

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**





KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde

Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : / /

Tezin Savunma Tarihi : / /

Tez Danışmanı :

Trabzon

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun / / gün ve sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan :

Üye :

Üye :

Prof. Dr. Asim KADIOĞLU
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Günümüzde kitosan ve jelatin biyopolimerleri birçok uygulamada farklı amaçlar için kullanılmaktadır. Kitosan sahip olduğu primer amin grupları sayesinde son yıllarda özellikle biyomedikal uygulamalarda ön plana çıkmıştır. Hayvan kemiklerinden ve derisinden elde edilen jelatin lizin, arjinin gruplarına ilaveten glutamik ve aspartik asit yapılarına sahip olup viskozite, elastikiyet ve stabilite özellikleri sayesinde ilaç, gıda ve biyomedikal uygulamalarda kullanım alanı bulmuştur. Kitosan ve jelatinin selülozik materyaller ile olan matriks yapılarında son yıllarda oldukça dikkat çekici hale gelmiştir.

Gerçekleştirilen bu tez kapsamında selüloz/kitosan ve selüloz/jelatin etkileşimleri incelenmiştir. Böylece, benzer malzemelerin kullanıldığı uygulamalar için yapıların birbirleri ile olan etkileşimlerine ilaveten üretilen malzemelerin model yara sıvısı adsorpsiyon performansları araştırılmıştır.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde iki yıl boyunca değerli bilgilerini benimle paylaşan, bu süre boyunca bana göstermiş olduğu anlayış ve sabırdan ötürü danışman hocam sayın Prof. Dr. Sedat ONDARAL' a ve çalışmalarına katmış olduğu destekten ötürü Arş. Gör. Orçun Çağlar KURTULUŞ' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elif ÇELİK
Trabzon 2019

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum ‘Nanofibril selülozun kitosan ve jelatin ile oluşturduğu matriks yapıların model yara sıvısı ile olan etkileşimi’ başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sedat ONDARAL’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 17/06/2019.

Elif ÇELİK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLOLAR DİZİNİ.....	XII
KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ	XIII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Selüloz	2
1.2.1. Selülozun Özellikleri ve Yapısı	3
1.3. Nanofibril Selüloz (NFS)	4
1.3.1. NFS Üretiminde Kullanılan Kaynaklar	5
1.3.2. NFS Üretiminde Kullanılan Cihazlar	6
1.3.2.1. Yüksek Basıncılı Homojenizatör (YBH).....	6
1.3.2.2. Mikro-Sıvılaştırma	7
1.3.2.3. Mikro Öğütme	7
1.3.2.4. Ultrasonik Fibrilasyon	8
1.3.4. NFS Üretiminde Ön işlemler	9
1.3.4.1. Dövme İşlemi	9
1.3.4.2. TEMPO Oksidasyonu.....	10
1.3.4.3. Enzimatik Ön işlemler	11
1.3.4.4. Buhar Patlaması.....	12

1.4. Kitosan.....	12
1.4.1. Kitosan Yapısı	14
1.5. Jelatin.....	16
1.6. Jelatin'in Fizikokimyasal Özellikleri.....	17
1.6.1. Jelatinin İzoelektrik Noktası	17
1.6.2. Jelatinin Moleküler Ağırlık Dağılımı	18
1.6.3. Jel Kuvveti (Bloom)	18
1.6.4. Viskozite.....	19
1.6.5. Erime ve Jelleşme Sıcaklığı-Jelleşme noktası	20
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	21
2.1. Materyaller.....	21
2.2. Metodlar	21
2.2.1. TEMPO Oksidasyonu ile NFS'lerin Hazırlanması	21
2.2.2. Model Yara Sıvısı Hazırlama (MYS).....	24
2.3. Model Film Yüzeylerinin Hazırlanması.....	24
2.3.1. QCM-D Çalışmaları (Quartz Crystal Microbalance with Dissipation –QCM-D).....	25
2.3.2. Karboksil Miktarının Belirlenmesi	27
2.3.3. Aldehit Miktarının Belirlenmesi.....	27
2.3.4. Viskozite ve Molekül Ağırlığının Belirlenmesi	27
2.3.5. Fourier Kızılötesi Dönüşüm Spektroskop (FTIR).....	28
2.3.6. X Işınları Kırınımı (XRD)	28
2.3.7. NFS ve Jelatinin İzoelektrik Noktası.....	29
3. BULGULAR VE İRDELEME	30
3.1. Kitosan ve NFS'nin Özellikleri	30
3.2. OCM-D Çalışması	33
3.2.1. NFS Filmlerinde Su Alma	33
3.2.2. Kitosan ve MYS Adsorpsiyonu	36
3.2.3. Farklı Oranlara Sahip NFS ve Jelatin Karışımları ile Üretilen Model Yüzeylerine MYS Adsorpsiyonunun İncelenmesi	42

3.2.4. pH'ın Jelatin Adsorpsiyonuna Etkisi.....	48
3.2.5. Jelatin ve NFS'nin İzoelektrik Noktası	49
3.2.6. MYS' nin Adsorpsiyon Oranı	50
4. SONUÇLAR.....	52
4.1. NFS/Kitosan Çalışmaları.....	52
4.2. NFS/Jelatin Çalışmaları.....	52
5. ÖNERİLER	54
6. KAYNAKLAR.....	55
7. EKLER	58
ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

NANOFİBRİL SELÜLOZ ESASLI BİYOPOLİMER MATRİKSLERİN MODEL YARA SIVISI İLE OLAN ETKİLEŞİMİ

Elif ÇELİK

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Lif ve Kağıt Teknolojisi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sedat ONDARAL

2019, 57 Sayfa, 9 Ek Sayfalar

Bu çalışmada farklı aldehit ve karboksil miktarlarına sahip nanofibril selülozlar (NFS) kullanılarak silikon oksit sensör yüzeyine model selüloz filmleri hazırlanmış olup bu filmlerin kitosan ve model yara sıvısı ile olan etkileşimleri Kuartz Kristal Mikrotartı (Quartz Crystal Mikrobalance with Dissipation, QCM-D) cihazı ile incelenmiştir. Elde edilen frekans değişim sonuçları, yüksek aldehit içeriğine sahip NFS filmlerindeki kitosan adsorpsiyonun daha yüksek oranda oluşunu göstermiştir. Asetik asit ile ön işleme tabi tutulan kitosanın adsorpsiyonunun ise farklı Δf (frekans değişimi) ve ΔD (enerji yitim değişimi) değişim verdiği bulunmuştur. Yüksek aldehit içeriğine sahip NFS ile üretilen kitosan filmlerinin daha fazla MYS adsorpladığı tespit edilmiştir. Kitosan içeren NFS filmleri kitosan içermeyen NFS filmlerine oranla daha az MYS adsorbe etmiştir. Bunun nedeni, kitosanın NFS' un fonksiyonel gruplarını kapatması ve film yapısında çapraz bağlanma oluşturarak filmin şişmesini engellemesidir.

Farklı oranlarda NFS/jelatin içeren filmlerin MYS ile etkileşiminin incelendiği çalışmalarda ise aldehit oranının fazla olduğu filmlerin daha yüksek oranda MYS adsorpladığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bu filmler için adsorpsiyon hızının daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durum, NFS/kitosan içerisindeki asetal ve amidol bağlarının zaman içerisinde kırılarak film yapısında gevşemeye sebep olmasından kaynaklanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: NFS, QCM-D, MYS, Kitosan, Aldehit miktarı

Master Thesis

SUMMARY

THE INTERACTION OF NANOFIBRILLATED CELLULOSE BASED BIOPOLYMER
MATRIXES WITH MODEL WOUND LIQUID

Elif ÇELİK

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Fiber and Paper Technology Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Sedat ONDARAL
2019, 57 Pages, 9 Appendix

The chitosan adsorption on films prepared by using nanofibrillated cellulose (NFC) with different content of aldehyde group was studied by means of Quartz Crystal Microbalance with Dissipation (QCM-D). Results showed that frequency change (Δf) was higher when the chitosan was sent to NFC film consisting more aldehyde group due to the higher adsorption of chitosan. The (Δf) and dissipation (ΔD) factors completely changed during adsorption of chitosan pre-treated with acetic acid: Δf increased and ΔD decreased, oppositely to un-treated chitosan. After acid treatment, molecular weight and crystallinity index of chitosan decreased addition to change in chemical structure. It was found that more phosphate buffered saline (PBS), as a model liquid for wound exudate, adsorbed to acid treated chitosan-NFC film having more aldehyde groups. The adsorption level of PBS decreased when PBS was injected to chitosan-NFC films because of crosslinking, preventing swelling of film.

PBS adsorption on model films composed of gelatin and NFCs with different aldehyde and carboxyl content were studied by means of QCM-D. The results showed that frequency shift (Δf) increased with increasing gelatin content to 50% in films consisting NFC-1 and NFC-2. The dissipation shift and adsorption rate of PBS followed the same trend. Model films with NFC-1 having 1.22 mmol/g aldehyde and 0.6 mmol/g carboxyl groups adsorbed more PBS than those consisting of NFC-2 with 0.25 mmol/g aldehyde and 1.15 mmol/g carboxyl groups except for film composed of 50% gelatin. However, adsorption rate of PBS was found slower for NFC-1 containing film because breaking acetal and amidol bonds, due to the aldehyde groups in the network of cellulose and gelatin, needed more time.

Keywords: Nanofibrillated cellulose, chitosan, aldehyde content, QCM-D, PBS

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Selüloz molekül yapısı	3
Şekil 2. Farklı yıllık bitkilerden elde edilen NFS yapıları (Kalia vd., 2013).....	5
Şekil 3. Mikro öğütücü (Masuko Sangyo Ltd).....	8
Şekil 4. Anhidroglukozun alkali ortamda TEMPO / NaOCl / NaBr ile oksidasyonu.....	10
Şekil 5. Selüloz, Kitin ve Kitosan' ın kimyasal yapıları	14
Şekil 6. Kitinin NaOH ile deasetilasyonu ve kitosan oluşumu	15
Şekil 7. NFS üretimi.....	23
Şekil 8. APV-1000 yüksek basınçlı homojenleştirici.....	23
Şekil 9. Farklı aldehit içeriklerine sahip üretilen NFS'ler	24
Şekil 10. Döner kaplayıcı üzerinde kuartz kristalin NFS ile kaplanması ve OCM-D tekniği	25
Şekil 11. QCM-D sisteminin şematik gösterimi (Eriksson, 2006).....	25
Şekil 12. NFS'lerin XRD Diyagramları.....	31
Şekil 13. Kitosan-1 ve kitosanın XRD Diyagramları.....	32
Şekil 14. Kitosan-1 ve Kitosan-2'nin FTIR sonuçları	33
Şekil 15. NFS'lerin AFM görüntüleri.....	34
Şekil 16. Model selüloz yüzeylerinin pH 5.5' deki de-iyonize su ile adsorpsiyonu enerji yitimi ve frekans değişimi (A ve B: NFS-1, C ve D: NFS-2, E ve F: NFS-3	35
Şekil 17. Selüloz model yüzeylerinin MYS ile etkileşimi sonrası frekans değişimi	37
Şekil 18. Selüloz model yüzeylerinin MYS ile etkileşimi sonrası enerji yitimi değişimi.....	38
Şekil 19. Model selüloz yüzeyi üzerinde Kitosan-1 ve MYS adsorpsiyonu ile meydana gelen frekans değişimi	39
Şekil 20. Model selüloz yüzeyi üzerinde Kitosan-1 ve MYS adsorpsiyonu ile meydana gelen enerji yitim değişimi	40
Şekil 21. Model selüloz yüzeyleri üzerinde Kitosan-2 ve MYS adsorpsiyonu ile meydana gelen frekans değişimi	41

Şekil 22. Model selüloz yüzeyleri üzerinde Kitosan-2 ve MYS adsorpsiyonu ile meydana gelen enerji yitim değişimi	42
Şekil 23. NFS-3 ve Jelatin karışımlarının MYS ile etkileşim frekans değerleri	43
Şekil 24. NFS-3 ve Jelatin karışımlarının MYS ile etkileşimi enerji yitim grafiği.....	44
Şekil 25. NFS-1 ve Jelatin model yüzeylerinin MYS etkileşimi ile meydana gelen frekans grafiği	45
Şekil 26. NFS-1 ve Jelatin karışım model yüzeylerin MYS ile etkileşim sonucu enerji yitim grafiği	46
Şekil 27. NFS-1 ve NFS-3 jelatin karışımlarının on beşinci dakikadaki Δf ve ΔD grafiği.....	47
Şekil 28. pH' ın frekans ve enerji yitim üzerine etkisi.....	49
Şekil 29. NFS ve Jelatinin İzoelektrik noktası	50
Şekil 30. Adsorbe edilen Sauerbrey kütlelerinin ilk eğimi	51
Şekil 31. NFS-1/jelatin ve NFS-2/jelatin model filmlerinde, MYS adsorpsiyon hızı.....	51

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. NFS'lerin kristalen indeksi, aldehit ve karboksil miktarı	30
Tablo 2. NFS filmlerinin şişmesinden sonraki ortalama Δf ve ΔD değerler	36



KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ

- NFS : Nanofibril Selüloz
YBH : Yüksek Basıncılı Homojenizatör
MYS : Model Yara Sıvısı
MKK : Mikro Kristalen Kitosan
QCM-D : Quartz Crystal Microbalance with Dissipation



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Bitki biyokütlesinin en bol bileşeni olan selüloz, doğal olarak en fazla bitkilerin hücre duvarlarında bulunmaktadır. Ayrıca, selüloz bazı hayvanlar (örneğin tunikatlar), yosunlar ve az sayıda bakteriler tarafından da üretilmektedir. Selüloz, genişliği 5-20 mikron arasında değişen ve uzunluğu 0,5 mikron ile birkaç mm kadar uzanan lifleri oluşturan yarı kristalin bir polisakkarittir. Doğal selüloz yapı malzemelerinde, kağıt sanayinde, tekstil endüstrisinde enerji kaynağı olarak kullanılmıştır. Ancak selülozik malzemelerin hidrofobik polimer ile uyumsuzluğu polimer kompozitlerinde güçlendirici olarak kullanımını azaltan önemli bir durumdur. Mühendislik uygulamalarında ve selüloz bazlı ürünlerde yapısal homojenite ve dayanıklılık gibi özellikler gereklidir. Bu özellikler bitki, ağaç gibi yapılarda hiyerarşik yapıyı güçlendiren temel takviye birimi olan ve nanofibril selüloz olarak adlandırılan yapı blokları ile sağlanabilmektedir. Bu yüzden NFS' lerin doğal selülozlardan üretimi ve polimerler ile kompozit malzemelerde takviye elemanı olarak kullanımı, yüksek mukavemet, sertlik, düşük ağırlık ve biyo uyumlu yapıları gibi eşsiz özellikleri nedeni ile büyük önem kazanmıştır.

Kitosan, kitinin deasetilasyonu ile β -(1,4)-N asetil-D-glukozaminin yapısına dönüştürülmesi ile üretilen bir polisakkarittir. Çoğunlukla deniz kabuğu ve mantarlardan elde edilen kitin, selülozdan sonra dünyada en çok bulunan doğal polimerdir (Rinaudo, 2006). Kitosan, katyonik yapısı nedeni ile gıda, ilaç, kozmetik, tarım ve biyomedikal endüstrilerinde geniş bir uygulama potansiyeline sahiptir (Ondaral vd.,2018).

Kitosanın moleküler yapıda türevlendirilebilmesi bu polimerin antikolestrolemik ve antimikrobiyal aktivite, biyo uyumluluk, biyolojik bozunabilirlik, mantar öldürücü, hemostat, nonkarsinojenik, proteinleri yüksek afinite yara iyileşmesinin simülasyonu, doku mühendisliği iskeleti ve ilaç salınımı gibi biyo medikal uygulamalarda kullanılabilmesine olanak sağlayacak fonksiyonel özellikler sağlamaktadır (Riberio vd., 2009).

Jelatin büyük baş hayvanların kıkırdak, deri ve kemik dokusunda yaygın olarak bulunan kollajenin hidrolizi ile üretilen amfoterik bir protein karışımıdır. Jelatin, biyolojik kökeni ve biyoyumlu olması, kollajene göre daha düşük antijenik etkisi, ucuz olması,

konsantre çözeltilisinin elde edilebilmesi, yüksek oranda saflaştırılabilmesi, fiziksel özelliklerinin kontrol edilebilmesi, farklı çeşit ve kalitelerde geniş bir ürün yelpazesinde bulunabilmesi, amfoterik olması gibi avantajları sebebiyle başta gıda endüstrisi olmak üzere kozmetik, eczacılık ve medikal uygulamalar gibi farklı kullanım alanlarında değerlendirilmektedir (Ulubayram vd., 2001; Bigi vd., 2001; Schrieber ve Gareis, 2007). Bu kullanım alanları içerisinde medikal uygulamalarda ilaç taşıyım sistemleri ve yara örtüsü uygulamaları ön plana çıkmaktadır (Mogoşanu ve Grumezescu, 2014; Ulubayram vd. 2002).

Bu tez kapsamında farklı aldehit ve karboksil gruplarına sahip NFS'lerin kitosan ve jelatin ile olan etkileşimleri incelenmiştir. Bununla birlikte, medikal uygulamalara ışık tutması açısından MYS'nın, NFS/Kitosan ve NFS/Jelatin filmlerine adsorbisyonu da araştırılmıştır.

