 5 saatte ulaşılan %BSA salınım oranları

Tuz konsantrasyonunun değişimiyle BSA salınım oranı arasında bir korelasyon kurulamamıştır (Şekil 4.16). Tuz çözeltisi konsantrasyonunun salınım mekanizmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

#### 4.4.3 BSA Salınım Kinetiği

Farklı pH'larda ve tuz oranlarında hidrojele yüklenen BSA'nın sentetik bağırsak sıvısında (pH 7,4) salınımı deneysel verileri Ritger-Peppas model denkleminde uydurulmuştur ve hidrojelden BSA'nın salınım mekanizması araştırılmıştır. Çizelge 4.4'te Ritger-Peppas denklem parametreleri ve korelasyon katsayıları verilmiştir.

Ritger-Peppas model denkleminde göre  $\ln(t)$ 'ye karşı çizilen  $\ln(M_t/M_\infty)$  grafiklerinin her biri bir doğru denklem vermiştir ve korelasyon katsayıları 0,91-0,99 aralığında değişmektedir (Çizelge 4.4). Ayrıca Şekil 4.17'de verilen deneysel-model salınım grafikleri BSA salınımının Ritger-Peppas model denkleminde uyduğunu göstermektedir.

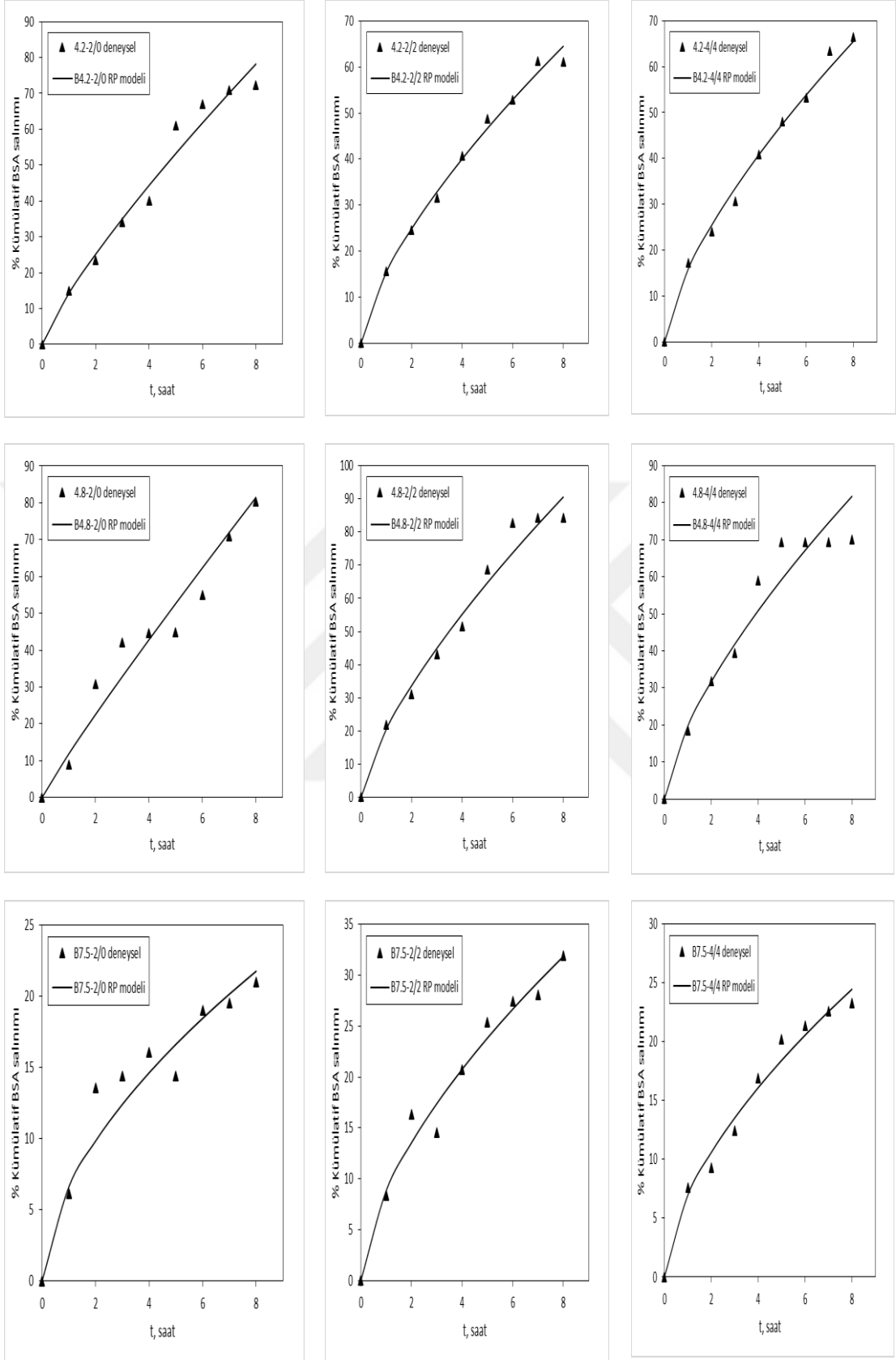
BSA'nın hidrojellerden salınımının difüzyon ve erozyon mekanizmasına göre gerçekleştiğini doğrulamak amacıyla elde edilen lineer doğruların eğiminden salınım katsayıları (n) elde edilmiştir. Eğer n değeri 0,43'den küçükse ve eşitse Fick yasasına uyan

difüzyon,  $0,43 \leq n < 0,85$  aralığındaysa Fick yasasına uymayan difüzyon (difüzyon davranışı ve zincir gevşeme),  $0,85$ 'den büyükse ve eşitse sıfırncı dereceden (şişme veya erozyon kontrollü) salınım mekanizması görülür [66].