1.2. Selüloz

Bitki hücre çeperlerinin çok büyük bir kısmını oluşturan polisakkarittir. Doğada en yaygın olarak bitki bünyesinde bulunan selüloz; yapısal olarak %44 karbon, %6,2 hidrojen ve %49 oksijen ihtiva etmekte olup tüm meyve ve sebzelerin bitki hücre duvarlarında, bitki yaprak, gövde ve kabukların da yapısal bir bileşen olarak bulunur (Collins ve Ferrier 1995). Doğada selüloz genellikle hemiselüloz, pektin, balmumu, protein, lignin ve mineral maddeler gibi biyomoleküller ile birlikte bulunur. Selüloz 5.000-15.000 glikoz monomer biriminden oluşan uzun zincirli bir polisakkarittir. Bu moleküller yaklaşık olarak 3-4 nm'lik bir çapa sahip mikrofibrilleri oluştururlar (Fernandes vd., 2011; Hori vd., 2002; Peura vd., 2007). Mikrofibriller hem kristalen hemde amorf bölgelerden oluşur. Selüloz polimerlerinin özellikleri esas olarak polimer zincirinin uzunluğuna ve polimerizasyon derecelerine bağlıdır. Saf selüloz hidroliz edildiğinde yaklaşık olarak % 95 verimle D-glikoza ($C_6H_{12}O_6$) dönüşmekte olup bu yapı selülozun ana yapısal biriminin bir anhidro-glikoz olduğunu göstermektedir. Bu anhidro-glikoz birimleri, defalarca tekrarlanarak bir zincir molekül meydana getirirler. Bu birimlerin tekrarlanma sayısı polimerizasyon derecesi olarak tanımlanmakta olup odunda 600-1000 arasında, doğal selüloz olan pamukta 3500'e kadar yükselir. Selülozun yapısını oluşturan anhidro-glikoz birimi üç tane hidroksil (OH) grubu içermekte olup bu gruplar anhidro-glikoz biriminin 2, 3 ve 6 nolu C' larında yer almaktadırlar. Gerek fonksiyonel açıdan gerek yapısal formasyon açısından oldukça önemli

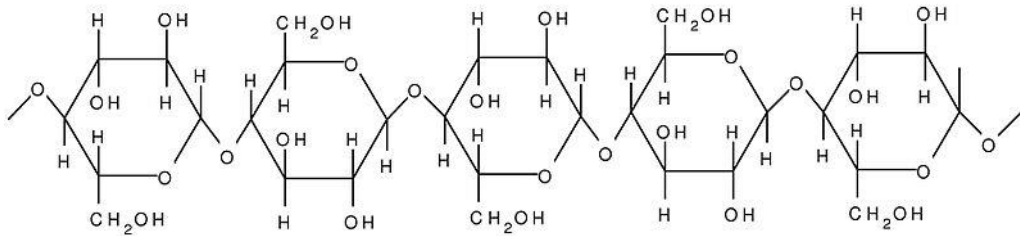
olan bu fonksiyonel grupların farklı modifikasyonlara tabi tutulması selülozun özelliklerinin değiştirilmesi ve ticari değeri olan farklı selüloz türevinin (selüloz nitrat, selüloz asetat ve etil selüloz gibi) üretilmesine imkan sağlamaktadır.

Selüloz çok sayıda hidroksil grubuna sahip olmasına rağmen su, benzen, alkol, aseton, kloroform gibi organik çözücülerde çözünmez. Odun selülozunun %17,5' lik sodyum hidroksit çözeltisi içerisinde çözünmeyen kısmına "alfa selüloz" denmekte olup bu kısım rejenere selüloz ve çeşitli selüloz türevlerinin üretiminde geniş çapta kullanılmaktadır.

Selüloz ve türevleri tekstil, gıda, membran, kağıt ve ağaç ürünlerinde yaygın olarak kullanılmakla birlikte ayrıca ilaç, yara örtüsü, ip yapımında, ambalaj, linolyum destekli gaz ürünlerinde uygulanmaktadır (Popa vd., 1996; Stevens 1998).

1.2.1. Selülozun Özellikleri ve Yapısı

Selüloz, β -(1,4) pozisyonu ile birbirine bağlanmış D-glikoz birimlerini içeren doğrusal bir polisakkarittir. Selüloz molekülünde her bir glukoz ünitesi 180° dönerek oksijen köprüsüyle birbirlerine bağlanmış olup bu sayede selüloz molekülü gerilimsiz ve kimyasal ataklara karşı oldukça dirençli bir yapıya sahiptir (Şekil 1). Selüloz molekülündeki D-glukoz ünitelerinin sayısına "polimerleşme derecesi (DP)" denilmekte olup bu değer pamuk selülozunda 15.000'e kadar ulaşabilmektedir. Hiçbir bozunmaya uğramamış doğal odun selülozunun DP'si 10.000-12.000 arasında değişmektedir (Fengel ve Wegener 1989). Selüloz molekülleri fibriler yapı gösterecek biçimde bir araya gelerek odun hücrelerinin iskeletini oluştururlar. Odunda bulunan selüloz oranı %45-50 arasında değişmektedir (Kırcı, 2009).



Şekil 1. Selüloz molekül yapısı

Moleküler açıdan incelendiğinde, selüloz zincirleri mikrofibrilleri oluşturur ve birkaç mikrofibril bir bitkinin hücre duvarında bulunan selüloz lifini oluşturan daha büyük demetleri oluşturur. Selüloz zincirleri, yaklaşık 5 nm genişliğinde yarı kristalin lifler halinde düzenlenmektedir. Bu lifler hücre çeperinde yaklaşık 20 nm genişliğinde lif ağı şeklinde toplanmaktadır (Mikael Ankerfors, 2015). Selüloz zincirleri, birbirleriyle ve molekül içi hidrojen bağlarının yanı sıra Van der Waals kuvvetleri ile de bir arada tutulmaktadır. Hücre çeperinde hem hemiselüloz (%30) hem de lignin (%25-30) mevcut olup bu polimerler selüloz lifleri etrafında yer alarak bir matris oluşturmaktadır (Albertsson, 2001)

Selüloz zincirleri arasında bulunan hidrojen bağları sebebiyle selüloz çoğu çözücüde çözünmez, ancak selülozun mekanik veya kimyasal arıtma işlemi ile örneğin kuvvetli asit ile hidrolizi veya enzimlerin kullanılması ile selülozik zincirler arasındaki yapıyı kırmak mümkündür (O.Dahlman vd., 2000; E.höglund, 2014).

Selüloz polar bir molekül olup doğal yapısı higroskopiktir. Bu yapısı sebebiyle selüloz yapısına su alıp şişebilmektedir. Bununla birlikte selüloz hidrofilik ve polar özelliklere sahip olmasına rağmen su içerisinde çözünmez. Selüloz, hidrojen bağları ve sıkı bir şekilde düzenlenmiş yapı sayesinde kristal yapı gösterir. Selüloz yapısında farklı kristal dereceleri mevcut olduğu gibi, amorf bölgeler de mevcuttur. Doğal selüloz, köküne bağlı olarak selüloz I α ve I β olarak adlandırılan iki farklı kristal yapıdan oluşur. Odun ve pamukta I β yapısı daha yaygın iken, I α yapısı çoğunlukla yosunlarda ve bakterilerde bulunur. Selüloz I' in çözücüler, asitler veya bazlar ile muamelesi sonucu başka bir kristal yapı olan selüloz II oluşur. Selüloz I, paralel olarak düzenlenen zincirleri içerirken, selüloz II' deki zincirler paralel olmayan bir yapı oluşturmaktadır (P.Zugenmaier, 2006).

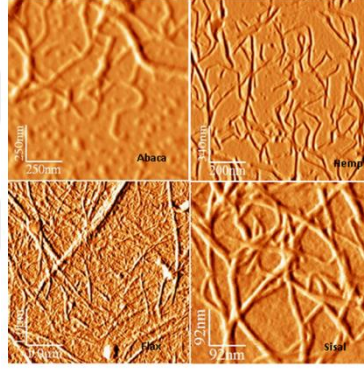
1.3. Nanofibril Selüloz (NFS)

Nanofibril selüloz; uzun, esnek ve birbirine dolanmış selüloz nanoliflerinden oluşmuş, genel olarak eni 10 nm ila 100 nm arasında değişen mikrometresel ölçekte kristal ve amorf bölgelerden oluşan selülozik yapılara verilen isimdir (Turbak AF vd., 1983).

Nanoselüloz veya nanofibril selüloz terminolojisi, ilk olarak 1970' lerin sonunda, Turbak, Snyder ve Sandberg tarafından kullanılmıştır (Turbak AF vd., 1983; Herrick FW vd., 1983). Lif süspansiyonun 500 MPa basınçta ve 80°C' de homojenizatörden geçirilmesi ile elde edilen süspansiyon yarı saydam, yüksek stabilitede jel haline dönüşmüş ve oluşan bu ürüne nanofibril selüloz denmiştir. Nanofibril selüloz esaslı malzemeler yüksek mekanik

dayanımı ve düşük gaz geçirgenlik oranı gibi özelliklerinden dolayı son yıllarda biyomedikal uygulamalar da dahil olmak üzere farklı materyallerin geliştirilmesi ve kullanımında yaygın olarak yer almıştır. Bu kullanım alanlarına ek olarak NFS ayrıca gıda, boya, kozmetik, ecza ürünlerinde reolojik modifiye edici materyal olarak da kullanılabilir.

Aslında NFS terimi, selüloz kökenli ve genel olarak mikrometre ölçeğinde ki boyuna bağlı olarak 5 ila 20 nm arasında değişen enine sahip doğal selülozun en küçük görülebilir üniteleri oluşturan mikrofibriller selüloz ile karıştırılmamalıdır. NFS daha az sıralı bölgelerle ayrılmış, temel fibril demetlerinden oluşan nanofibril ve elemental monokristallerden oluşan selüloz nanokristallerine benzemekte ve sarmal ağ oluşturma kabiliyetine sahiptir. Aşağıda Şekil 2’de farklı yıllık bitkilerden elde edilen NFS yapıları görülmektedir (Kalia vd., 2013).



Şekil 2. Farklı yıllık bitkilerden elde edilen NFS yapıları (Kalia vd., 2013)

1.3.1. NFS Üretiminde Kullanılan Kaynaklar

Farklı selüloz kaynaklarının olması sebebiyle NFS prensip olarak çok geniş kaynaklardan üretilebilir. Selülozun primer varlığı, ormanlardan elde edilen lignoselülozik materyal olan odun olup NFS üretimi için de en önemli hammadde kaynağıdır. Odun hammaddesinin NFS üretiminde hammadde olarak kullanılmasında öncelikle içerisinde bulunan selülozik olmayan ligninin uzaklaştırılması gereklidir. Odun dışında NFS üretimi için kullanılacak diğer hammaddeler tarımsal ürünler, su bitkileri, otlar ve diğer bitkisel materyallerdir (Kalia vd., 2013).

Tarımsal atıklar özellikle yeterli orman kaynaklarına sahip olmayan ülkelerde selüloz liflerin yenilenebilir olmasından ötürü dikkatleri üzerine çekmiştir. Odun ile karşılaştırıldığında odunsu olmayan bu bitkiler düşük lignin içeriğine sahiptir. Ayrıca, yetiştirme sürelerinin kısa olması ve yenilenebilir yapılarından dolayı çevresel faydaları ve liflerin eldesinde düşük enerji tüketimi gibi avantajları ile ön plana çıkmaktadır. Odunsu olmayan bitkilerin bol bulunmasına rağmen toplamadaki yüksek işçilik maliyeti, yüksek silikat oranından dolayı kimyasal hamur üretiminde kullanımı sınırlıdır. Yıllık bitkilerden elde edilen NFS'lerin morfolojisi kaynaklara göre değişmektedir.

1.3.2. NFS Üretiminde Kullanılan Cihazlar

NFS üretiminin temel mekanizması odunsu hücre çeperinin farklı mekanik metotlarla parçalanmasıdır. Çeper yapısındaki nano boyutlu selülozik fibriller ve fibriller arasındaki hidrojen bağları bu mekanik işlemler sonucu serbest hale getirilmekte ve NFS elde edilmektedir. NFS üretiminde kullanılan cihazlar genel olarak yüksek basınçlı homojenizatör, mikro sıvılaştırıcı, mikro öğütücü ve ultrasonik ses olarak adlandırılmakta olup bunlar içerisinde en yaygın olarak kullanılan yöntemler yüksek basınçlı homojenizatör ve mikro sıvılaştırıcıdır.

1.3.2.1. Yüksek Basınçlı Homojenizatör (YBH)

Bu yöntem, hem büyük ölçekli işlemler için hem de laboratuvar ölçekli NFS üretimi için yaygın olarak kullanılmaktadır. YBH tekniği 1980 lerin başında 500-1.000 MPa gibi yüksek basınç altında emülsiyon üretebilmek için piyasaya sürülmüştür. Homojenizasyon, süspansiyonun 100 ila 2.000 MPa gibi basınçlarda çalışan çok dar bir kanal veya menfezden bir piston tarafından geçirilmeye zorlanması ile sağlanmaktadır. Süspansiyonun viskozitesi ve uygulanan basınca bağlı olarak homojenizasyon aralığının genişliği yaklaşık 5 ila 20 μm arasında değişir. Süspansiyonun akış hızı sıvı fazın düşük buhar basıncından düşük statik basınçtaki azalma ile dengelenen dinamik basınçta artışa neden olur. Bu sıvı, homojenleştirme boşluğu yani normal hava basıncı 100 kPa altına düşmesi durumunda hemen çözünen gaz kabarcıklarının oluşmasına yol açar. Gaz kabarcıklarının oluşması ve

patlaması selüloz duvarının dağılmasını sağlayan oyma ve şok dalgalarıyla sonuçlanır (Muller RH vd., 2001; Shamlou vd., 1995). Selüloz lif boyutlarının kısılması; yüksek basınç azalışı, yüksek kopma kuvvetleri aynı zamanda türbilanslı akış ve parçacıkların birbirine çarpışması ile açıklanabilir. Selülozun fibrilasyon derecesi süspansiyonun cihazdan geçirilen homojenleştirme döngülerinin sayısına ve uygulanan basınca bağlıdır. Basınç ne kadar yüksekse, makinedeki her geçiş için lif kesintisi de o kadar yüksek olur (Kalia vd., 2013).

1.3.2.2. Mikro-Sıvılaştırma

Mikro akışkanlaştırıcı sistem makro-mikro/nano boyutlarını elde etmek için kullanılmaktadır. Bu teknoloji, ilaç endüstrisinde geleneksel olarak lipozomal ürünler ve farmasötik emülsiyonlar yapmak, süt ve gıda endüstrisi tarafından homojenleştirilmiş süt ve tatlandırıcı emülsiyonları üretmek için kullanılmıştır.

Mikro sıvılaştırıcı, içerisindeki süspansiyonu yüksek basınç altındaki (150-210 MPa) belirli bir geometriye sahip (Y tipi veya Z tipi) dar bir kanaldan geçmeye zorlar. Sonuç olarak, süspansiyonun akışı yüksek hıza ulaşır ve süspansiyon içerisindeki makaslama hızı 106 sn^{-1} 'i aşarak yoğun bir partikül çarpışması meydana gelir. Böylece, selüloz liflerinin nanofibriler yapılara ayrılması sağlanır. Sürekli işlem hacminde çalışan homojenizatörün aksine, mikro akışkanlaştırıcı sabit makaslama hızında çalışır ve bu mikro sıvılaştırıcının tıkanma ihtimalini azaltır. Ayrıca, etkileşim haznesinin sabit geometrisi üretimin tekrar edilebilirliğini arttırmaktadır. Fibrilasyon derecesini arttırmak için farklı boyutlardaki hazneleri kullanmak ve mekanik işlemi tekrar etmek gereklidir. Yüksek basınçlı homojenizatör gibi mikro-sıvılaştırıcı da NFS üretimi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Aulin vd., 2010; Ahola vd., 2008; Zimmerman vd., 2010).

1.3.2.3. Mikro Öğütme

Mikro öğütmede, seyreltik selülozik lif süspansiyono oluklu diskler arasındaki bir statik, diğeri ise yaklaşık 1,500 dev/dak'da dönen iki dişli disk arasından geçirilir (Şekil 3). Bu diskler, lifleri daha alt yapı bileşenlerine parçalayabilecek yiv ve bıçaklara sahiptir. Sert yüzeyler ile temas ve çevrimsel gerilim liflerde defibrilasyona neden olur. Tipik olarak, mikro öğütücüdeki diskler için kullanılan malzemeler, silikon karbit içeren gözeneksiz reçinelerden üretilmektedir. Diskler, farklı grit sınıflarında ve konfigürasyonlarda üretilerek

işlem sırasında akış şekli farklılaştırabilir. Fibrilasyon derecesi diskler arasındaki mesafeye, disk kanallarının morfolojisine ve öğütücüdeki geçişlerin sayısına bağlıdır. Homojenizatörde olduğu gibi mikro öğütmede de lif süspansiyonunun taşlar arasından farklı sayılarda geçmesi gereklidir. Mikro öğütücü cihazının en temel avantajı, lif boyutlarının kısaltılması için ön muamele gibi diğer işlemlere gerek duyulmamasıdır. Buna rağmen bu yöntemde, odun hamuru liflerinin yivleri ve griti aşındırması sebebiyle disk bakımı ve değişimi bir dezavantaj olabilmektedir (Kalia vd., 2013).