Çizelge 4. 4 Ritger-Peppas denklem parametreleri ve korelasyon katsayıları

Numune	K (saat <sup>-n</sup> )	n	R <sup>2</sup>
B4.2-2/0	14,2705	0,8181	0,9790
B4.2-2/2	15,4298	0,6880	0,9947
B4.2-4/4	15,8711	0,6818	0,9867
B4.8-2/0	11,8497	0,9268	0,9133
B4.8-2/2	20,5056	0,7143	0,9782
B4.8-4/4	19,7391	0,6832	0,9502
B7.5-2/0	6,6101	0,5725	0,9421
B7.5-2/2	8,8330	0,6168	0,9446
B7.5-4/4	6,9643	0,6037	0,9651

Buna göre  $0,5725-0,8181$  aralığında değişen n değerlerine bakıldığında (Çizelge 4.4) BSA proteinini hidrojel matristen salınımı hem difüzyon hem de polimer gevşeme davranışı göstermektedir. pH 4,2 ve 4,8'de hazırlanan hidrojellerden BSA salınım katsayıları artan tuz konsantrasyonu ile birlikte azalmıştır. Tuz çözelti konsantrasyonunun artmasıyla çapraz bağın daha kuvvetli oluşması polimer zincir gevşemesini yavaşlatmakta böylece difüzyonun polimer gevşemesinden daha etkili olduğu düşünülmektedir. B4.8-2/0 kodlu hidrojelden BSA salınımı ( $n \geq 0,85$ ) hidrojin şişmesi ve erozyon kontrolüyle gerçekleşmiştir. Sonuç olarak, kalsiyum ve potasyum ile çapraz bağlanarak üretilen aljinat/ $\kappa$ -kerajin hidrojel kürelere farklı pH ve tuz konsantrasyonlarında yüklenen BSA proteinin, sentezlenen hidrojel kürelerden salınımı hem proteinin hidrojel matristen difüzyonu ile hem de çapraz bağın gevşemesi ve hidrojel matrisinin yapısının bozulmasıyla yani erozyonuyla gerçekleşmiştir.

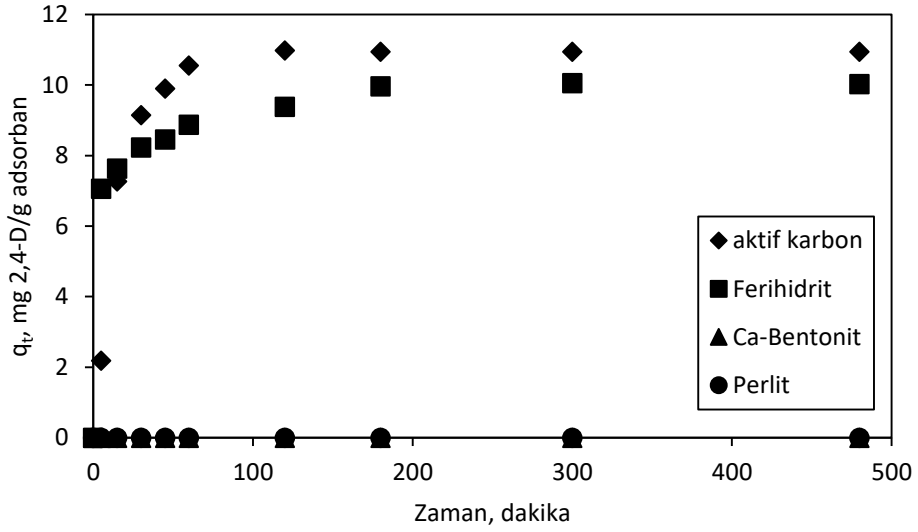


Şekil 4. 17 BSA salınımı deneysel verilerin Ritger-Peppas modeli ile kıyaslanması

## 4.5 Herbisit Enkapsülasyon Deneylerinin Değerlendirilmesi

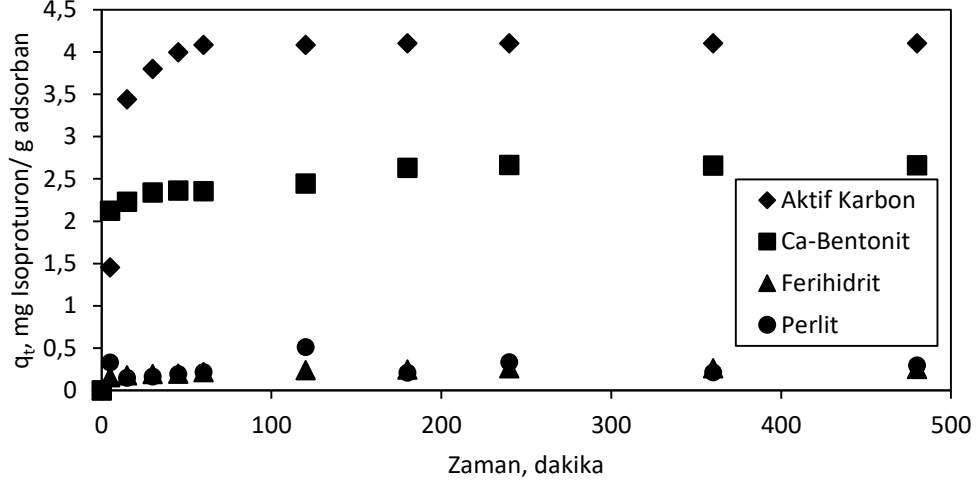
### 4.5.1 Adsorbanların Herbisit Adsorpsiyon Kapasiteleri

Herbisit enkapsülasyon verimini arttırmak ve herbisit salınımını yavaşlatmak için hidrojel üretiminde aljinat- $\kappa$ -kerajin karışımına eklenen adsorbanların, isoproturon ve 2,4-D herbisitleri için adsorpsiyon kapasiteleri ve dengeye ulaşma süreleri belirlenmiştir (Şekil 4.18 ve 4.19).



Şekil 4. 18 2,4-D'nin adsorpsiyon kapasitesi

2,4-D, Ca-Bentonit ve perlit üzerine adsorbe olamamıştır. 2,4-D'nin aktif karbon üzerine adsorpsiyonunun dengeye ulaşma süresi 2 saattir. 2 saatte, 2,4-D'nin %99'u aktif karbona adsorbe olmuştur ve denge adsorpsiyon kapasitesi 10,94 mg/g'dır. 2,4-D'nin ferihidrit üzerine adsorpsiyonunun dengeye ulaşma süresi 3 saattir. 3 saatte, 2,4-D'nin %90'ı ferihidride adsorbe olmuştur ve denge adsorpsiyon kapasitesi 10,05 mg/g'dır. 2,4-D'nin ferihidrit üzerine adsorpsiyonu, anyonik grup ( $-COO^-$ ) içeren 2,4-D ve pozitif yüklü demir oksit arasındaki etkileşimden ve ferihidrit yüzeyindeki  $H_2O$  ile anyonik grup arasındaki Van der Waals etkileşimlerinden kaynaklanmaktadır [75].



Şekil 4. 19 Isoproturonun adsorpsiyon kapasitesi

Isoproturonun perlit ve ferihidrit üzerine adsorpsiyonu aktif karbona ve Ca-Bentonite olan adsorpsiyonu kadar önemli değildir. Aktif karbon üzerine Isoproturonun adsorpsiyonu 3 saatte %100'e (4,10 mg/g) ulaşmıştır. Isoproturonun Ca-Bentonit üzerine adsorpsiyonunun dengeye ulaşma süresi 4 saattir. 4 saatte, Isoproturonun %64'ü Ca-Bentonite adsorbe olmuştur ve denge adsorpsiyon kapasitesi 2,66 mg/g'dır.

#### 4.6 Herbisit Enkapsülasyonuna Adsorban İlavesinin Etkisi

Herbisit yüklü hidrojellerin enkapsülasyon verimleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Her iki herbisit için de en yüksek enkapsülasyon verimi aktif karbon içeren hidrojelde elde edilmiştir (Çizelge 4.5). Aktif karbon üzerine yüksek miktarda adsorbe olan isoproturon ve 2,4-D'nin adsorban yüzeyine tutunarak en yüksek enkapsülasyon veriminin elde edilmesinde etkili olduğu düşünülmektedir.

2,4-D yüklü hidrojellerin enkapsülasyon verimleri karşılaştırıldığında (Çizelge 4.5) en yüksek verim aktif karbon eklenen hidrojelde elde edilmiştir. Adsorban içermeyen hidrojin 2,4-D enkapsülasyon verimi ferihidrit içeren hidrojele göre daha düşük olduğu Çizelge 4.5'te görülmektedir. Isoproturon yüklü hidrojellerin enkapsülasyon verimleri karşılaştırıldığında (Çizelge 4.5) en yüksek verim aktif karbon eklenen hidrojelde elde edilmiştir. Adsorban içermeyen hidrojin isoproturon enkapsülasyon verimi ferihidrit, perlit ve ca-bentonit içeren hidrojellere göre daha düşüktür. Isoproturonun ferihidrit ve

perlit üzerine adsorpsiyonu ca-bentonite olan adsorpsiyonu kadar anlamlı olmamasına rağmen enkapsülasyon verimi değerleri birbirine yakın bulunmuştur (Çizelge 4.5).

Çizelge 4. 5 Herbisit yüklü hidrojelilerin enkapsülasyon verimleri

Numune	Enkapsülasyon Verimi (EE) (%)
D	40
DF	43
DAC	100
IPU	41
IPUF	49
IPUB	52
IPUP	52
IPUAC	100

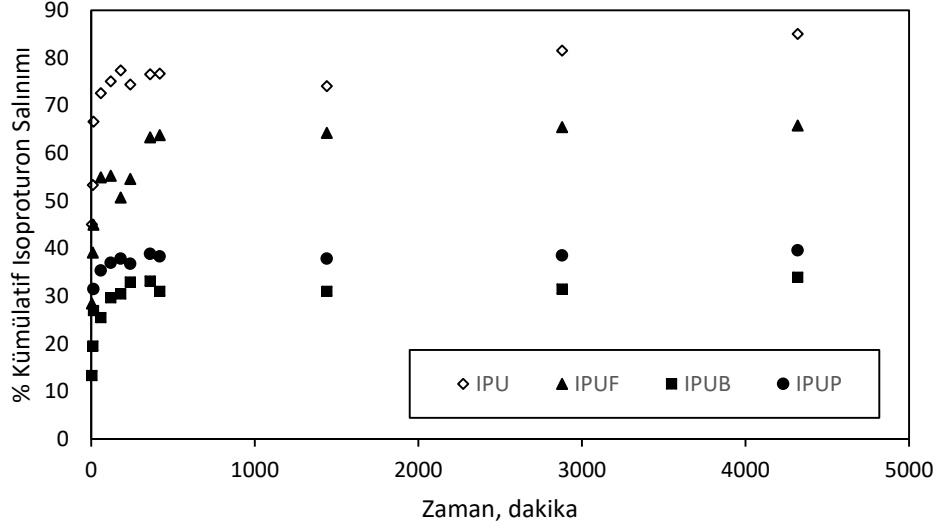
Yapılan bir çalışmada, isoproturon içeren aljinat esaslı kontrollü salınım formülasyonlarında aktif karbon oranı arttıkça enkapsülasyon veriminin de arttığı rapor edilmiştir. Isoproturon yüklü kalsiyum klorürle çapraz bağlı aljinat kürelerin enkapsülasyon verimini %85,64; bentonit içeren kürelerin verimini %91,26; bentonit ve aktif karbon içeren kürelerin verimini aktif karbon oranına bağlı olarak %99,23-99,62; aktif karbon içeren kürelerin enkapsülasyon verimini %99,91 olarak hesaplamışlardır [11]. Başka bir çalışmada, isoproturon ve aljinat içeren kontrollü salınım formülasyonları asit ile muamele edilmiş bentonit eklenerek modifiye edilmiştir. Her bir kontrollü salınım formülasyonlarında isoproturonun enkapsülasyon verimi %91,9'dan yüksek olduğu bulunmuştur [9].