Şekil 3. Mikro öğütücü (Masuko Sangyo Ltd)

1.3.2.4. Ultrasonik Fibrilasyon

Ultrasonik fibrilasyon işlemi ses enerjisinin fiziksel ve kimyasal sistemlere uygulanmasıdır. Sıvılarda, yüksek frekanslı titreşim büyüyen ve patlayan kabarcıklar oluşturarak akustik kavitezyon (boşluk) oluşumuna neden olur. Ultrasonik ışık yayma sırasında kavitezyon tarafından sağlanan enerji, hidrojen bağı enerjisi skalasında bulunan 10-100 kJ / mol dahilinde kontrol edilebilir. Böylece ultrasonik etki mikron boyutlu selüloz liflerini yavaş yavaş nanoliflere ayırabilmektedir. Temel ultrasonikasyon teknolojisi 50 yılı aşkın bir süredir geliştirilmiş ve nano boyut düzeyinde kullanımı yaygın olarak benimsenmiştir. Bu teknikte yaklaşık 30 nm'den birkaç mikrometre arasında değişen çaplarla, mikro ve nano ölçekli lifler elde edilmiştir. Bu yöntemler ile elde edilen bitki liflerinin çok tabakalı yapısı ve fibriller arası hidrojen bağları nedeni ile oluşan lif kümelenmesi daha büyük boyut dağılımlarını oluşturduğu belirtilmiştir (Wang vd., 2009).

Son yıllarda, selüloz mikro-liflerinin ayrılması için mekanik parçalanmaya alternatif olarak ultrasonik ışık yayma kullanılması sayısız araştırma konusunun temelini oluşturmuştur.

Kimyasal ön işlemler ve yüksek yoğunluklu ultrasonik fibrilasyon, 5-20 nm genişliğinde ve birkaç mikrometre uzunluğunda nanofibrillenmiş fraksiyon verimini arttırmıştır.

1.3.4. NFS Üretiminde Önlemler

Kağıt hamurundan NFS üretiminde esas olarak iki problemle karşılaşılmaktadır:

- 1) Kağıt hamuru liflerinin yüksek basınç geçişleri sırasında YHB’de meydana gelen tıkanma,
- 2) Lifin delaminasyonu süresince cihazların yüksek enerji sarfiyatlarıdır.

Bu yüksek enerji girdileri, NFS'yi serbest bırakmak ve lifler arasındaki hidrojen bağlarını hem kristalin hem de amorf bölgelere ayırmak için gereklidir (Ericksen vd., 2008). Bu nedenle endüstriyel üretimlerde çözülmesi gereken en önemli konular NFS üretimi sırasında enerji talebini azaltmak ve üretim sürecini kolaylaştırmaktır. Bu sorunları çözmek için ön işlemler uygulanarak hücre duvarının etkili bir şekilde nano boyutta fibrillere dönüştürülmesi sağlanmaktadır (Kalia vd.,2013).

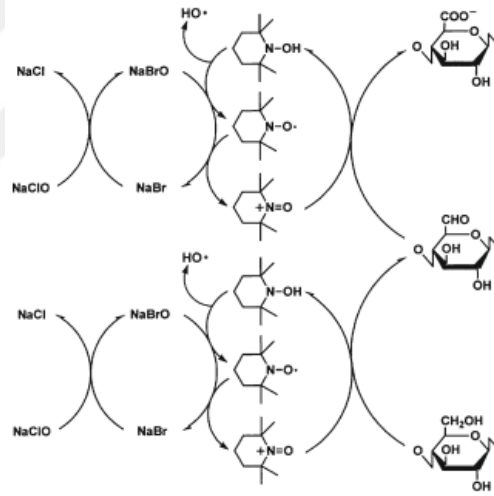
1.3.4.1. Dövme İşlemi

Mekanik dövme, homojenizasyon işleminden önce enerji girdisini azaltmak ve defibrilasyona yardımcı olmak için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu amaçla NFS üretiminden önce diskli rafinörler, PFI değirmenleri ve Valley dövücüsü kullanılmaktadır (Andresen vd., 2006; Iwamoto vd., 2005; Nakagaito vd., 2005). Bu işlem sırasında, seyreltilmiş lif süspansiyonu, rotor ve stator diskleri arasındaki boşluk boyunca ezilir. Bu disklerin yüzeyleri, çubuklar ve oluklar ile donatılmıştır. Mekanik işlem liflerin morfolojisinde ve boyutunda geri dönüşü olmayan değişiklikler meydana getirir (d’A Clark, 1954).

Rafinör barları arasında yoğun mekanik kesme etkisi altında kalan selüloz liflerinin hücre duvarındaki dış kısmında bulunan birincil (P) ve ikincil (S1) tabakalarında fibrilasyona neden olur. Bununla birlikte, ilerleyen aşamada mekanik dövme, mikrofibril yapısının zarar görmesine neden olarak molar kütle ve kristallik derecesini azaltır (Shibata ve Isogai, 2003).

1.3.4.2. TEMPO Oksidasyonu

Mekanik ön işleme göre NFS üretimini kolaylaştırmaya yönelik daha ümit verici bir yöntem olan bu kimyasal ön işlem, mikrofibrillerin üzerinde negatif yüklü birimlerin oluşturulması esasına dayanmaktadır. Bu yöntemde kayda değer araştırmalar Saito ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (Saito vd., 2007). Bu sistemin, temel bileşeni olan TEMPO (2,2,6,6 tetra-metil-piperidin-1-oksil) katalizörlüğünde NaBr ve NaClO ile selülozik fibrillerin oksidasyonu sonucunda birincil alkollerin aldehitlere ve karboksilik asitlere dönüştürülmesi işlemidir. Sulu ortamda TEMPO, sodyum hipoklorit (NaOCl) gibi primer okside edici kimyasal varlığında karbonhidratların primer gruplarını karboksilat (COO-) fonksiyonel gruplarına dönüştürür (Şekil 4). TEMPO oksidasyonu, yaklaşık pH 10-11'de bazik ortamda ve düşük sıcaklıkta (4°C) veya asidik koşullarda (pH 4.5-5.0) 50-60°C sıcaklıkta gerçekleştirilebilir (Kalia vd., 2013).



Şekil 4. Anhidroglukozun alkali ortamda TEMPO / NaOCl / NaBr ile oksidasyonu (Wang vd., 2007)

NFS üretiminde yüksek basınçlı homojenizatör ile karşılaştırıldığında, TEMPO oksidasyonu ile ön işlem enerji tüketim oranını 100 kattan daha fazla oranda azaltmıştır. TEMPO oksidasyonu ile NFS üretimi sırasında hücre çeperinin delaminasyon sürecinde meydana gelen değişiklikler üzerine birkaç hipotez öne sürülmüştür:

1. Oksidasyon ile oluşan negatif yüklerin, hücre çeperi içerisindeki mikrofibriller arasında itme kuvveti meydana getirmesi ile hidrojen bağlarıyla birbirine bağlı olan bu yapılar arasındaki kohezyonunun zayıflaması
2. Oksidasyon işleminin liflerin hidrasyonunu ve şişmesini sağlayarak, onları daha esnek hale getirmesi ve yapı içerisinde kristalin bölgeyi daha kolay erişilebilir kılması
3. Oksidasyon işleminin hücre çeperi içerisindeki birincil (Primer) ve S1 tabakalarını esneterek homojenleştirme işlemi sırasında S2 tabakasını daha erişilebilir hale getirmesi, dolayısıyla yapının fibrilasyona daha yatkın hale gelmesi
4. Oksidasyon, amorf bölgede zincir bölünmesiyle sonuçlanır ve bu da lif hücre duvarı içerisinde mekanik fibrilasyonu kolaylaştırır (Kalia vd., 2013).

Oksidasyon seviyesi, enerji girdisini azaltmada kritiktir ve nanofibrilasyon veriminin yanı sıra NFS süspansiyonunun şeffaflık derecesinde etki eder. NFS'yi serbest bırakmak ve homojenleştiricinin tıkanmasını önlemek için yaklaşık olarak 300 $\mu\text{mol/g}$ karboksil içeriği gereklidir (Besbes vd., 2011). Ayrıca, 500 $\mu\text{mol/g}$ karboksil içeriği üzerinde, nanofibrilasyonda küçük değişiklikler gözlemlenebilir. Oksidasyon derecesinin değişmesi, NFS boyutunda değişmesine neden olur. TEMPO-oksidasyonunda oksidasyon miktarı arttıkça, NFS uzunluğunda önemli bir azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir (S. Kalia vd., 2013)

TEMPO-oksidasyon şartlarının ve mekanik fibrilasyon işlemlerinin NFS uzunluğuna ve polimerizasyon derecesine etkisinin viskozite ölçümleriyle belirlendiği çalışmada, NaClO ilavesindeki artışın DP ve ortalama lif boyunu azalttığı belirlenmiştir. Karboksil miktarının 3 mmol/g olması durumunda liflerin nanofibrillere dönüştürülmesinde neredeyse enerjiye ihtiyaç duyulmadığı kaydedilmiştir (Tejado vd., 2012).

1.3.4.3. Enzimatik Ön İşlem

Kimyasal ön işleme alternatif, çevre dostu enzim ile ön işlemin homojenizatörden geçiş sayısını azaltarak NFS üretimin maliyetini ciddi oranda azalttığı belirlenmiştir (Kalia vd., 2013). Enzimatik ön işlem ile NFS üretimi üzerine Çelik vd. (2010) tarafından yapılan bir patent çalışmasında, mekanik işlemlere alternatif olarak enzimatik ön işlem ardından

homojenizasyon, öğütme veya mikro sıvılaştırıcı gibi yüksek kesme kuvvetleri uygulanan cihazlarla NFS üretiminin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği ve enerji veriminin de yüksek olduğu tespit edilmiştir.

NFS üretiminde en yaygın olarak kullanılan enzimler endoglukanazlar, sellobiyohidrolazlar veya ekzoglukanazlar ve glukozidazlar olup ticari olarak selüloz kapsamaktadır. Enzimatik ön işlem uygulamasında temel mekanizma, hücre çeperinin mekanik olarak parçalanmasından önce selüloz yapısında bulunan bağların enzimler vasıtasıyla kırılması ve yapının yumuşamasıyla mekanik işlemlerde hücre çeperinin kolayca ayrılarak NFS' nin ortaya çıkarılmasıdır (Kopcke, 2008).

1.3.4.4. Buhar Patlaması

Buhar patlama işlemi ile NFS üretimi genel olarak 180-210 °C sıcaklık arasında selülozun kısa süre buharda pişirilmesi ve ani basıncın serbest bırakılması ile gerçekleştirilmektedir. Basıncın boşaltılması sırasında patlamayla meydana gelen basınç azalması ve suyun buharlaşması materyalin parçalanmasına neden olan termomekanik bir kuvvet yaratır. Bu etki lignoselülozik yapının önemli ölçüde parçalanmasına, hemiselüloz fraksiyonunun hidrolizine, lignin bileşenlerinin parçalanmasına ve selüloz yapısının fibrillenmesine neden olur (Cristobal, 2008). Bu yöntemin selüloz mikrofibrillerinin etkili bir şekilde serbest bırakılabilmesi için birkaç kez tekrar edilmesi gerekmektedir. Buhar patlamasının avantajları, önemli ölçüde daha düşük çevresel etkiye sahip olması, düşük enerji tüketimi, düşük sermaye yatırımı ve daha az tehlikeli kimyasalların kullanımını içermesidir (Kalia vd., 2013).

1.4. Kitosan

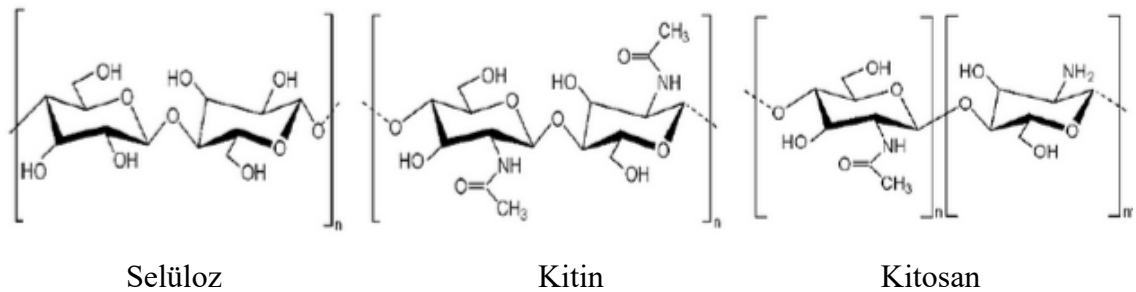
Kitosan ilk kez Bradconnot tarafından 1811 yılında tanımlanmış olan kitinin (β -1,4-poli-N-asetil-D-glukozamin) kısmen veya tamamen deasetilasyonu ile elde edilen antimikrobiyal özelliğe sahip bir heteropolisakkarittir (Muzzarellia vd., 2012; Kong vd., 2010). Kitinin deasetilasyonu sonucu elde edildiği için kitosan, farklı oran ve sayıda 2-amino-2-deoksi- β -D-glukopiranoz (D-glukozamin, deasetile form, yaklaşık % 80) ve 2-asetamido-2-deoksi- β -D-glukopiranoz (N-asetil-D-glukozamin, asetile form, yaklaşık % 20) moleküllerinin β -(1,4) bağı ile bağlanması sonucu oluşan düz zincirli bir kopolimerdir.

Bu iki molekülün sayısı ve dizi içerisindeki sırası kitosanın fiziko-kimyasal ve biyolojik özelliklerini belirler (Prashanth vd., 2007). Kitin ve kitosanın ayrımında kesin bir ölçü bulunmamasına karşın kitosan terimi, genellikle deasetilasyon derecesi %50'den fazla olan 2-amino-2-deoksi-β-D-glukopiranoz ve 2-asetamido-2-deoksi-β-D-glukopiranozun kopolimerleri için kullanılmaktadır (Younes Vd., 2015; Varma Vd., 2004). Deasetilasyon derecesi, deasetile edilmiş amino grupları (-NH₂) sayısının, asetil-amino grupları (-NH-CO-CH₃) sayısına oranı şeklinde tanımlanmaktadır.

Kitosan serbest radikalleri söndürerek veya metal iyonlarını bağlayarak antioksidan aktivite göstermektedir. Kitosandaki hidroksil (-OH) ve amino (-NH₂) grupları stabil olmayan serbest radikallerle reaksiyona girerek onların stabil moleküllere dönüşmesini sağladıkları ve metal iyonlarını bağladıkları için antioksidan aktiviteden sorumlu temel fonksiyonel gruplarıdır. Doğada yaygın ve bol miktarda bulunması, canlılara karşı toksik etki göstermemesi, mikroorganizmaları inhibe etmesi, biyolojik olarak parçalanabilmesi, biyo-uyumlu olması, kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından diğer birçok biyopolimere göre üstün özellikler göstermesi nedeniyle kitosan başta gıda olmak üzere su, ilaç, kozmetik, ziraat, tıp, kâğıt, tekstil, mikrobiyoloji, immünoloji, biyoteknoloji, ters osmoz membranları gibi birçok alanda kullanım olanağı bulmaktadır. Bu uygulama alanlarına ek olarak doğal bir polimer olması sebebiyle kitosan biyomedikal uygulamalarda da sıklıkla kullanılmaktadır. Yapay böbrek membranı, absorbe edilebilir dikiş ipliği, hipokolestrol kimyasalı, ilaç taşınım sistemi, enzim immobilizatörü uygulama alanları kitosanın biyomedikal uygulamalarına örnektir. Bunun yanında, yara iyileştirme prosesin de kitosanın etkili bir polimer olduğu belirtilmiştir (Singh ve Ray, 2000). Ayrıca kitosanın kanama engelleme özelliğinin normal hemostatik kaskattan farklı bir yapı sergilediği ortaya konmuştur. Kitosanın kanama engelleme özelliği molekül ağırlığına, deasetilasyon derecesine ve hücre yüzeylerindeki negatif yüklerle etkileşimde bulunan polikasyonik yapısına bağlı olduğu belirtilmiştir (Mercy vd., 2012; Malette vd., 1983). Riberio vd. (2009) ve Jayakumar vd. (2011) yapmış oldukları çalışmalarda kitin veya kitosandan hazırladıkları yara örtüsü materyalinin yara bölgesinde hemostat etkisiyle birlikte yara dokularının iyileşme süresini hızlandırdığını belirtmişlerdir.