#### 4.7 Herbisit Salınımına Adsorban İlavesinin Etkisi

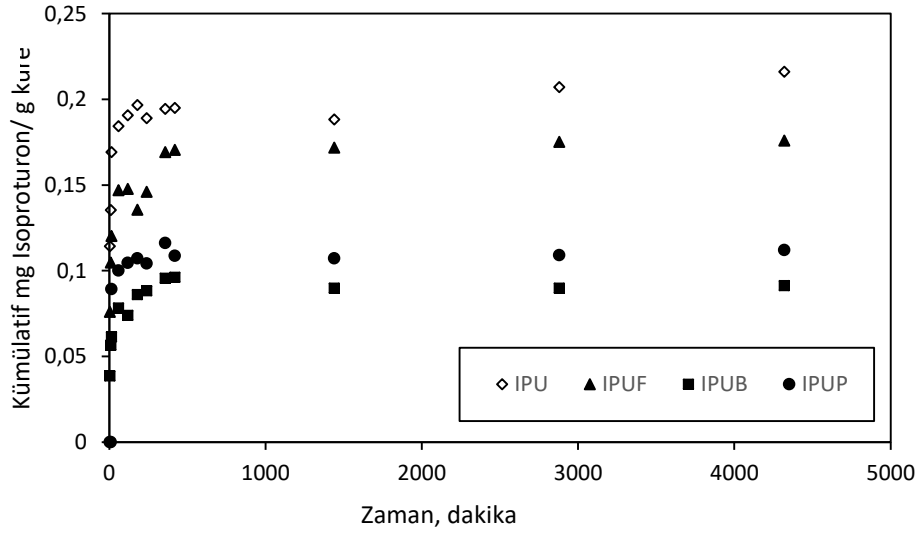
Aljinat-κ-kerajin hidrojel kürelerden kümülatif 2,4-D ve isoproturon salınımı Şekil 4.20 ve 4.21'de gösterilmiştir. Aktif karbon eklenerek hazırlanan hidrojellerden isoproturon ve 2,4-D salınımı gerçekleşmemiştir. Herbisit moleküllerinin aktif karbona tersinmez olarak bağlandığı düşünülmektedir. Ayrıca, yapılan desorpsiyon deneylerinde de herbisit moleküllerinin aktif karbondan desorbe olmadığı gözlemlenmiştir. Herbisit molekülleri ile aktif karbon arasındaki bu güçlü etkileşim nedeniyle aktif karbonla hazırlanmış hidrojel kürelerden herbisit salınımı gerçekleşmemiştir.



a)

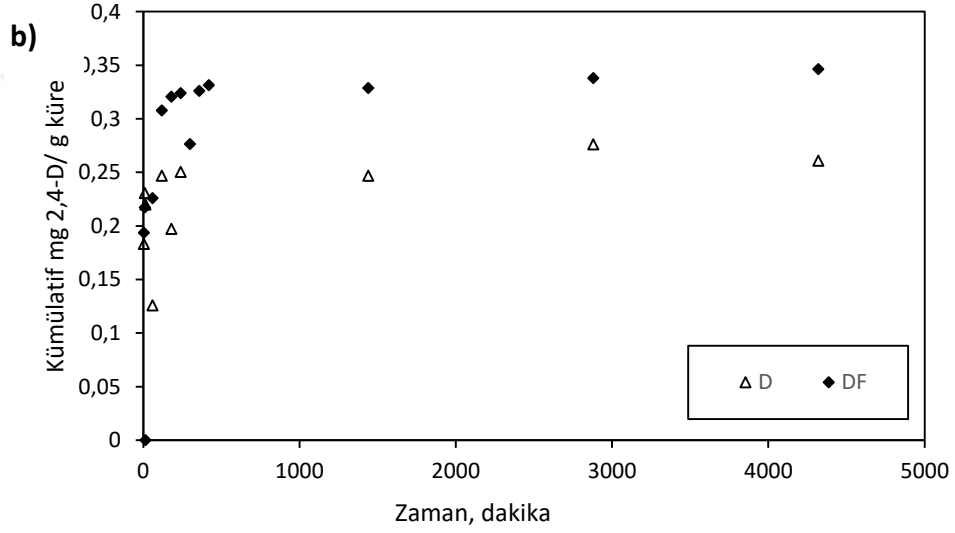
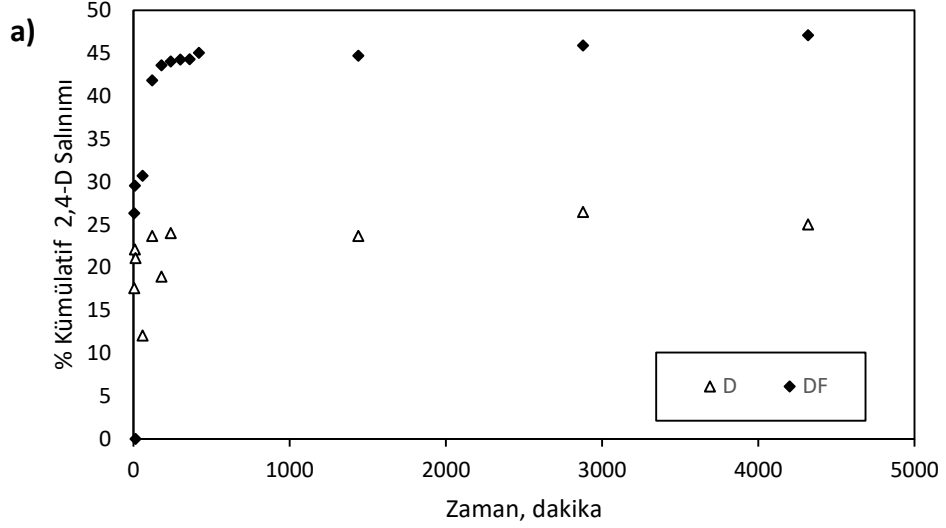


b)



Şekil 4. 20 Su içerisinde hidrojelden isoproturonun kümülatif salınımı

Şekil 4.20 incelendiğinde isoproturon salınımı adsorban içermeyen hidrojelde %85'e; ferihirit içeren hidrojelde %66'ya; perlit içeren hidrojelde %40'a ve Ca-bentonit içeren hidrojelde %34'e ulaşmıştır. En düşük isoproturon enkapsülasyon verimi (%41) adsorban içermeyen hidrojelde elde edilirken; en fazla isoproturon salınımı %85 ile bu hidrojelden gerçekleşmiştir. En az isoproturon salınımı %34 ile enkapsülasyon verimi %52 olan Ca-bentonit içeren hidrojelden gerçekleşmiştir. 1 g adsorban içermeyen hidrojel, ferihiddrit, Ca-bentonit ve perlit içeren hidrojellerden sırasıyla 0,22; 0,18; 0,09 ve 0,11 mg isoproturon salınmıştır. Birim hidrojel başına salınan herbisit miktarına bakıldığında yapıya adsorban eklenmesinin salınan madde miktarına olumlu bir etkisi olmadığı, ancak salınım hızını düşürmede etkili olduğu söylenebilir.



Şekil 4. 21 Su içerisinde hidrojelden 2,4-D'nin kümülatif salınımı

Şekil 4.21 incelendiğinde 2,4-D salınımı ferihidrit içermeyen hidrojelde %25'e , ferihidrit içeren hidrojelde %47'ye ulaşmıştır. Ferihidrit eklenerek hazırlanan hidrojin 2,4-D enkapsülasyon verimi daha yüksektir ve bu hidrojelden 2,4-D salınımı daha fazla olmuştur. 1 g adsorban içermeyen ve ferihidrit içeren hidrojelden sırasıyla 0,26; ve 0,35 mg 2,4-D salınmıştır. Birim hidrojel başına salınan herbisit miktarına bakıldığında yapıya ferihidrit adsorbanının eklenmesi hem enkapsülasyonu hem de salınan 2,4-D miktarını artırmıştır.

### SONUÇLAR

Sentezlenen biyoyumlu hidrojeller BSA adsorpsiyonunda, BSA'nın kontrollü salınımında ve 2,4-D ve isoproturon herbisitlerinin kontrollü salınımında kullanılmıştır. Yapılan çalışmalardan aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

BSA'nın hidrojel kürelere adsorpsiyonu:

1. BSA adsorpsiyonunda kullanılan hidrojel, biyoyumlu aljinat ve  $\kappa$ -kerajin karışımının %2'lik kalsiyum klorür çözeltisine damlatılmasıyla fiziksel çapraz bağlanma yöntemiyle üretilmiştir. Elde edilen aljinat-  $\kappa$ -kerajin hidrojel kürelerin yapısı SEM ve FT-IR analizleriyle aydınlatılmaya çalışılmıştır.
2. BSA'nın izoelektrik noktasının (pH 4,8), altında ve üzerindeki pH değerlerinde protein adsorpsiyonu incelenmiştir. pH 2,8'de pozitif yüklü BSA molekülü ile iyonlaşmamış karboksil ve sülfat grubu içeren pozitif yüklü hidrojel arasında elektrostatik itme kuvvetinden dolayı adsorpsiyon gerçekleşmemiştir. İsoelektrik noktasında (pI 4,8) yüksüz olan BSA ile negatif yüklü aljinat arasında adsorpsiyon gerçekleşmiştir. pH 6,8'de tampon çözeltideki sodyum ve fosfat iyonları hidrojel kürelerin çapraz bağının bozulmasına neden olmuş ve küreler patlayarak dağılmıştır.
3. pH 4,8'de ve üç farklı sıcaklıkta (25 °C; 32,5 °C ve 40 °C) adsorpsiyon kinetik verileri yalancı birinci derece, yalancı ikinci derece ve parçacık içi difüzyon modeline uydurulmuş ve en iyi modelin parçacık içi difüzyon oluşu görülmüştür. Buna göre adsorpsiyon hızını sınırlayan basamağın BSA moleküllerinin hidrojel

kürelere difüzyonu olduğu belirlenmiştir. Sıcaklığın artmasıyla birlikte adsorpsiyon hızı da artmıştır. En yüksek adsorpsiyon kapasitesi 40 °C'de 240 mg/g elde edilmiştir.

BSA'nın hidrojel kürelere enkapsülasyonu ve hidrojel kürelerden kontrollü salınımı:

1. BSA enkapsülasyonu üç farklı pH değerinde (4,2;4,8;7,5) ve farklı tuz çözeltisi konsantrasyonlarında (CaCl<sub>2</sub>/KCl: 2/0; 2/2; 4/4) çalışılmıştır.
2. En yüksek BSA enkapsülasyon verimi (%88,69) en yüksek tuz çözelti konsantrasyonunda (4/4) ve pH 4,2'de hazırlanan hidrojelde elde edilmiştir. Pozitif yüklü BSA ile negatif yüklü aljinat arasındaki çekim ve yüksek tuz konsantrasyonunda oluşan kuvvetli çapraz bağ, yüksek enkapsülasyon veriminin elde edilmesine neden olmuştur.
3. pH'a duyarlı olan BSA yüklü hirojellerin SGF ve SIF ortamında salınımları incelenmiş, SGF ortamında BSA salınımının ihmal edilecek seviyede olduğu belirlenmiştir.
4. SIF ortamında en yüksek enkapsülasyon verimine sahip hidrojelden en fazla BSA salınımı gerçekleşmiştir. B4.2-2/0; B4.8-2/0; B7.5-2/0 hidrojellerden sırasıyla 13,3; 5,5; 2,9 mg/g BSA salınmıştır. B4.2-2/2; B4.8-2/2; B7.5-2/2 hidrojellerden sırasıyla 11,2; 5,7; 3,4 mg/g BSA salınmıştır. B4.2-4/4; B4.8-4/4; B7.5-4/4 hidrojellerden sırasıyla 12,4; 7,6; 3,5 mg/g BSA salınmıştır.
5. Artan enkapsülasyon pH'ı ile BSA salınımı azalmıştır. Tuz konsantrasyonun değişimiyle BSA salınım oranı arasında bir korelasyon kurulamamıştır. Tuz çözeltisi konsantrasyonunun salınım mekanizmasında etkili olduğu düşünülmektedir.
6. BSA'nın SIF ortamındaki salınım verileri Ritger-Peppas kinetik modele uydurulmuştur. Bu modele göre, BSA'nın hidrojel kürelerden salınımı hem BSA'nın hidrojel matristen difüzyonu ile hem de çapraz bağın gevşemesi ve hidrojel matrisinin yapısının bozulmasıyla gerçekleşmiştir.

Isoproturonun ve 2,4-D'nin hidrojel kürelere enkapsülasyonu ve hidrojel kürelerden kontrollü salınımı:

1. Isoproturon ve 2,4-D herbisitleri içeren aljinat- κ-kerajin karışımı %2KCl - %2CaCl<sub>2</sub> içeren tuz çözeltisine damlatılarak herbisit yüklü küreler üretilmiştir.
2. Adsorbanların (aktif karbon, Ca-bentonit, ferihidrit ve perlit) herbisit enkapsülasyon verimine etkisini incelemek için herbisit yüklü adsorban-hidrojel kompozit küreler hazırlanmıştır. Adsorbanların eklenmesiyle herbisit enkapsülasyon verimleri artmıştır. En yüksek enkapsülasyon verimi %100 ile aktif karbon içeren hidrojelde gerçekleşmiştir.
3. Aktif karbon içeren kompozit hidrojellerin herbisit enkapsülasyon verimleri yüksek olmasına rağmen hidrojel yapısına kuvvetle bağlanan herbisitlerin salınımı olmamıştır.
4. Hidrojel yapısına eklenen adsorbanlar isoproturonun enkapsülasyon verimini arttırmış ancak salınım miktarına olumlu bir etkisi olmamıştır. Bununla birlikte yapıya ferihidrit adsorbanının eklenmesi hem 2,4-D'nin enkapsülasyonunu hem de birim hidrojel başına salınan 2,4-D miktarını artırmıştır.
5. Herbisit enkapsülasyon ve salınım deneyleri sonucu en iyi sonuçlar isoproturon için %41 enkapsülasyon verimi ve 0,22 mg/g salınım ile adsorban içermeyen aljinat- κ-kerajin hidrojel küreler ile, 2-4 D için ise %43 enkapsülasyon verimi ve 0,35 mg/g salınım ile ferihidrit içeren aljinat- κ-kerajin hidrojel küreler ile elde edilmiştir.