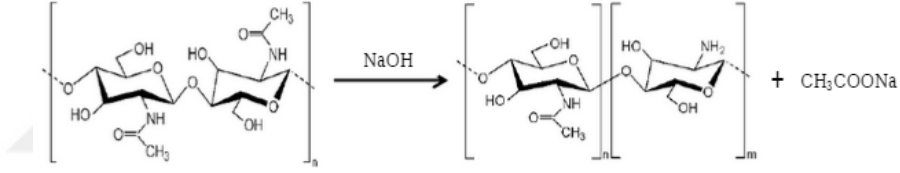
1.4.1. Kitosan Yapısı

Yengeç, karides, ıstakoz gibi kabuklu deniz ürünlerinin dış iskeletlerinde, küf ve maya gibi mikroorganizmaların hücre duvarlarında doğal olarak bulunan kitin, selülozdan sonra doğada en çok bulunan polisakkarittir. Katı formda kitin zincirleri, hidrojen bağlarıyla bağlandığı için baskın bir kristalin yapıya sahiptir (Şekil 5). Kitosan, kitinin alkali koşullarda (% 40-50'lik sodyum hidroksit) 90-150°C'de 4-5 saat süreyle kısmen veya tamamen deasetilasyonu (Şekil 6) ya da kitin deasetilaz enzimi vasıtasıyla enzimatik deasetilasyonu ile elde edilen ve bu nedenle β -(1,4) bağı ile bağlanmış, değişen oran ve sayıda D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozaminden oluşan düz zincirli bir kopolimerdir. Endüstriyel kitosan üretiminde enzimatik yöntemden ziyade ucuz ve yüksek oranda üretime uygun olması nedeniyle konsantre NaOH ile gerçekleştirilen kimyasal yöntem tercih edilmektedir. Kitinin deasetilasyon işleminde Potasyum hidroksite (KOH) göre çok daha fazla etkin olduğu için NaOH tercih edilmektedir. Kimyasal yöntem ile deasetilasyon işleminde asidik koşullar da kullanılabilir; ancak glukozidik bağı asidik koşullara çok duyarlı olması nedeniyle aşırı depolimerizasyon gerçekleşeceği için asidik koşullar tercih edilmemektedir. NaOH uygulaması ile deasetilasyonun yanı sıra kısmi depolimerizasyon işlemi de gerçekleşebilmektedir. Bu nedenle deasetilasyon koşulları, elde edilen kitosanın deasetilasyon derecesini, asetil gruplarının zincir boyunca dağılım şeklini, molekül ağırlığını ve çözeltinin viskozitesini belirler (Younes, vd., 2015; Dash vd., 2011). Kitosan çözeltisinin viskozitesi, konsantrasyon ve deasetilasyon derecesindeki artış ve sıcaklıktaki düşüş ile artmaktadır. Ayrıca viskozite, lizozim enzimiyle parçalanma, yaraları iyileştirme gibi kitosanın biyolojik özelliklerini de etkileyebilmektedir.



Şekil 5. Selüloz, Kitin ve Kitosan' ın kimyasal yapıları

Kitinin kristalin yapıda bulunması nedeniyle elde edilen kitosandaki asetil grupları zincir boyunca heterojen bir dağılım sergilemektedir. Asetilasyon derecesi genellikle % 5–30 arasında değişmekte ve alkali uygulaması birkaç kez tekrar edildiğinde tam bir deasetilasyon sağlanabilmektedir. Kitinin en önemli özelliklerinden biri ağırlıkça % 6,89 oranında asetil-amino grubu (-NH-CO-CH₃) şeklinde azot içermesidir. Azot oranı (-NH₂ ve -NH-CO-CH₃ şeklinde) ağırlıkça % 7'nin üzerine çıktığında kullanımı tercih edilen terim kitosandır. Kitosan temel olarak molekül ağırlığı ve asetilasyon derecesi ile karakterize edilmekle birlikte azot içeriği de karakterizasyonda önem taşımaktadır. Ticari kitosanların deasetilasyon derecesi genellikle % 85'ten büyük (asetilasyon derecesi <% 15) olup molekül ağırlıkları 100 ile 1000 kDa arasında değişmektedir. Üretim koşullarına bağlı olarak kitosanın molekül ağırlığı değişkenlik gösterdiğinden, molekül ağırlığı 50 kDa ve daha küçük olanlar düşük, 50-150 kDa arasında olanlar orta ve 150 kDa ve daha büyük olanlar ise yüksek molekül ağırlıklı olarak değerlendirilmektedir (Goy vd., 2009).



Şekil 6. Kitinin NaOH ile deasetilasyonu ve kitosan oluşumu

Amino grubu kitosana metalleri bağlama yani şelatlama özelliği kazandırmaktadır. Dolayısıyla atık sularda ağır metallerin arıtılmasında kitosan kullanımı önem arz etmektedir. Kitosanın şelatlama yeteneğinin diğer doğal polimerlere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Selüloz, dekstran, aljinik asit, agar, agaroz, pektin, karajenan gibi doğal olarak bulunan polisakkaritler nötral veya asidik olmalarına karşın kitosan bazik bir polisakkarittir. Bu özellik kitosanın film oluşturmasında, metal iyonlarını şelatlamasında ve polioksi tuz oluşturmasında önemli rol oynamaktadır. Ayrıca polisakkarit iskeletinde bulunan asetil-amino grupları da kitosana farklı özellikler kazandırmaktadır. Örneğin kitosanın toksik etki göstermemesi, film ve lif oluşturma özelliği, metal iyonlarını adsorbe etmesi, süspansiyonları veya çözünen maddeleri çöktürmesi gibi özgün biyolojik aktiviteleri asetil-amino gruplarından kaynaklanmaktadır. Kitosanın çözünürlüğü önemli parametrelerden biri olup polimerin molekül ağırlığına, üretimde kullanılan kitinin kaynağına, ortamda metal iyonlarının bulunup bulunmamasına, çözücü olarak kullanılan asidin tipi ve

konsantrasyonuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Molekül ağırlığı ve polimer zincirlerinin metallerle çapraz bağlanma oranı artıkça çözünlüğü azalmaktadır. Kitosan suda, organik çözücülerde, nötral ve alkali pH'larda çözünmezken asetik asit, formik asit, laktik asit gibi seyreltik organik asit solüsyonlarında ($\text{pH} < 6$) çözünür. Ancak düşük molekül ağırlığına sahip kitosan oligosakkaritleri su içerisinde de çözünebilmektedir. Asidik ortamlarda çözünen kitosanın amino grupları proton bağlayarak pozitif yüklü hale geçer. Kitosanın fiziko-kimyasal özellikleri deasetilasyon derecesi ve molekül ağırlığı ile değişmektedir. Kitosanın molekül ağırlığı ve deasetilasyon derecesi ise kitinin kaynağına, izolasyon yöntemine, NaOH ile işlem görme süresine, konsantrasyonuna ve işlem sırasındaki sıcaklığa bağlıdır. Kitosanın stabilitesi depolama sıcaklığı ve süresinden olumsuz yönde etkilenmekte olup pH 7 ve üzerinde, oda sıcaklığında uzun süre bekletildiğinde stabilitesi ve antimikrobiyal aktivitesi azalmaktadır (No vd., 2006).

1.5. Jelatin

Jelatin yaygın olarak büyük baş hayvanların kıkırdak, bağ, deri ve kemik dokusunda bulunan protein olan kollajenin hidrolizi ile üretilen bir protein karışımıdır (Khakalo vd. 2014). Hidroliz işlemi ile moleküller arasındaki hidrojen bağları ve diğer çapraz bağlar zayıfladığı gibi bazı amino asitler arasındaki kovalent bağlar da kopar ve bu sayede daha küçük moleküllü yapılar ortaya çıkar. Böylece, 300- 350 kDa olan kollojenin molekül ağırlığı jelatinde 10-65 kDa'a kadar düşmektedir. Jelatin yapısının büyük bir kısmı %85-92 arasında proteinlerden oluşmakta olup geri kalan kısım mineral tuzları ve kurutma sonrası dahi yapıda bulunabilen sudan oluşmaktadır (Schrieber ve Gareis, 2007).

Jelatin üretiminde, hayvansal dokular, asit ya da alkali çözeltilerle muamele edildiği için, uzun amino asit zincirleri parçalanarak daha kısalaşırken aralarındaki bağlar da zayıflamakta ve su molekülleri kolayca fibrillerin arasına girebilmektedir. Böylece, ılık suda bile çözünebilen yeni bir yapı meydana gelmektedir. Enzimler de bazen bu kimyasal maddelerle birlikte veya bu maddelere alternatif olarak kullanılabilirler. Ancak burada yalnızca bazı özel enzimler kullanılmaktadır; çünkü proteini hidrolize edebilen birçok enzim, kollajeni parçalayamamaktadır. Sadece spesifitesi çok yüksek kollajenaz enzimleri, doğal kollajeni parçalayabilir. Bu şekilde kimyasal veya biyokimyasal denatürasyon (hidroliz) metotları kullanılarak kollajenin muamele edilmesi işlemine, jelatin endüstrisinde "kondisyonlama" adı verilmektedir. Bu yöntemle elde edilen ürünlere jelatin

hidrolizatları denilmektedir ve gıda endüstrisinin birçok alanında bu tür ürünlerden faydalanılmaktadır. Jelatin kimyasal yapı açısından zayıf poliamfolit özellik göstermektedir. Ana yapısının yaklaşık olarak %13' lük kısmı pozitif (lisin ve arjinin), %12' lik kısmı negatif (glutamik asit ve aspartik asit) ve %11'lik kısmı ise hidrofobik yapıdadır (lösin, isolösin, metionin, valin) (Khakalo vd., 2014).

Jelatin biyolojik kökeni ve biyoyumlu olması, kollajene göre daha düşük antijenik etkisi, ucuz olması, konsantre çözeltisinin elde edilebilmesi, yüksek oranda saflaştırılabilmesi, fiziksel özelliklerinin kontrol edilebilmesi, farklı çeşit ve kalitelerde geniş bir ürün yelpazesinde bulunabilmesi, amfoterik bir biyopolimer olması gibi avantajları sebebiyle başta gıda endüstrisi olmak üzere kozmetik, eczacılık ve medikal uygulamalar gibi farklı kullanım alanlarında değerlendirilmektedir (Ulubayram vd., 2001; Bigi vd., 2001; Schrieber ve Gareis, 2007). Bu kullanım alanları içerisinde medikal uygulamalarda ilaç taşınım sistemleri ve yara örtüsü uygulamaları ön plana çıkmaktadır (Mogoşanu ve Grumezescu, 2014; Ulubayram vd., 2002). Kanama durdurucu özelliği sayesinde jelatinin hemoasetat sünger olarak üretimi 1945 yılında gerçekleştirilmiştir (Schonauer vd., 2004). Jelatinin medikal uygulamalardaki önemli bir diğer kullanımı ise yara örtüsü uygulamalarıdır. Ulubayram vd. (2001) epidermal büyüme faktörü ilave ettikleri jelatin esaslı köpüklerin yara örtüsü uygulamalarında olumlu etki gösterdiğini belirtmiştir.

1.6. Jelatin'in Fizikokimyasal Özellikleri

1.6.1. Jelatinin İzoelektrik Noktası

Jelatinin aminoasit kompozisyonu kollajenin aminoasit kompozisyonundan farklılık göstermekte olup bu farklılık kollajenin alkali ön işleminden kaynaklanmaktadır. Alkali ile muamelede yapı içerisindeki iyonize olmamış glutamin ve asparajin aminoasit kalıntıları karboksil gruplarına dönüşerek amonyak açığa çıkarmakta ve jelatin asidik karakter kazanmaktadır. Bu nedenle asit ile ön işlem görmüş jelatinin izoelektrik noktası 7.0-9.4 arasında iken alkali ön işlem görmüş jelatinin izoelektrik noktası 4.8-5.5 arasında olmaktadır (Ledward, 2000).

1.6.2. Jelatinin Moleküler Ağırlık Dağılımı

Jelatin, farklı molekül ağırlıklarına sahip polipeptit zincirlerden oluşmaktadır. Molekül ağırlık dağılımı, kaynaktaki moleküller arası ve içi kovalent bağlara, jelatinde hidroliz olmadan kalmış polipeptitlerdeki çapraz bağlara ve polipeptit zincirlerinin uzunluğuna göre değişmektedir. α zincirleri arasındaki kovalent bağlar, jelatin üretimi sırasında bozulmadan kalabilmekte, böylece iki α -zincirinden oluşan β zincirinin, üç α -zincirinden oluşan γ zincirinin ve üçten fazla α zincirinin kovalent bağlarla oluşturduğu yüksek ağırlıktaki moleküller jelatinde bulunabilmektedir. Ayrıca kimyasal ön işlem ve ekstraksiyon sırasında primer yapıdaki peptit bağları az da olsa kopabilmekte ve α -zincirinin alt üniteleri de ortamda bulunabilmektedir (Schrieber vd., 2007; Eysturkaro vd., 2010). Jelatinde bulunan γ zincirleri 230.000-340.000 Da aralığında, β zincirleri 123.000-230.000 Da arasında ve α zinciri ise 80.000-125.000 Da arasında olmaktadır. Bu fraksiyonlar dışında daha düşük molekül ağırlığına sahip α zincirinin alt üniteleri de ortamda bulunabilmektedir. Bunlar ünite-1 (49.999- 80.000 Da), ünite-2 (35.000-49.000 Da), ünite-3 (25.000-35.000 Da) ve ünite-4 (10.000-25.000 Da) aralıklarında ortamda bulunabilmektedir. Bu fraksiyonlar şekil ve büyüklük açısından heterojen bir şekilde bulunmaktadır. 150 bloom sertliğindeki alkali ile ön işlem görmüş bir kemik jelatininin, % 16,5 γ zinciri, % 12,2 β zinciri, % 32,4 α zinciri ve yaklaşık % 38,5 oranında α alt birimlerini yapısında bulundurduğu bildirilmiştir (Ledward, 2000). Yapılan çalışmalar, molekül ağırlık dağılımının jelatinin bloom değerini, viskozitesini ve erime/jelleşme sıcaklık değerlerini etkilediğini göstermektedir. Yüksek molekül ağırlığındaki fraksiyonlar, yüksek viskozite ve jel kuvvetinin belirleyicisi olarak gösterilmektedir. Bu iki özellik; toplam α , β ve daha yüksek molekül ağırlığındaki fraksiyonların oranı ile iyi bir korelasyon göstermektedir (Ledward, 2000).

1.6.3. Jel Kuvveti (Bloom)

Bloom değeri, jelatin jel sertliğinin veya direncinin bir ifadesi olup endüstriyel olarak jelatinin sınıflandırılmasına yarayan en önemli kalite özelliği olarak gösterilmektedir. Jelatinin bloom değeri arttıkça pazar değeri de yükselmektedir. Bloom değeri, tekstür analiz cihazında ölçümü yapılan; 12.7 mm çapında ve düz tabanı olan bir silindirin jel üzerinde 4 mm derinliğe inmesi için gerekli ağırlık olarak tanımlanmaktadır. Bloom değeri olarak 150'den küçük olanlar düşük, 150-220 arasında olanlar orta ve 220'den yüksek olanlar ise

yüksek bloom değerli jelatin olarak değerlendirilmektedir. Sanayide genelde 250-260 bloom arasında olan jelatinler tercih edilmektedir (Badii vd., 2006).

1.6.4. Viskozite

Viskozite, jelatinin en önemli ikinci kalite özelliği olarak erime sıcaklığı üzerindeki sıcaklıklarda belirlenmektedir. Standart olarak viskozite, 60°C sıcaklıkta ve %6,67 konsantrasyonun da 100 ml jelatin solüsyonunun U-tüp viskozimetredeki akış süresi hesaplanarak belirlenmektedir. Diğer taraftan viskozite, döner vizkozimetre, reometre veya diğer benzeri cihazlar kullanılarak farklı sıcaklık ve konsantrasyonlar da ölçülebilmektedir. Jelatin solüsyonunun viskozitesi, jelatin molekülleri arasındaki hidrodinamik etkileşimlere bağlı olmaktadır. Piyasada bulunan jelatinlerin viskoziteleri 2-7 cP arasında değişmekte olup bazı özel üretim jelatinlerin 13 cP olabildiği bildirilmektedir. Düşük viskoziteye sahip jelatinden üretilen jellerinin zayıf ve yumuşak olduğu, yüksek vizkoziteli jelatinlerin ise sert ve daha esnek olduğu bildirilmektedir.

Jelatin üretimi sırasındaki kimyasal ön işlemlerde kullanılan asit veya alkali konsantrasyonunun viskoziteyi etkilediği belirtilmektedir. Bu aşamada asit ile ön işlem görmüş jelatinin aynı molekül ağırlığındaki alkali ile ön işlem görmüş jelatinden daha düşük bir viskoziteye sahip olduğu da bildirilmektedir. Bu farklılık asit uygulaması ile elde edilmiş jelatinlerin, alkali jelatine kıyasla daha az dallı yapı göstermesine bağlanmaktadır. Sonuçta viskozite karakteristiği bakımından ön işlem aşamasında asit konsantrasyonu arttıkça viskozitenin belirgin şekilde düştüğü belirtilmektedir (Karayannakidis vd., 2014).

Jelatinin viskozitesini etkileyen bir diğer faktörün moleküler ağırlığı bileşimi olduğu bildirilmektedir. Jelatinde bulunan β ve γ zincirlerinin jelatin viskozitesini ve erime-jelleşme sıcaklıklarını önemli ölçüde belirlediği, moleküler ağırlık ortalamasının yükselmesiyle viskozitenin de arttığı bildirilmektedir. Dolayısıyla ekstraksiyon işleminin sıcaklık derecesi ve süresi, jelatinin molekül ağırlık dağılımını ve beraberinde viskozite gibi tüm fiziksel özelliklerini de etkilemektedir (Montoya vd., 2011).