Bu çalışmayla biyouyumlu aljinat- κ-kerajin hidrojel kürelerin gerek protein adsorpsiyonu gerek protein bazlı ilaçların bağırsakta kontrollü salınımı gerekse zirai mücadelede yaygın olarak kullanılan herbisit moleküllerinin kontrollü salınımında başarılı bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

---

- [1] Castro, G. R., Chen, J., Panilaitis, B., ve Kaplan, D. L., (2009). "Emulsan–alginate Beads for Protein Adsorption", *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 20: 411-426.
- [2] Mondal, S., Li C., ve Wang, K., (2015). "Bovine Serum Albumin Adsorption on Gluteraldehyde Cross-linked Chitosan Hydrogels", *Journal of Chemical & Engineering Data*, 60: 2356-2362.
- [3] Mahdavinia, G.R., ve Etemadi, H., (2015). "Surface Modification of Iron Oxide Nanoparticles with  $\kappa$ -carrageenan/carboxymethyl Chitosan for Effective Adsorption of Bovine Serum Albumin", *Arabian Journal of Chemistry*.
- [4] Mahdavinia, G.R., Mousanezhad, S., Hosseinzadeh, H., Darvishi, F., ve Sabzi, M., (2016). "Magnetic Hydrogel Beads Based on PVA/Sodium Alginate/Laponite RD and Studying their BSA Adsorption", *Carbohydrate Polymers*, 147: 379-391.
- [5] Anal, A.K., Bhopatkar, D., Tokura, S., Tamura, H., ve Stevens, W.F., (2003). "Chitosan-Alginate Multilayer Beads for Gastric Passage and Controlled Intestinal Release of Protein", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 29: 713-724.
- [6] Nochos, A., Douroumis, D., ve Bouropoulos, N., (2008). "In Vitro Release of Bovine Serum Albumin from Alginate/HPMC Hydrogel Beads", *Carbohydrate Polymers*, 74: 451-457.
- [7] De Moura, M.R., Aouada, F.A., Favaro, S.L., Radovanovic, E., Rubira, ve A.F., Muniz, E.C., (2009). "Release of BSA from Porous Matrices Constituted of Alginate–Ca<sup>2+</sup> and PNIPAAm-Interpenetrated Networks", *Materials Science and Engineering: C*, 29: 2319-2325.
- [8] Kaygusuz, H., ve Erim, F., (2013). "Alginate/BSA/Montmorillonite Composites with Enhanced Protein Entrapment and Controlled Release Efficiency", *Reactive and Functional Polymers*, 73: 1420-1425.
- [9] Villafranca-Sánchez, M., González-Pradas, E., Fernández-Pérez, M., ve Martínez-López, F., Flores-Céspedes, F., Ureña-Amate, M. D., (2000). "Controlled Release of Isoproturon from An Alginate–Bentonite Formulation:

- Water Release Kinetics and Soil Mobility”, *Pest Management Science*, 56: 749-756.
- [10] Zhu, Z., ve Zhuo, R., (2000). “Crosslinked Quaternary Ammonium Cornstarch Matrix for Slow Release of Carboxylic Groups-containing Herbicides”, *Starch-Stärke*, 52: 58-63.
- [11] Garrido-Herrera, F., González-Pradas, E., ve Fernández-Pérez, M., (2006). “Controlled Release of Isoproturon, Imidacloprid, and Cyromazine from Alginate-Bentonite-Activated Carbon Formulations”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 10053-10060.
- [12] Mahdavinia, G.R., Mousavi, S.B., Karimi, F., Marandi, G. B., Shahabivand, S., ve Harati, M., (2009). “Release Behavior of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Herbicide Using Novel Porous Polyacrylamide Hydrogels”, *e-Polymers*, 9: 1718-1730.
- [13] Li, J., Jiang, M., Wu, H., ve Li, Y., (2009). “Addition of Modified Bentonites in Polymer Gel Formulation of 2,4-D for its Controlled Release in Water and Soil ”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 2868-2874.
- [14] Wilpiszewska, K., Szychaj, T., ve Paździuch, W., (2016). “Carboxymethyl Starch/Montmorillonite composite microparticles: Properties and Controlled Release of Isoproturon”, *Carbohydrate Polymers*, 136: 101-106.
- [15] Turanlı, Yildiz B., Alkim, C., ve Cakar, Z. P., (2012). *Protein Engineering Methods and Applications*, Protein Engineering, InTech.
- [16] Branden, C.I., ve Tooze, J., (1999). *Introduction to Protein Structure*, Garland Science.
- [17] Kumcu, M., (2016). *Protein Adsorpsiyonunun Denge ve Kinetik Açısından İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.*
- [18] Welsch, N., Lu, Y., Dzubiella, J., ve Ballauff, M., (2013). “Adsorption of Proteins to Functional Polymeric Nanoparticles”, *Polymer*, 54: 2835-2849.
- [19] Rabe, M., Verdes, D., ve Seeger, S., (2011). “Understanding Protein Adsorption Phenomena at Solid Surfaces”, *Advances in Colloid and Interface Science*, 162: 87-106.
- [20] Wang, K., Zhou, C., Hong, Y., ve Zhang, X., (2012). “A Review of Protein Adsorption on Bioceramics”, *Interface Focus*, 2: 259-277.
- [21] Vogler, E.A., (2012). “Protein Adsorption in Three Dimensions”, *Biomaterials*, 33: 1201-1237.
- [22] Varaprasad, K., Raghavendra, G. M., Jayaramudu, T., Yallapu, M. M., ve Sadiku, R. A., (2017). “A Mini Review on Hydrogels Classification and Recent Developments in Miscellaneous Applications”, *Materials Science and Engineering C*, 79: 958-971.
- [23] Ullah, F., Othman, M. B. H., Javed, F., Ahmad, Z., ve Akil, H. M., (2015). “Classification, Processing and Application of Hydrogels: A review”, *Materials Science and Engineering C*, 57: 414-433.