1.6.5. Erime ve Jelleşme Sıcaklığı-Jelleşme noktası

Jelleşme noktası, jelatin solüsyonunun jel haline geldiği sıcaklığı ifade ederken; erime noktası ise jelatin jelinin solüsyon haline geldiği sıcaklık olarak belirtilmektedir. Erime ve jelleşme sıcaklıkları jelatinin özellikle ilaç kapsülü üretiminde olmak üzere birçok uygulamada önemli bir kalite kriteri olarak bildirilmektedir. Bu nedenle, jelatinin üretim optimizasyonlarında dikkate alınmaktadır. Jelatinin bloom değeri ve konsantrasyonunun artışıyla erime ve jelleşme sıcaklıklarının da arttığı bildirilmektedir. Isısal geri dönüşüm özelliği sayesinde jelatin jelleri, spesifik bir sıcaklık olan erime sıcaklığı noktasından itibaren erimeye başlamaktadır. Bu sıcaklık genelde insan vücut sıcaklığının altındadır. Bu özellik jelatin jellerine ağız içinde erime avantajı getirmekte ve bu avantaj gıda ve kozmetik endüstrisi tarafından etkin şekilde kullanılmaktadır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyaller

NFS üretiminde ağartılmış magnezyum bisülfid hamuru (Biocel Paskov, Çekya) kullanılmıştır. Orta molekül ağırlıklı kitosan (kitosan-1) Sigma Aldrich firmasından satın alınmıştır. Adsorpsiyon deneyleri için kitosan de-iyonize su içerisinde açılıp pH'ı asetik asit ile 5'e getirilerek 12 saat boyunca karıştırılmıştır. Kitosan-2 olarak kodlandırılan kitosan ise, kitosan-1'in asetik asit (%4'lük) solüsyonu içerisinde çözüldükten sonra, 1000 Da diyaliz membranından de-iyonize suyla diyaliz edilerek hazırlanmıştır. Model yara sıvısı (MYS) solüsyonu hazırlamak için, sodyum klorür (NaCl), potasyum klorür (KCl), sodyum fosfat (NaHPO₄) ve mono potasyum fosfat (KH₂PO₄) kullanılmıştır. Sığır derisinden elde edilen jelatin Yiğitoğlu A.Ş. (İstanbul-Türkiye) firmasından temin edilmiş, firma verilerine göre jelatin 250 bloom değerine sahip olup %84.4 protein, %5.7 karbonhidrat ve %0.059 sodyum tuzuna sahiptir. Jelatin çözeltisi 45 °C' de 45 dakika boyunca de-iyonize su içerisinde çözüldürülerek hazırlanmıştır.

2.2. Metodlar

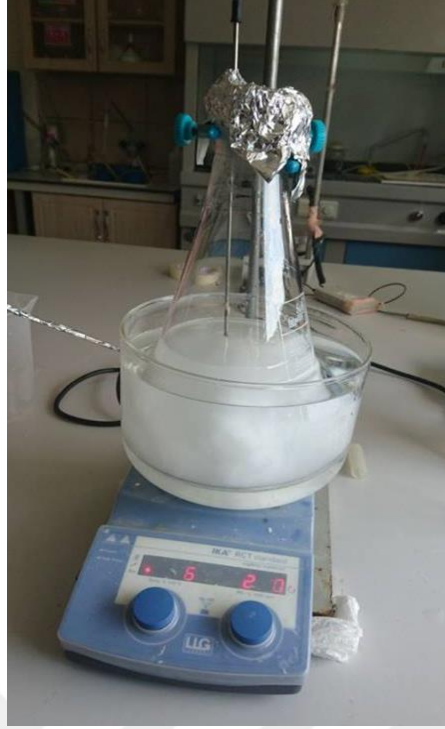
2.2.1. TEMPO Oksidasyonu ile NFS'lerin Hazırlanması

Ağartılmış bisülfid hamurunun TEMPO/NaBr/NaOCI sistemi ile oksidasyonu işlemi gerçekleştirilerek farklı karboksil ve aldehit gruplarına sahip NFS' ler üretilmiş olup NFS-1, NFS-2 ve NFS-3 olarak kodlandırılmıştır. Bu amaçla, üretim prosesi aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir (Saito vd. 2007 ve Cimercioğlu ve Thomodies, 2003).

NFS-1 üretiminde, %1 konsantrasyon da hazırlanan lif süspansiyonu mekanik karıştırıcı yardımı ile tamamen liflere ayrıldıktan sonra, 24 °C sıcaklıkta TEMPO (0.0125 g/g lif), NaBr (0.125 g/g lif) ve NaOCI (5 mmol/ g lif) ile muamele edilmiştir. TEMPO çözeltisi içerisinde hazırlanan NaBr lif süspansiyonuna ilave edilmiş ve süspansiyonun pH'ı NaOH ile 10'a ayarlanmıştır (Şekil 7). Daha önceden pH'ı 10'a ayarlanan NACIO çözeltisinin sisteme ilave edilmesiyle reaksiyon başlatılmış ve reaksiyon süresince sistemin pH'ı 10±1 bandında sabitlenmiştir. Ortalama 1 saat süren işlemin ardından lifler kaba filtre

kağıdı ile Buchner hunisinde de-iyonize su ile süzüntü suyun iletkenliği 5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 'in altına düşünceye dek yıkanmıştır. Oksidasyon işleminden geçen lifler %0.5 konsantrasyonda hazırlanarak yüksek basınçlı homojenizatörden 100/500 bar basınç altında 3 kere geçirilerek üretim gerçekleştirilmiştir (Şekil 8). Üretilen NFS'ler çalışmalarda kullanılmak üzere hava geçirmez kaplarda 4 °C' de muhafaz edilmiştir.

NFS-2 üretimi Cimercioğlu ve Thomodies 2003'e göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla %1 konsantrasyonda 10 g selüloz mekanik karıştırıcı ile açılarak lif süspansiyonu hazırlanmıştır. Lif süspansiyonunun pH'ı 9.5'e getirilmiş sıcaklık ise buz banyosu yardımı ile 5 ± 1 °C olarak ayarlanmıştır. Oksidasyonun ilk kademesinde, TEMPO (0.0125 g/ g lif) ile NaBr (0.125 g/g lif) 50 ml de-iyonize su içerisinde çözündürülüp lif süspansiyonuna eklenmiştir. Daha sonra pH' ı önceden 9.5'e ayarlanmış olan NaClO (3mmol/g lif) lif süspansiyonuna eklenmiş ve reaksiyon başlatılmıştır. Oksidasyon işlemi boyunca lif süspansiyonunun pH'ı NaOH yardımı ile 9.5'da sabit tutulmuş bir saat sonunda süspansiyonun sıcaklığı 5 ± 1 °C'ye pH ise 10'a ayarlanmıştır. Oksidasyonun ikinci kademesinde NaClO (2 mmol/g) ilavesi ile geçirilmiştir. Süspansiyonun pH'ı 10'da tutularak 30 dakika süren ikinci kademe oksidasyon işlemi sonrası elde edilen süspansiyon yukarıda belirtildiği şekilde yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Lif süspansiyonunun konsantrasyonu %0.5'e ayarlandıktan sonra yüksek basınçlı homojenizatörden 150-750 bar basınç altında on defa geçirilerek NFS-2 üretimi gerçekleştirilmiştir (Şekil-9).

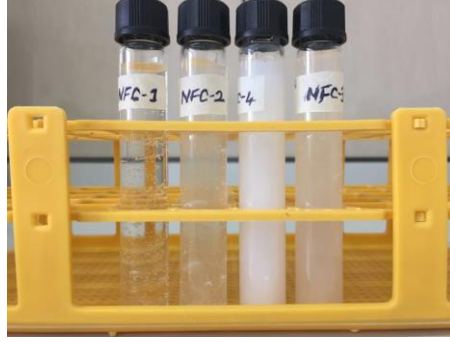


Şekil 7. NFS üretimi

NFS-3 üretimi, NFS-2 üretiminden farklı olarak tek kademeli gerçekleştirilmiştir. Bu üretimde lif süspansiyonuna pH'ı 9.5'e ayarlanmış NaOCl (5 mmol/g lif), $5\pm 1^\circ\text{C}$ 'de TEMPO/NaBr karışımı eklenmiştir. Bir saatlik oksidasyondan sonra lif süspansiyonunun sıcaklığı $23\pm 2^\circ\text{C}$ 'ye çıkartılmış ve pH 10'a ayarlandıktan sonra reaksiyona otuz dakika daha devam edilmiştir (Şekil 10). Üretilen okside olmuş selüloz süspansiyonu yukarıda belirtildiği gibi yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Yıkama işleminin ardından % 0.5 konsantrasyonda homojenizatörden geçirilmiştir.



Şekil 8. APV-1000 yüksek basınçlı homojenleştirici



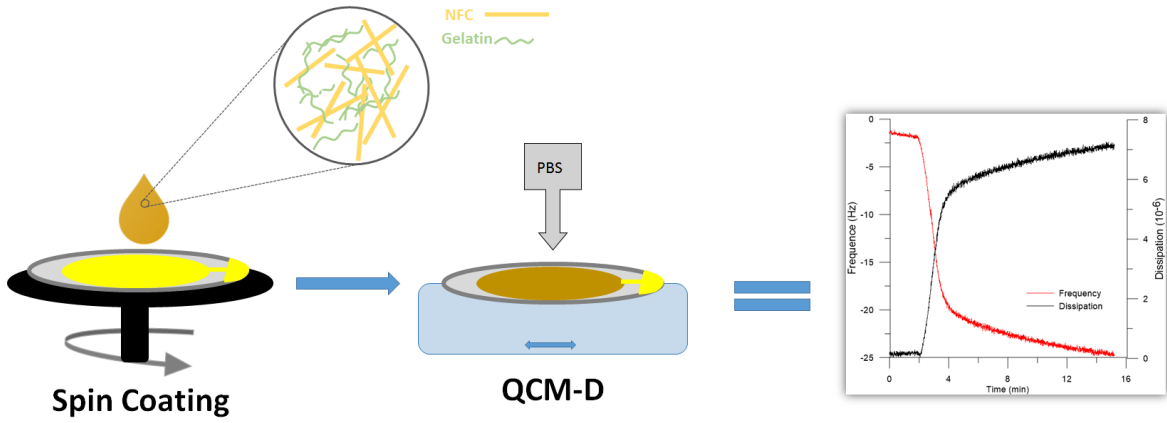
Şekil 9. Farklı aldehit içeriklerine sahip üretilen NFS'ler

2.2.2. Model Yara Sıvısı Hazırlama (MYS)

Model yara sıvısı hazırlamak için, 800 ml suya sırayla 137 mmol/l sodyum klorür (NaCl), 2.7 mmol/l potasyum klorür (KCl), 10 mmol/l disodyumfosfat (Na_2HPO_4), 1.8 mmol/l dipotasyum hidrojen sülfat (KH_2PO_4) kimyasalları eklenmiştir. Tüm kimyasallar manyetik karıştırıcı yardımı ile de-iyonize su içerisinde tamamen çözündürülmüştür. Hazırlanan model yara sıvısı tamponun pH'ı 7.4 ± 2 'de sabitlenmiştir.

2.3. Model Film Yüzeylerinin Hazırlanması

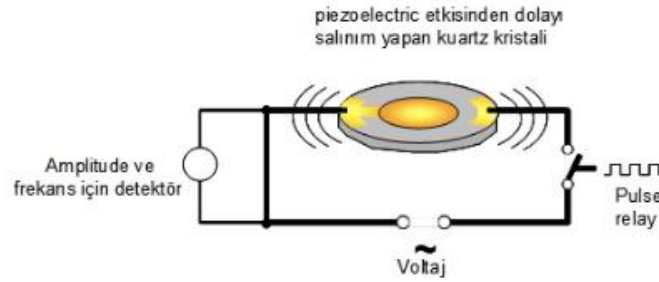
Kitosan ve MYS adsorpsiyonunu incelemek için QCM-D kristalleri üzerine model NFS tabakaları hazırlanmıştır. QCM kristalleri kullanılmadan önce, bir dakika boyunca pirana çözeltisi ile temizlenip beş dakika %0.1'lik polivinilamin (PVAM) çözeltisine batırıldıktan sonra de-iyonize su ile yıkanmış ardından azot gazı ile kurutulmuştur. %0.15'lik konsantrasyonda hazırlanmış olan NFS ve/veya NFS-Jelatin karışımları döner kaplayıcı üzerine yerleştirilen kristal yüzeye damlatılmıştır (Şekil 10). Döner kaplayıcı, NFS-1 film kristalleri için 4500 rpm'de, NFS-2 ve NFS-3 için düşük viskoziteleri sebebiyle 3500 rpm hızda çalıştırılarak film yüzeylere kaplanmıştır. NFS/Jelatin kaplı tüm kristaller için yüzey kaplama süresi 1 dakika olarak gerçekleştirilmiş ve kaplanan kristaller 90°C 'de etüvde 2 saat süreyle bekletilmiştir.



Şekil 10. Döner kaplayıcı üzerinde kuartz kristalin NFS ile kaplanması ve OCM-D tekniği

2.3.1. QCM-D Çalışmaları (Quartz Crystal Microbalance with Dissipation – QCM-D)

Adsorpsiyon çalışmaları QCM-D (Q-Sense Ab, Gothenburg, Sweden) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kristalin düzeni ve cihazın elektrik şeması Şekil 11’de görülmektedir.



Şekil 11. QCM-D sisteminin şematik gösterimi (Eriksson, 2006)

Kristal üzerine adsorpsiyonun gerçekleşmesi ile rezonans frekansında bir azalma meydana gelmektedir. Adsorplanan kütle; düzenli dağılıma, kuvvetli tutunma ve kristale oranla düşük miktara sahip olması durumunda, frekanstaki değişim ($\Delta f = f - f_0$) ile adsorplanan kütle (Δm) arasında aşağıdaki Sauerbrey formülünde gösterilen ilişki söz konusudur (Sauerbrey, 1959).

$$\Delta m = -\frac{C\Delta f}{n} \quad (1)$$

Burada f materyalin kristal yüzeyine adsorplandığındaki rezonans frekansı, f_0 materyal adsorpsiyonundan önceki rezonans frekansı, n frekans tonu, C cihazın kütle değişimine karşı hassaslığını belirten bir katsayıdır. Kullanılan kristal için $C= 0.177 \text{ mg m}^{-2} \text{ Hz}^{-1}$ ve $n=1, 3, 5$ veya 7 'dir (Hook vd., 1998).

Adsorpsiyon sırasında enerji dağılmasındaki değişim de cihaz ile incelenebilmektedir. Bu sayede adsorplanan materyal filminin visko-elastik özellikleri hakkında bilgiler elde edilmektedir. Bu maksatla, kristale gelen elektrik akımı kesilir ve böylece kristalde adsorplanan tabakada ve çevre çözültideki sürtünme kayıplarından dolayı salınımda bir sönümlenme meydana gelmektedir. Bu sönümlenme, adsorplanan tabakanın visko-elastik özellikleri ile orantılı şekilde değişir ve tabaka tarafından tutulan su miktarına bağlıdır. Sıkı şekilde adsorplanan maddeler için dağılmada adsorpsiyonla birlikte bir değişme gözlenmezken, visko-elastik tabaka (içerisinde fazla miktarda su bulunan) için dağıtılan enerji miktarında adsorpsiyon sırasında artacaktır. Dağılma faktörü teorik olarak aşağıdaki formülle tanımlanmıştır (Eriksson, 2006; Hook vd., 1998):

$$D = \frac{E_d}{2\pi E_s} \quad (2)$$

Formülde, E_s salınıma sistemi içerisinde depolanan enerji ve E_d bir salınma periyodu sırasında dağıtılan enerjidir. Çalışmada silika ile kaplanmış Q-Sense tarafından temin edilmiş kristaller (QSC303/50 SiO_2) kullanılmıştır. Kristal cihaza yerleştirildikten sonra hem frekans hem de dağılma eğrileri sabitleninceye kadar film yüzeylere pH' ı 5.5 olan su gönderilmiştir. Frekans ve dağılım eğrileri sabitlendikten sonra sonra kitosan-1, kitosan-2 ve model yara sıvısı (MYS) sisteme verilmiştir. Adsorpsiyon ile birlikte frekans ve enerji yitimindeki değişim Qsoft programı tarafından kaydedilmiştir. Çalışmalarda daha stabil olmasından dolayı üçüncü tondaki ($n=3$) veriler kullanılmıştır. Sistem içerisindeki sıcaklık 24.0°C olacak şekilde sabit tutulmuştur.

2.3.2. Karboksil Miktarının Belirlenmesi

NFS süspansiyonu 0.1 g kuru ağırlık olacak şekilde 250 ml de-iyonize su içinde 15 dakika boyunca homojenitenin sağlanması amacıyla karıştırılmıştır. Süspansiyona 15 ml 0.01 M HCl eklenerek 10 dakika boyunca karıştırmaya devam edilmiştir. Karıştırma işlemini takiben NFS çözeltisi 0.01 M NaOH ile titre edilmiştir. Karboksil miktarı elde edilen zayıf asit eğrisi yardımıyla aşağıdaki formülasyona göre hesaplanmıştır (Saito vd., 2007):

$$\text{Karboksil miktarı (mmol/g)} = \frac{V.N}{w} \quad (3)$$

V: titrasyon boyunca tüketilen NaOH miktarı (ml)

N: NaOH normalitesi (mol/L)

w: NFS'nin kuru ağırlığı (g)

2.3.3. Aldehit Miktarının Belirlenmesi

Katı madde içeriği 0.1 g olan 30 ml NFS süspansiyonun pH' ı 4.5'e ayarlanmış ve bu süspansiyona pH' ı daha önce 4.5'e ayarlanmış olan 20 ml hidroksilamin hidroklorür (NH₂OHHCl) ilave edilerek reaksiyona oda sıcaklığında 24 saat boyunca devam edilmiştir. Bu süre sonunda NFS süspansiyonu 0.1 N NaOH ile pH 4.5' e ulaşana dek titre edilmiştir. Aldehit miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Sirvio et al., 2011):

$$\text{Aldehit miktarı (mmol/g)} = \frac{V.N}{w} \quad (4)$$

V: titrasyon boyunca tüketilen NaOH miktarı (ml)

N: NaOH normalitesi (mol/L)

w: NFS'nin kuru ağırlığı (g)

2.3.4. Viskozite ve Molekül Ağırlığının Belirlenmesi

Kitosanın molekül ağırlığı, Ubbelohde viskozimetresi kullanılarak 25±0.5°C sıcaklıkta belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki kitosan çözeltileri 0.2 M asetik asit / 0.2 M

sodyum asetat çözeltisinde hazırlanmıştır. Çözücünün ve kitosan çözeltilerinin viskoziteden akış süreleri belirlenerek viskoziteler hesaplanmıştır (Ahmed vd., 1999):

$$\eta_{sp} = (\eta_{sample} - \eta_{solvent}) / \eta_{solvent} = (t_{sample} - t_{solvent}) / t_{solvent} \quad (5)$$

Ortalama molekül ağırlığı Mark-Houwink eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$[\eta] = KM_v^a \quad (6)$$

Eşitlikte K: $1.49 \cdot 10^{-4}$ dl/g ve a: 0,79 olarak sabit alınmıştır (Kasaai et al., 2000).