- [24] Nagam, S. P., Naga, Jyothi, A., Poojitha, J., Aruna, S., ve Nadendla, R. R., (2016). "A Comprehensive Review on Hydrogels", *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 8 (1): 19-23.
- [25] Das, D., ve Pal, S., (2015). "Modified Biopolymer-Dextrin Based Crosslinked Hydrogels: Application in Controlled Drug Delivery", *Royal Society of Chemistry Advances*, 5: 25014-25050.
- [26] Ahmed, E. M., (2015). "Hydrogel: Preparation, Characterization, and Applications: A Review", *Journal of Advanced Research*, 6: 105-121.
- [27] Hoffman, A. S., (2012). "Hydrogels for Biomedical Applications", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64: 18-23.
- [28] Gulrez, S. K., Al-Assaf, S., ve Phillips, G. O., (2011). "Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications in Molecular and Environmental Bioengineering-from Analysis and Modeling to Technology Applications", *InTech*: 117-150.
- [29] Caló, E., ve Khutoryanskiy, V. V., (2015). "Biomedical Applications of Hydrogels: A Review of Patents and Commercial Products", *European Polymer Journal*, 65: 252- 267.
- [30] Bahram, M., Mohseni, N., ve Moghtader, M., (2016). "An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels", *InTech*.
- [31] Simões, S., Figueiras, A., ve Veiga, F., (2012). "Modular Hydrogels for Drug Delivery", *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 3: 185-199.
- [32] Censi, R., Di, Martino, P., Vermonden, T., ve Hennink, W. E., (2012). "Hydrogels for Protein Delivery in Tissue Engineering", *Journal of Controlled Release*, 161: 680-692.
- [33] Lai, W. F., ve He, Z. D., (2016). "Design and Fabrication of Hydrogel-Based Nanoparticulate Systems for In Vivo Drug Delivery", *Journal of Controlled Release*, 243: 269-282.
- [34] Gupta, P., Vermani, K., ve Garg, S., (2002). "Hydrogels: from Controlled Release to pH-Responsive Drug Delivery", *Drug Discovery Today*, 7 (10): 569-579.
- [35] Schmaljohann, D., (2006). "Thermo-and pH-Responsive Polymers in Drug Delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58: 1655-1670.
- [36] Qiu, Y., ve Park, K., (2001). "Environment-Sensitive Hydrogels for Drug Delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53: 321-339.
- [37] Ramanan, R. M. K., Chellamuthu, P., Tang, L., ve Nguyen, K. T., (2006). "Development of A Temperature-Sensitive Composite Hydrogel for Drug Delivery Applications", *Biotechnology Progress*, 22: 118-125.
- [38] George, M., ve Abraham, T. E., (2006). "Polyionic Hydrocolloids for The Intestinal Delivery of Protein Drugs: Alginate and Chitosan—A Review", *Journal of Controlled Release*, 114: 1-14.



- [39] Pawar, S. N., ve Edgar, K. J., (2012). "Alginate Derivatization: A Review of Chemistry, Properties and Applications", *Biomaterials*, 33: 3279-3305.
- [40] Gombotz, W. R. , ve Wee, S. F., (2012). "Protein Release From Alginate Matrices", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64: 194-205.
- [41] Agüero, L., Zaldivar-Silva, D., Peña, L., ve Dias, M. L., (2017). "Alginate Microparticles As Oral Colon Drug Delivery Device: A Review", *Carbohydrate Polymers*.
- [42] Leong, J. Y., Lam, W. H., Ho, K. W., Voo, W. P., Lee, M. F. X., ve Lim, H. P., (2016). "Advances In Fabricating Spherical Alginate Hydrogels with Controlled Particle Designs by Ionotropic Gelation As Encapsulation Systems", *Particuology*, 24: 44-60.
- [43] Lee, K. Y., ve Mooney, D. J., (2012). "Alginate: Properties and Biomedical Applications", *Progress in Polymer Science*, 37: 106-126.
- [44] Li, L., Ni, R., Shao, Y., ve Mao, S., (2014). "Carrageenan and Its Applications in Drug Delivery", *Carbohydrate Polymers*, 103: 1-11.
- [45] Prajapati, V.D., Maheriya, P. M., Jani, G. K., ve Solanki, H. K., (2014). "Carrageenan: A Natural Seaweed Polysaccharide and Its Applications", *Carbohydrate Polymers*, 105: 97-112.
- [46] Necas, J., ve Bartosikova, L., (2013). "Carrageenan: A Review", *Veterinari Medicina*, 58 (4): 187-205.
- [47] Campo, V. L., Kawano, D. F., da Silva, D. B., ve Carvalho, I., (2009). "Carrageenans: Biological Properties, Chemical Modifications and Structural Analysis—A Review", *Carbohydrate Polymers*, 77: 167-180.
- [48] Liu, J., Zhan, X., Wan, J., Wang, Y., ve Wang, C., (2015). "Review for Carrageenan-Based Pharmaceutical Biomaterials: Favourable Physical Features Versus Adverse Biological Effects", *Carbohydrate Polymers*, 121: 27-36.
- [49] Vemmer, M., ve Patel, A. V., (2013). "Review of Encapsulation Methods Suitable for Microbial Biological Control Agents", *Biological Control*, 67: 380-399.
- [50] BSA properties, [https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product\\_Information\\_Sheet/b2518pis.pdf](https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/b2518pis.pdf), 14 Temmuz 2017.
- [51] Walters, J., (1999). Environmental fate of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid, Department of Pesticide Regulations, Sacramento, CA.
- [52] Sarıyer, S., Duranoğlu, D., Doğan, Ö. ve Küçük, İ. (2017). "Adsorption of Bovine Serum Albumin (BSA) on Hydrogel Beads", 1th International Conference on Energy and Thermal Engineering, 25-28 Nisan 2017, İstanbul.
- [53] Sarıyer, S., Duranoğlu, D., Doğan, Ö. ve Küçük, İ. (2017). "The Controlled Release of Bovine Serum Albumin from Polysaccharide Based Hydrogel Beads", 3rd International Conference on New Trends in Chemistry, 28-30 Nisan 2017, Helsinki.

- [54] Qiu, H., Lv, L., Pan, B. C., Zhang, Q. J., Zhang, W. M, ve Zhang, Q. X., (2009). "Critical Review in Adsorption Kinetic Models", *Journal of Zhejiang University-Science A*, 10: 716-724.
- [55] Ritger, P. L., ve Peppas, N. A., (1987). "A Simple Equation for Description of Solute Release I. Fickian and non-Fickian Release from non-Swellable Devices in The Form of Slabs, Spheres, Cylinders or Discs", *Journal of Controlled Release*, 5: 23-36.
- [56] Muurinen, A., ve Carlsson, T., (2013), "Bentonite Pore Structure Based on SAXS Chloride Exclusion and NMR Studies", Working Report 2013-53.
- [57] Perlitin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, [www.tasper.com.tr](http://www.tasper.com.tr), 29 Ekim 2017.
- [58] Beker, Ü., Duranoğlu, D., ve Kalpaklı, Y., (2004). Farklı Aktivasyon Yöntemlerinin Aktif Karbon Özelliklerine Etkisi, TÜBİTAK, Proje MİSAG 223.
- [59] Mohamadnia, Z., Zohuriaan Mehr, M., Kabiri, K., Jamshidi, A., ve Mobedi, H., (2008), "Ionically cross-linked carrageenan-alginate hydrogel beads. *Journal of Biomaterials Science*", Polymer Edition, 19: 47-59.
- [60] Daud, J. M., Warzukni, N. S., Salim, R. M., ve Zuberdi, A. M., (2015). "Semi-Refined  $\kappa$ -Carrageenan: Part 1. Chemical Modification of Semi-Refined  $\kappa$ -Carrageenan via Graft Copolymerization Method, Optimization Process and Characterization of its Super Absorbent Hydrogel", *Oriental Journal of Chemistry*, 31: 973-980.
- [61] Wang, Q. S., Zhu, X. N., Jiang, H. L., Wang, G. F., ve Cui, Y. L., (2015). "Protective Effects of Alginate–Chitosan Microspheres Loaded with Alkaloids from *Coptis Chinensis* Franch. and *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.(Zuojin Pill) against Ethanol-Induced Acute Gastric Mucosal Injury in Rats", *Drug design, Development and Therapy*, 9: 6151.
- [62] Bellusci, M., La Barbera, A., Seralessandri, L., Padella, F., Piozzi, A., ve Varsano, F., (2009). "Preparation of Albumin–Ferrite Superparamagnetic Nanoparticles Using Reverse Micelles", *Polymer International*, 58: 1142-1147.
- [63] Li, Z., Qiang, L., Zhong, S., Wang, H., Cui, ve X., (2013). "Synthesis and Characterization of Monodisperse Magnetic  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  @ BSA core–shell Nanoparticles", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 436: 1145-1151.
- [64] Maleki, M., Moradi, O., ve Tahmasebi, S., (2012). "Adsorption of Albumin by Gold Nanoparticles: Equilibrium and Thermodynamics Studies", *Arabian Journal of Chemistry*, 10 (1): 491-502.
- [65] Schmidt, M. P., ve Martínez, C.E., (2016). "Kinetic and Conformational Insights of Protein Adsorption onto Montmorillonite Revealed Using in Situ ATR-FTIR/2D-COS", *Langmuir*, 32: 7719-7729.
- [66] Mahdavinia, G. R., Rahmani, Z., Karami, S., ve Pourjavadi, A., (2014). "Magnetic/pH-Sensitive  $\kappa$ -carrageenan/Sodium Alginate Hydrogel Nanocomposite Beads: Preparation, Swelling Behavior, and Drug Delivery", *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 25: 1891-1906.

- [67] Zhang, J., Li, X., Zhang, D., ve Xiu, Z., (2008). "Encapsulation Efficiency and Release Behaviors of Bovine Serum Albumin Loaded in Alginate Microspheres Prepared by Spraying", *Journal of Applied Polymer Science*, 110: 2488-2497.
- [68] Gupta, B., Kumari, M., ve Ikram, S., (2013). "Drug Release Studies of N-isopropyl acrylamide/acrylic acid Grafted Polypropylene Nonwoven Fabric", *Journal of Polymer Research*, 20:95.
- [69] Ghosal, K., ve Ray, S. D., (2011). "Alginate/Hydrophobic HPMC (60M) Particulate Systems: New Matrix for Site-Specific and Controlled Drug Delivery", *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47: 833-844.
- [70] Zhao, Q., ve Li, B., (2008). "pH-Controlled Drug Loading and Release from Biodegradable Microcapsules", *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 4: 302-310.
- [71] Anal, A. K., ve Stevens, W. F., (2005). "Chitosan–Alginate Multilayer bBeads for Controlled Release of Ampicillin", *International Journal of Pharmaceutics*, 290: 45-54.
- [72] Li, C., Hein, S., ve Wang, K., (2012). "Chitosan-Carrageenan Polyelectrolyte Complex for The Delivery of Protein Drugs", *ISRN Biomaterials*, 6.
- [73] Lin, Y. H., Liang, H. F., Chung, C. K., Chen, M. C., ve Sung, H. W., (2005). "Physically Crosslinked Alginate/N, O-Carboxymethyl Chitosan Hydrogels with Calcium for Oral Delivery of Protein Drugs", *Biomaterials*, 26: 2105-2113.
- [74] Takka, S., ve Gürel, A., (2010). "Evaluation of chitosan/Alginate Beads Using Experimental Design: Formulation and in Vitro Characterization", *Aaps Pharmscitech*, 11: 460-466.
- [75] Cox, L. A., ve Cornejo, J., (1999). "Sorption of 2, 4-dichlorophenoxyacetic Acid by Model Particles Simulating Naturally Occurring Soil Colloids", *Environ Sci Technol*, 33: 1200-1206.

## ÖZGEÇMİŞ

---

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Selin SARIYER  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 03/11/1991, Lüleburgaz  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**E-posta** : slnsryr@gmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2017
Lisans	Kimya Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2014
Lise	Fen Bilimleri	Lüleburgaz Lisesi	2009

## YAYINLARI

### Bildiriler

1. Sariyer, S., Duranoğlu, D., Doğan, Ö. ve Küçük, İ. (2017). "Adsorption of Bovine Serum Albumin (BSA) on Hydrogel Beads", 1th International Conference on Energy and Thermal Engineering, 25-28 Nisan 2017, İstanbul.
2. Sariyer, S., Duranoğlu, D., Doğan, Ö. ve Küçük, İ. (2017). "The Controlled Release of Bovine Serum Albumin from Polysaccharide Based Hydrogel Beads", 3rd International Conference on New Trends in Chemistry, 28-30 Nisan 2017, Helsinki.