2.3.5. Fourier Kızılötesi Dönüşüm Spektroskop (FTIR)

Kitosanların kimyasal yapıları, Perkin Elmer UATR ile donatılmış FT-IR ile ölçülmüştür. Taramalar, $400-4000 \text{ cm}^{-1}$ spektrum aralığında 2 cm^{-1} çözünürlükte gerçekleştirilmiştir. FTIR sonuçları Spectrum One yazılımı (Spectrum One, sürüm 5.3) ile değerlendirilmiştir.

2.3.6. X Işınları Kırınımı (XRD)

X ışını kırınım ölçümleri $\text{CuK}\alpha$ radyasyon kaynağı ($\lambda = 0.154 \text{ nm}$) kullanılarak Bruker D8 Advance cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Tarama açısı aralığı ve tarama hızı sırasıyla $3^\circ \leq 2\theta \leq 90^\circ$ ve $2^\circ/\text{dak}$ ' dır. NFS ve kitosanların kristallenlik indeksleri, XRD modellerinden elde edilen karakteristik kristal ve amorf bölge pik açıları yoğunluklarından hesaplanmıştır. Kristallenlik indeksleri aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır;

$$KI_{kitosan} = [(I_{110} - I_{am}) / (I_{110})] \times 100 \quad (7)$$

$$KI_{NFS} = [(I_{002} - I_{am}) / (I_{002})] \times 100 \quad (8)$$

Kitosan örneklerinin kristallenlik indeksi, Zhang, Y. ve ark. (2005)' e göre hesaplanmıştır. I_{110} ve I_{am} 'in kristal pik ve amorf pik yoğunlukları olup sırasıyla; I_{110} için $2\theta=19,5-19,8$ ve I_{am} için $14,9-15,2$ ' dir. Ayrıca I_{110} yoğunluk indeksi ve I_{am} yoğunluğu $2\theta=19,7$ 'den hesaplanmıştır. NFS' nin kristallenlik indeksi, kitosan ile aynı şekilde ölçülmüş

olup NFS için, kristal pik I_{002} $2\Theta=21,5-22,9$ ve amorf pik I_{am} $2\Theta= 16,9-18,2$ olarak kullanılmıştır (Segal L. Vd., 1959).

2.3.7. NFS ve Jelatinin İzoelektrik Noktası

NFS ve jelatinin izoelektrik noktası partikül yük belirleyicisi (PCDIII, MÜTEK GmbH) kullanılarak farklı pH değerlerine sahip çözeltilerin akış potansiyelinin (mV) belirlenmesi ile ölçülmüştür. Bu amaçla NFS ve jelatininin %0.1 ve %1'lik çözeltileri hazırlanmıştır.



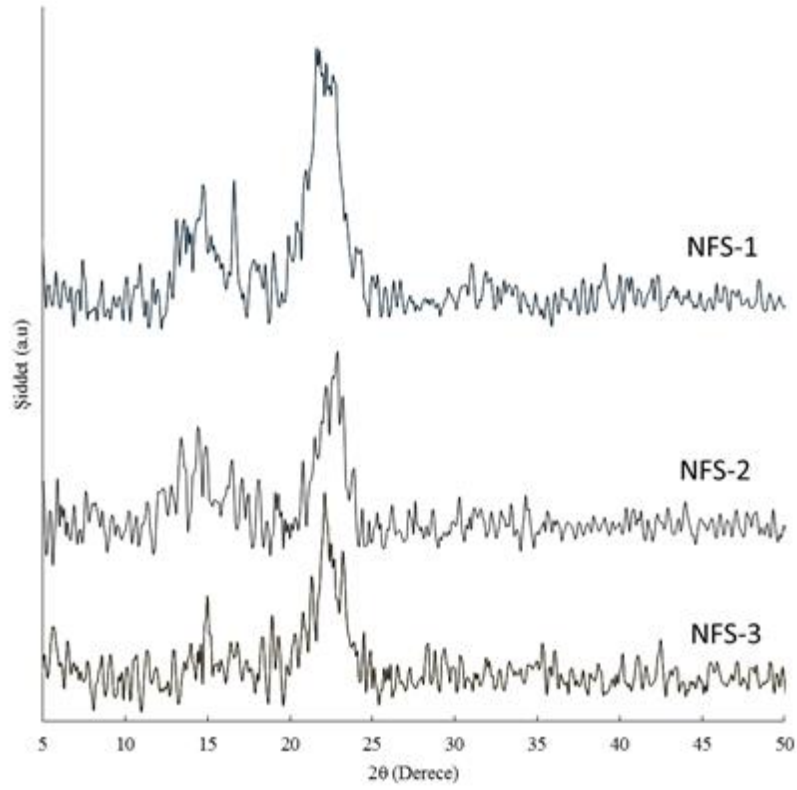
3. BULGULAR VE İRDELEME

3.1. Kitosan ve NFS'nin Özellikleri

TEMPO/NaBr/NaOCl oksidasyonu ile üretilen NFS'lerin karboksil ve aldehit grubu miktarları ve kristallenlik indeksleri Tablo 1'de verilmiştir. Bilindiği gibi TEMPO oksidasyonu ile glikoz birimlerinin C6 konumundaki hidroksil grupları karboksilata dönüştürülür ve az oranda aldehitler oluşur (Saito vd., 2007). Tabloda görülen aldehit ve karboksil gruplarının miktarı, oksidasyon koşullarına bağlı olarak değişir. Daha yüksek karboksil ve daha düşük oranda aldehit grubuna sahip NFS-1, Saito vd. tarafından incelenen bir yöntemle göre, pH 10 ve oda sıcaklığında üretilmiştir (2011). İki kademeli oksidasyon sisteminde ise pH 10'da oda sıcaklığında ve pH 9.5 ile 5°C'de işlem gerçekleştirilmiş ve bu yöntemle üretilen NFS-3'ün (Saito vd., 2011; Çimecioglu ve Thomadies, 2003) karboksil içeriğinin daha düşük olmasına rağmen aldehit içeriğinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yüksek miktarda karboksil grubu, negatif yüklü karboksil grupları arasındaki elektrostatik itmenin artmasından dolayı fibriler yapının parçalanmasını hızlandırır (Saito vd., 2011; Alvaro vd., 2012). Bununla birlikte, aldehit grupları fibriler yapıyı daha güçlü hale getiren selüloz fibriller arasında asetal bağlar oluşturmakta olup bu nedenle oksidasyona uğramış lifin nano fibriler yapıya dönüşmesi için gerekli olan enerji ihtiyacı artmaktadır. Bu sebeple NFS-2 ve NFS-3 üretimi sırasında nanofibril süspansiyonu elde etmek için yüksek basınçlı homojenleştiriciden daha fazla geçirilmiş, NFS-1 süspansiyonu ise homojenizatörden üç defa geçirilmiş ve jel oluşumu kolayca elde edilmiştir.

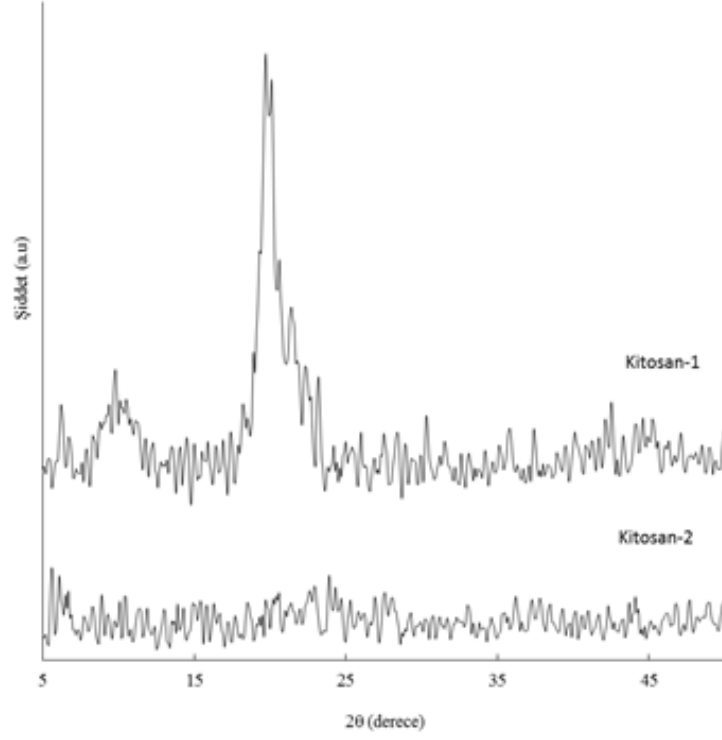
Tablo 1. NFS'lerin kristalen indeksi, aldehit ve karboksil miktarı

	Aldehit içeriği (mmol/g)	Karboksil içeriği (mmol/g)	Kristalen indeksi (%)
NFS-1	0.25	1.15	82.8
NFS-2	0.32	0.82	41.6
NFS-3	1.22	0.60	38.8



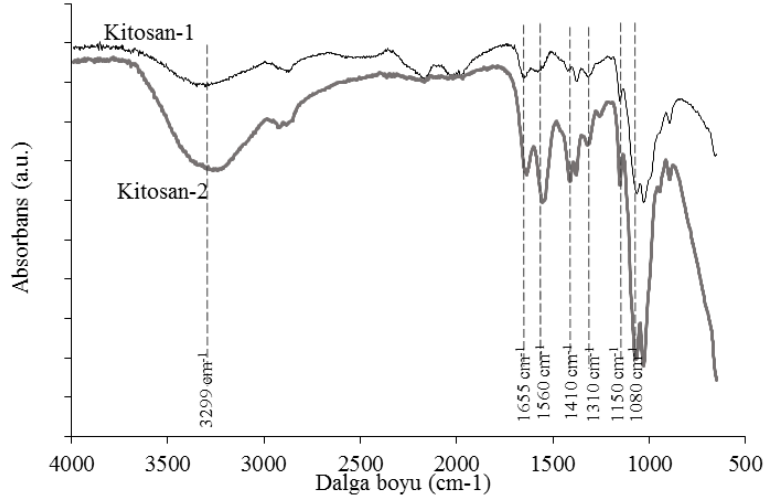
Şekil 12. NFS'lerin XRD Diyagramları

NFS'lerin X-Işını difraktogramları ve kristallenlik indeksi sırasıyla Şekil 12 ve Tablo-1'de verilmiştir. Denklem 8'e göre NFS-1, NFS-2 ve NFS-3'ün kristallenlik indeksi (%) sırasıyla 82.8, 41.6 ve 38.8 olarak bulunmuştur. NFS-3, NFS-1'den daha az oranda kristalen bölgeye sahiptir. Bu durum özellikle kristalen bölgede meydana gelen kimyasal yapı değişikliklerine ve selüloz molekülleri ve moleküller arasında oluşan asetal bağlarının yapıyı daha amorf hale getirmesiyle ilişkilendirilmektedir (Ondaral et. al. 2018).



Şekil 13. Kitosan-1 ve kitosanın XRD Diyagramları

Şekil 13’ de görüldüğü üzere kitosanın $2\theta = 20^\circ$ ve 10° 'de iki karakteristik kristal pikine sahip olduğu açıkça görülmektedir. Bu iki pik form I ve form II kristalleri ile ilişkilidir (Feng vd., 2012). Kitosanın asetik asit ile muamele edilmesi, kristal yapısının azalmasına neden olmuştur. Şekilde kitosan-2, $2\theta = 20^\circ$ 'de zayıf bir pik göstermiş ve kitosan'da bulunan diğer tepeler kaybolmuştur. Bu durum, Li vd. (2009)’ nin yapmış olduğu araştırma ile küçük değişikliklerle benzer özellikler göstermektedir. Bununla birlikte, kitosan-1 ve kitosan-2’nin kristallenlik indeksleri sırasıyla %63,88 ve %29,22 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca I_{110} yoğunluk indeksi ve I_{am} yoğunluğu $2\theta=19,7^\circ$ ’den hesaplanmıştır. Kitosan-2'nin kristal indeksinin azalmasının başlıca nedeni, kristal bölgelerdeki yapısal deformasyona ek olarak kitosan solüsyonunda bulunan asetik asitin intra ve inter moleküler hidrojen bağı oluşumunu engellemesinden kaynaklanabilmektedir (Wang vd., 2005).



Şekil 14. Kitosan-1 ve Kitosan-2'nin FTIR sonuçları

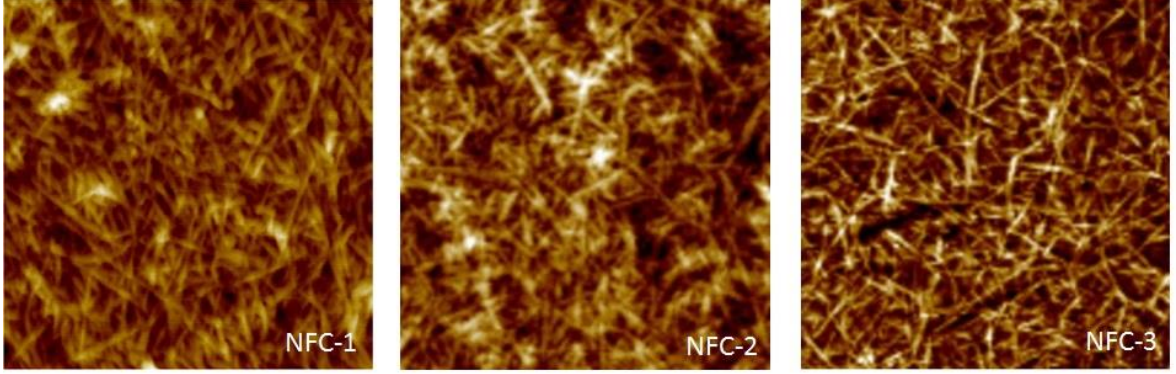
Şekil 14' deki FTIR spektrumunda görüldüğü gibi, kitosanın kimyasal yapısı asetik asit ile muamelesinden sonra değişmiştir. Kitosan-2 için, 3200-3500 cm^{-1} arasında değişen bant aralığında NH ve OH bağlarının geriliminde artış olduğu görülmektedir. Bu durumun yeni NH ve OH gruplarının oluşmasına ve yapıdan asetil gruplarının uzaklaştırılmasına yol açan glukozamin birimlerinin parçalanmasından kaynakladığı belirtilmektedir. NH_2 gerilmesinden kaynaklanan Amid I grubu ve NH gerilmesine bağlı amid II grubu sırasıyla 1655 cm^{-1} ve 1560 cm^{-1} piklerinde görülmektedir. 1310 cm^{-1} pikinde bulunan amid III grupları diğer amid grupları ile karşılaştırıldığında fazla değişim göstermemiştir. C-O-C ve kitosan yapısının piranozunu içeren 1150 cm^{-1} ve 1080 cm^{-1} bantlarında değişimler görülmektedir (Lianos vd., 2015). Bununla birlikte, asit ile etkileşimden sonra kitosanın molekül ağırlığı glikozamin birimlerinin kopmasından dolayı, 2500 kDa'dan 1500 kDa' a düşmüştür.

3.2. OCM-D Çalışması

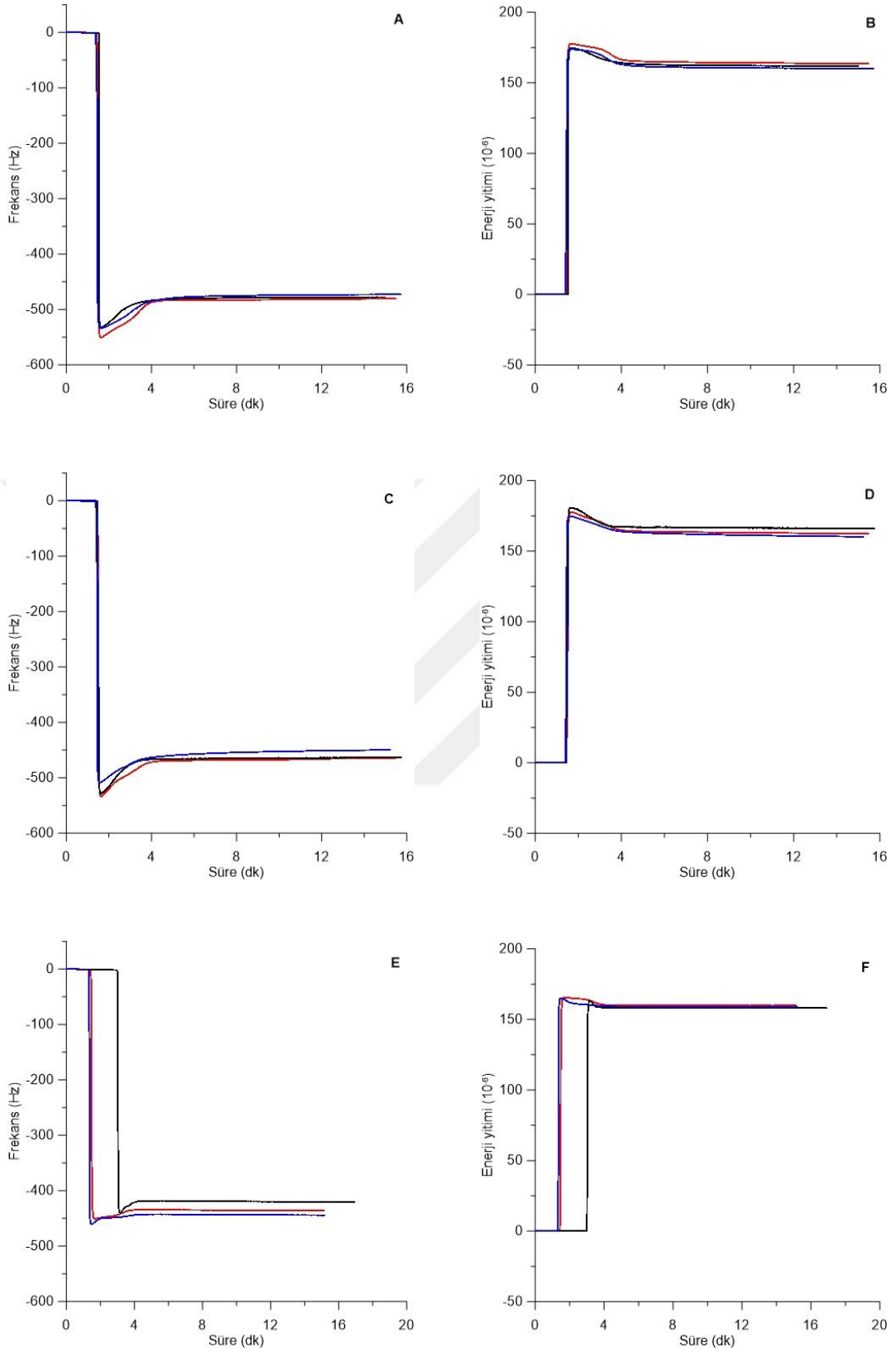
3.2.1. NFS Filmlerinde Su Alma

NFS esaslı kompozitlerde aldehit içeriği sadece ağ yapısının güçlü olmasını değil aynı zamanda çeşitli uygulamalar sırasında yüzeyde kalan diğer materyallerle olan etkileşimlerini de etkiler (Ondaral vd., 2018).

Şekil 15'te üretilen NFS'lerin AFM görüntüleri verilmekle birlikte Şekil 16, pH 5.5' da su moleküllerinin adsorpsiyonu ile frekans ve enerji yitim değerlerinde meydana gelen değişimleri göstermektedir. Şekilde görüldüğü üzere de-iyonize suyun model yüzeye verilmesi ile ani bir frekans ve enerji yitim değişimi gerçekleşmiştir. Bu değişim hava ve su arasındaki viskozite farkından dolayı meydana gelmektedir. Selüloz film içerisinde ve yüzeyinde su moleküllerinin hava ile yer değişimi su moleküllerinin hem selülozun fonksiyonel gruplarıyla (aldehit, karboksil ve hidroksil) hem de diğer su molekülleri ile hidrojen bağlanması bu değişime neden olan ana faktörlerdir. Hava ile su arasındaki viskozite farkı su adsorpsiyonun etkisini arttırmaktadır. Sonuçlar, suyun çok hızlı bir şekilde selüloz filmine adsorbe olduğunu göstermiş ve bir süre sonra frekans ve enerji yitim değerleri stabil hale gelmiştir.



Şekil 15. NFS'lerin AFM görüntüleri



Şekil 16. Model selüloz yüzeylerinin pH 5.5' deki de-iyonize su ile adsorpsiyonu enerji yitimi ve frekans değişimi (A ve B: NFS-1, C ve D: NFS-2, E ve F: NFS-3)

Tablo 2’ de görüldüğü üzere daha fazla aldehit içeriğine sahip olan NFS-3’ün ortalama Δf değeri diğer NFS’lerden daha az su aldığı göstermektedir. Bu azalma film içerisinde ve yüzeyinde daha az su tutunduğu anlamına gelmektedir. Bununla birlikte, enerji yitim değerlerinin benzer olması filmlerin viskoelastik özelliklerinin birbirine yakın olduğu anlamına gelmektedir. Değerlendirme yapılırken enerji yitiminin sadece NFS filmi ile sınırlı olmayıp film yüzeyine bağlı olan su ile alakalı olduğu göz önüne alınmalıdır. Sauerbrey denklemleri tarafından hesaplanan adsorblanan su miktarı, frekans değişikliği SiO₂ kristalinin (≈ 386 Hz) kütle etkisinin ve NFS filmlerin şişmesinin toplamıdır. NFS-1, NFS-2 ve NFS-3’te adsorbe edilen su, miktarı sırasıyla 16.2, 13.0 ve 8.5 mg m⁻² olarak bulunmuştur.

Tablo 2. NFS filmlerinin şişmesinden sonraki ortalama Δf ve ΔD değerler

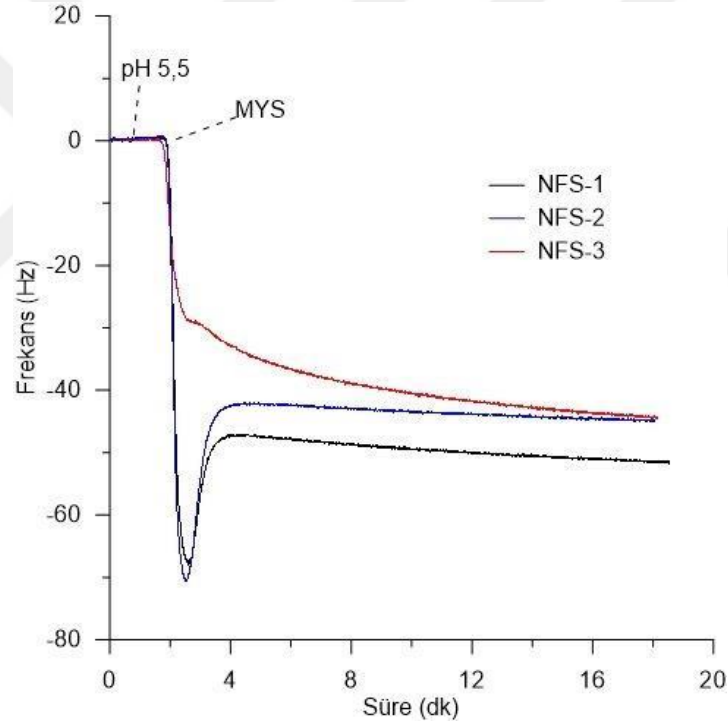
	Δf (Hz)	ΔD (10 ⁻⁶)
NFS-1	477.4	161.8
NFS-2	459.5	162.8
NFS-3	433.8	159.0

3.2.2. Kitosan ve MYS Adsorpsiyonu

Farklı aldehit ve karboksil gruplarına sahip NFS’ ler kullanılarak hazırlanan model yüzeylerinin kitosan ve MYS ile etkileşimi QCM-D ile araştırılmıştır. Kitosan adsorpsiyonuna bağlı frekans ve enerji yitim değerlerindeki değişimler aşağıdaki şekillerde görülmektedir.

QCM-D çalışmaları sırasında model selüloz yüzeyine ilk olarak pH 5.5 olan de-iyonize su verilmiş olup frekans ve enerji yitim değişimleri stabilizeye ulaştıktan sonra sisteme pH’ı 7.4 olan MYS gönderilerek su ile yer değişimi gerçekleştirilmiştir. Şekil 17’de verilen grafikte görüldüğü gibi MYS’ nin sisteme verilmesiyle NFS-1 ve NFS-2’de ani frekans düşüşü gözlenmiş, yüksek aldehit miktarı içeren NFS-3’ de ise bu düşüş daha az oranda tespit edilmiştir. Bu durum MYS’ nin selüloz filmine daha az oranda tutunduğu ve film yapısında şişme oluşturduğu anlamına gelmekte olup bu şişmede MYS’ nin içerdiği elektrolitlerin etkili olduğu belirtilmektedir. NFS yapısında bulunan aldehit oranı adsorpsiyon ve şişme üzerine etki etmektedir. Yapı içerisinde aldehit miktarının azalması adsorpsiyonu ve şişmeyi arttırmaktadır. Aldehit miktarının artmasının NFS filmi içerisinde

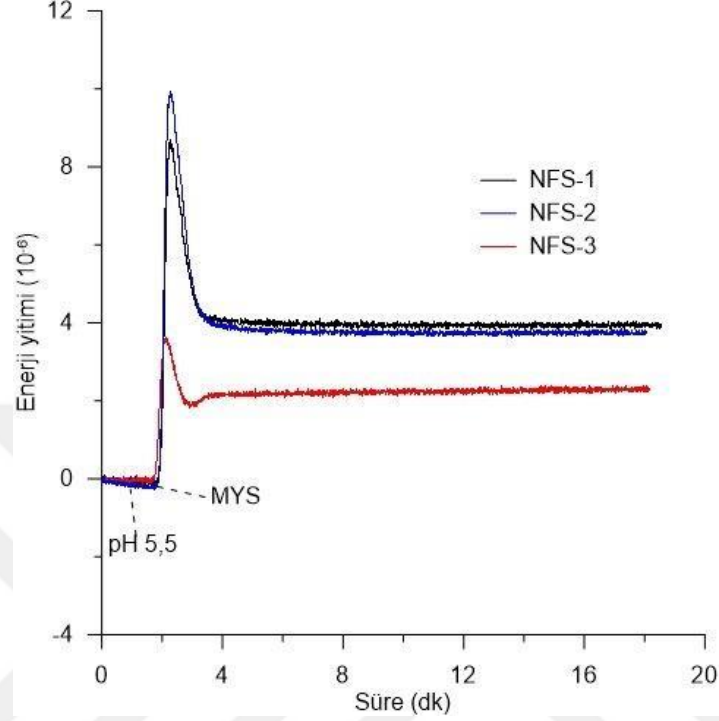
fibriller arasında asetal bağlarının oluşmasına sebep olarak hem adsorpsiyonda hem de şişmede azalmaya neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca ortam pH' ının artmasının da adsorpsiyonu artırıcı etki yaptığı görülmektedir. Bu durumun özellikle aldehit yapısının karboksil yapılarına yükseltgenmesi ile meydana geldiği sonucuna varılabilir. Sauerbery denklemine göre hesaplanan adsorbe edilen kitosan miktarı, sırasıyla, NFS-1, NFS-2 ve NFS-3 için 2.5, 3.5 ve 5.3 mg / m²'dir. Bu veriler sadece adsorbe olan kitosanı değil yapıda bulunan su moleküllerini de içermektedir. Tiraferri vd. (2014), silikon oksit kristal yüzeyinde kitosan adsorpsiyonunun 1.3 mg/m² civarında olduğunu bulmuş ve filmlerin ortalama su içeriği, QCM-D ve reflektometri teknikleri kullanılarak %65 civarında bulunmuştur. Filmlerin %65'inin su içeriği dikkate alındığında sadece kitosan adsorpsiyonu sırasıyla NFS-1, NFS-2 ve NFS- 3 için 0.9, 1.2 ve 1.9 mg/m² olarak hesaplanabilir.



Şekil 17. Selüloz model yüzeylerinin MYS ile etkileşimi sonrası frekans değişimi

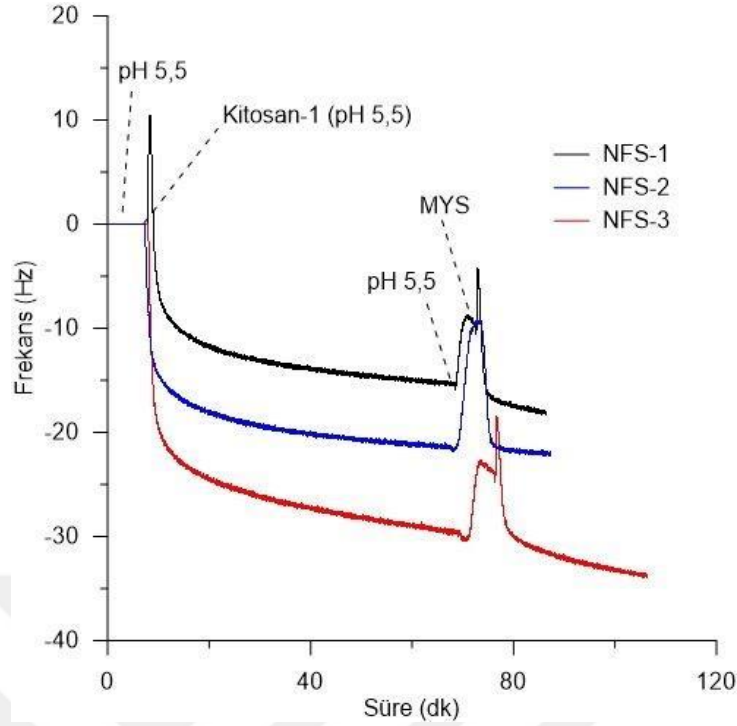
Yüzeylerin MYS ile etkileşim sonucu oluşan enerji yitimi Şekil 18' de verilmiştir. Şekil incelendiğinde MYS' nin sisteme verilmesiyle NFS filmindeki tutunmanın yani adsorpsiyonun arttığı ve bir süre sonra yüzeyde adsorpsiyonun stabil seyrettiği görülmektedir. Aldehit oranındaki artışın NFS tabakası içerisinde çapraz bağlanmayı arttırdığı için fibriler yapının şişmesine engel olduğu düşünülmektedir. Kağıt kimyasalı

olarak kullanılan aldehit içerikli polimerlerin de benzer çapraz bağlanmayla lifsel yapıyı güçlendirerek ıslak sağlamlık kazanımı sağladığı bilinmektedir.



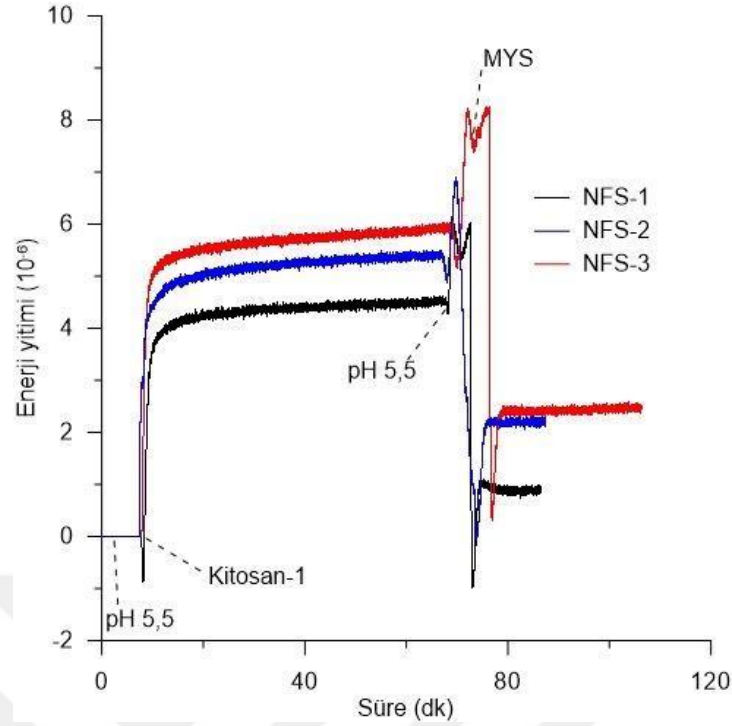
Şekil 18. Selüloz model yüzeylerinin MYS ile etkileşimi sonrası enerji yitimi değişimi

Üretilen NFS' ler üzerinde kitosan ve MYS etkileşimlerini incelemek için QCM-D çalışmalarına başlarken öncelikle pH'ı 5.5 olan su verilmiş olup belirli bir süre sonra pH'ı 5.5'e ayarlanmış, asetik asit çözeltisi içerisinde hazırlanan kitosan-1 sisteme gönderilmiştir. Kitosanın sisteme girmesiyle birlikte grafiklerde de görüldüğü üzere frekans ilk olarak yüksek ivmeli bir düşüşün ardından stabil hale gelmiştir (Şekil 19). De-iyonize su ile yıkama işleminde frekansta bir artış gözlenmiş olup bu durum film yüzeyi ile birlikte hareket eden kitosanların uzaklaştırılmasından kaynaklanmaktadır. Temizlenen yüzeye MYS gönderildiği zaman frekansta azalma meydana gelmiştir. Bu durum, MYS' nin NFS filminde şişme meydana getirdiğini göstermektedir. MYS ile birlikte frekans değişimi sırasıyla, NFS-1 için -7, NFS-2 için -13, NFS-3 için -5'dir. En büyük frekans değişimi NFS-2 yüzeyinde gerçekleşmiştir.



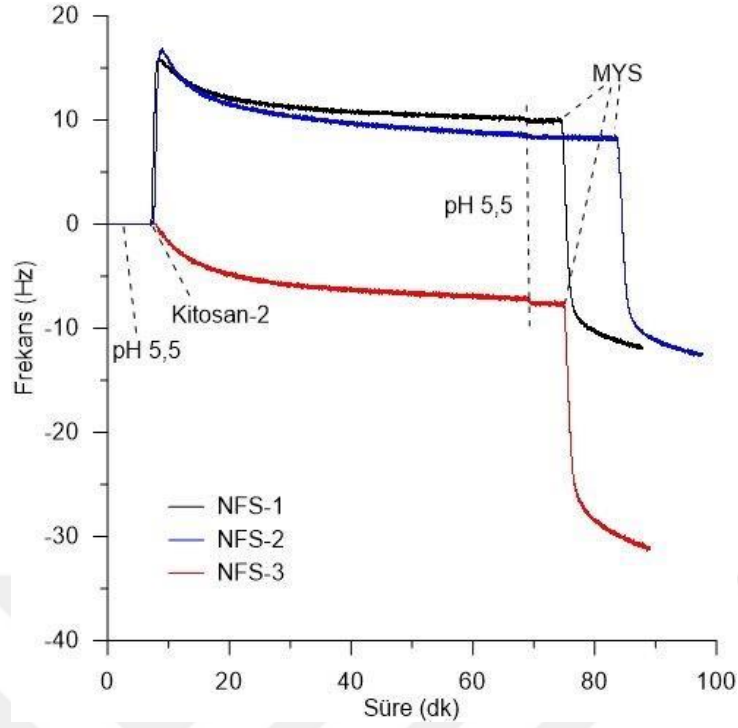
Şekil 19. Model selüloz yüzeyi üzerinde Kitosan-1 ve MYS adsorpsiyonu ile meydana gelen frekans değişimi

QCM-D çalışmalarında kitosan-1 ve MYS ilavelerinden sonra oluşan enerji yitim değişimi aşağıda Şekil 20' de verilmiştir. Sisteme de-iyonize sudan sonra kitosan-1 verilmesi ile enerji yitimi artmış yani model film yüzeylerine kitosan adsorplanmıştır. Adsorplanma işleminin belirli bir stabiliteye ulaşmasından sonra yüzey de-iyonize su ile yıkanmış ve sisteme MYS gönderilerek kitosan-1 ile olan etkileşimi gözlemlenmiştir. NFS filmlerine MYS verildiğinde oluşan enerji yitim değişimi, NFS-1 için 4, NFS-2 için 5, NFS-3 için 7' dir. Kitosan adsorpsiyonunda temel itici kuvvet, NFS üzerinde bulunan negatif yüklü karboksil grupları ile kitosanın protonlanmış amin grupları arasındaki elektrostatik kuvvetlerdir (Szilagyi ve ark., 2014). Ayrıca, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler de adsorpsiyona yardımcı olabilmektedir. Aldehit gruplarının mevcudiyeti de asetal (oksijen ve hidroksil arasında) ve amidol (oksijen ve aminler arasında) bağları etkileşimi artırabilir (Hagiopol ve Johnston, 2012). Sonuçlar asetal ve amidol bağlarının elektrostatik etkileşimden daha etkili olduğunu göstermektedir.



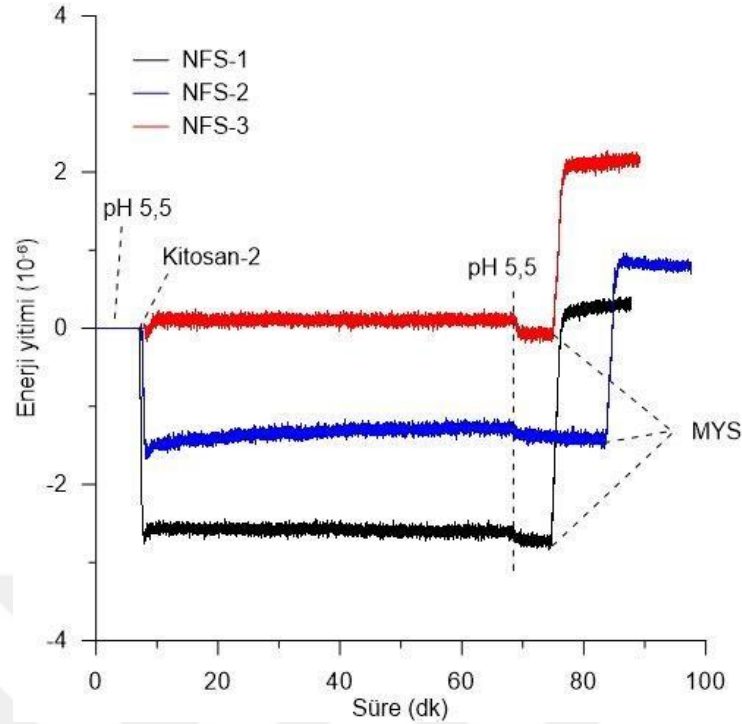
Şekil 20. Model selüloz yüzeyi üzerinde Kitosan-1 ve MYS adsorpsiyonu ile meydana gelen enerji yitim değişimi

Bir diğer QCM-D çalışmasında model yüzeyler üzerine kitosan-1'in asetik asit ile muamele edilmesi sonucu üretilen kitosan-2 ve MYS adsorpsiyonu incelenmiştir. Aşağıdaki grafiklerde kitosan-2 ve MYS' nin model yüzeyleri üzerinde meydana getirdiği frekans ve enerji yitim değişimleri görülmektedir. Model yüzey üzerindeki adsorpsiyonun gerçekleşmesi ile frekansta azalma beklenirken meydana gelen frekans artışının, kitosan-2 adsorplanırken film üzerindeki su moleküllerini uzaklaştırmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. De-iyonize suyun ardından pH' ı 5.5 olan kitosan-2 sisteme verildiğinde aldehit oranı yüksek olan NFS-3' de frekans düşerken, NFS-1 ve NFS-2 model yüzeylerinde ise frekansta yükselme meydana gelmiştir. Kitosandan sonra MYS'nin yüzeye verilmesiyle birlikte frekans hızla düşmüştür.



Şekil 21. Model selüloz yüzeyleri üzerinde Kitosan-2 ve MYS adsorpsiyonu ile meydana gelen frekans değişimi

Şekil 22'de verilen grafikte model yüzeyleri üzerinde kitosan-2 ve MYS uygulanmasının ardından oluşan enerji yitim değişimleri görülmektedir. Kitosan-2 farklı aldehit içeriğine sahip olan NFS' lerle olan enerji yitim grafiği incelendiğinde en düşük aldehit miktarına sahip model yüzeyde daha fazla yüzeyde tutunma yaptığı görülmektedir. Aldehit miktarına bağlı olarak model yüzeylerde meydana gelen yüzey tutunmasının kitosan-2 için ters orantılı olduğu sonucu çıkarılabilir.

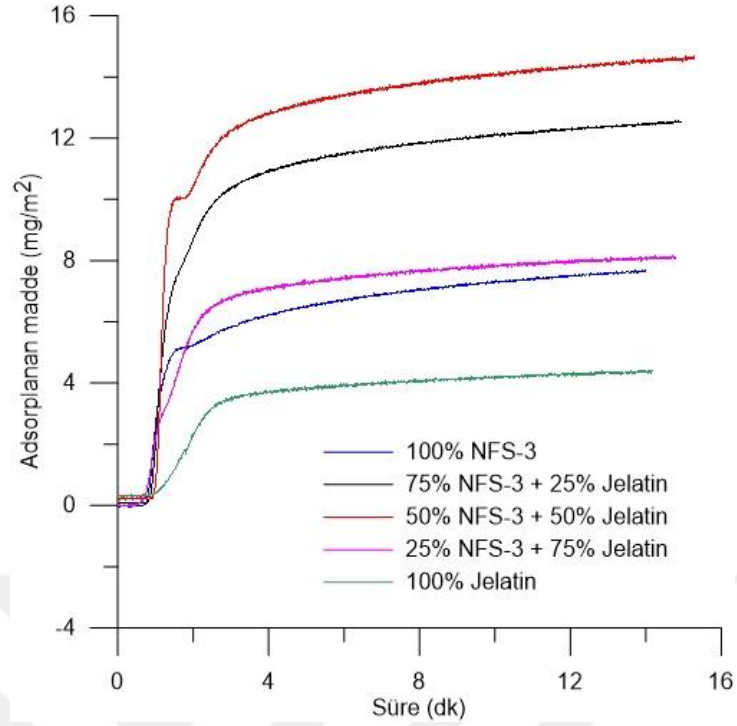


Şekil 22. Model selüloz yüzeyleri üzerinde Kitosan-2 ve MYS adsorpsiyonu ile meydana gelen enerji yitim değişimi

3.2.3. Farklı Oranlara Sahip NFS ve Jelatin Karışımları ile Üretilen Model Yüzeylerine MYS Adsorpsiyonunun İncelenmesi

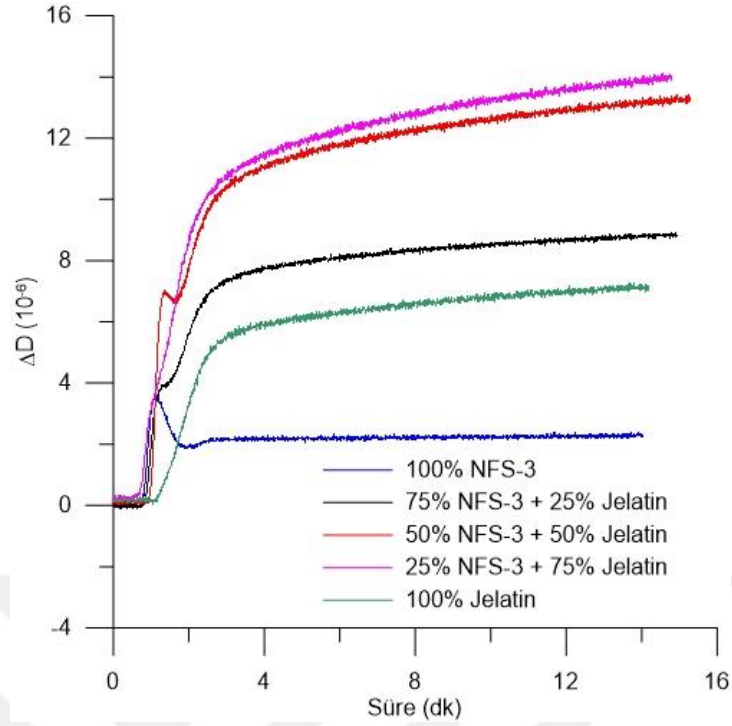
NFS ve jelatin farklı oranlarda karıştırılarak MYS ile etkileşimleri sonucunda oluşan frekans ve enerji yitim değerleri aşağıdaki grafiklerde gösterilmiştir.

% 100 jelatin ile kaplanan model yüzeyine ilk olarak de-iyonize su verildikten sonra yüzeye MYS gönderildiğinde Şekil 23' de görüldüğü üzere % 100 NFS-3 kaplı olan film tabakası, % 100 jelatin kaplı film yüzeyine oranla daha düşük frekans değerlerine ulaşmıştır. Yani NFS jelatine oranla daha iyi şişme değerleri elde etmiştir. Jelatin miktarı arttıkça grafikte görülebileceği üzere model yüzeyleri arasında MYS etkileşimine karşı en yüksek frekans değişimi gösteren %50 jelatin/ %50 NFS-3 model film olmuştur. Eşit oranda kullanılan NFS ve jelatin model yüzeyinde MYS tutunması yani şişmenin en fazla olduğu gözlemlenmiştir. Karışımlardaki oranlar farklılaştıkça frekans düşmektedir. Model yüzeylerdeki oranlara bakıldığında NFS miktarı artışı , jelatin oranının artışıyla ters orantı gösterip daha fazla şişme meydana gelir.



Şekil 23. NFS-3 ve Jelatin karışımlarının MYS ile etkileşim frekans değerleri

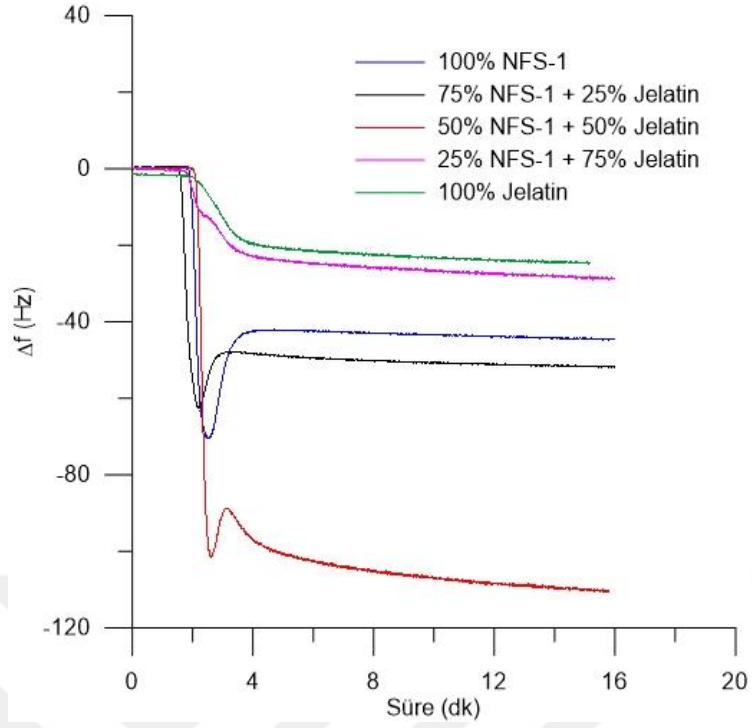
Farklı oranlarda hazırlanan NFS-3 ve jelatin karışımları ile üretilen model yüzeyinin su ile yıkanmasının ardından sisteme MYS verilmesi sonucu oluşan enerji yitim grafiği şekil 24'te verilmiştir. NFS-3 model yüzeyine kıyasla jelatin model film yüzeyinde daha fazla tutunma meydana gelmiştir. Jelatin miktarının artmasıyla enerji yitim değerleri de artmaktadır.



Şekil 24. NFS-3 ve Jelatin karışımlarının MYS ile etkileşimi enerji yitim grafiği

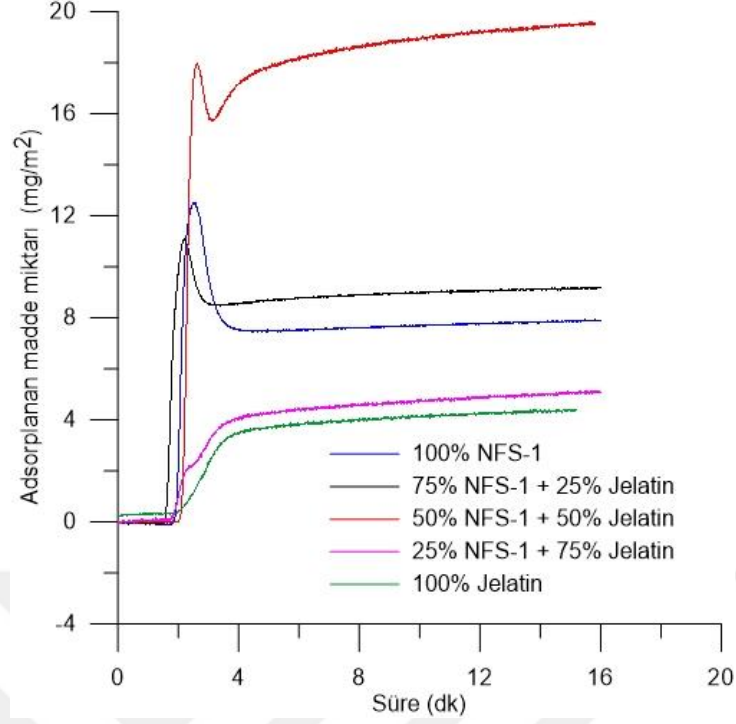
QCM-D çalışmasında NFS-1 ve jelatin karıştırılarak hazırlanan model yüzeyi üzerinde MYS çalışması sonucu oluşan frekans ve enerji yitim değişimleri aşağıda Şekil 25 ve 26' da verilmiştir.

İlk olarak aynı pH' larda hazırlanan jelatin ve NFS-1 farklı oranlarda karıştırılarak kristal yüzeylerine kaplandıktan sonra QCM-D ile adsorbsiyon özellikleri çalışılmıştır. Deiyonize su ile yıkama işleminin ardından MYS ile etkileşimleri sonucu yine en büyük frekans değişimini % 50 oranında hazırlanmış olan NFS/ Jelatin model yüzey karışımı vermektedir. Karışımlarda jelatin miktarının artmasıyla frekans yani yüzeyde adsorbsiyon artarken % 100 jelatin kaplanmış yüzeyde % 100 NFS-1 kaplanmış yüzeye göre daha az şişme gerçekleştirmiştir.



Şekil 25. NFS-1 ve Jelatin model yüzeylerinin MYS etkileşimi ile meydana gelen frekans grafiği

Şekil 26'da NFS-1 ve jelatin karışımlarının QCM-D çalışması sonucu elde edilen verilerden oluşturulan enerji yitim grafiği verilmiştir.

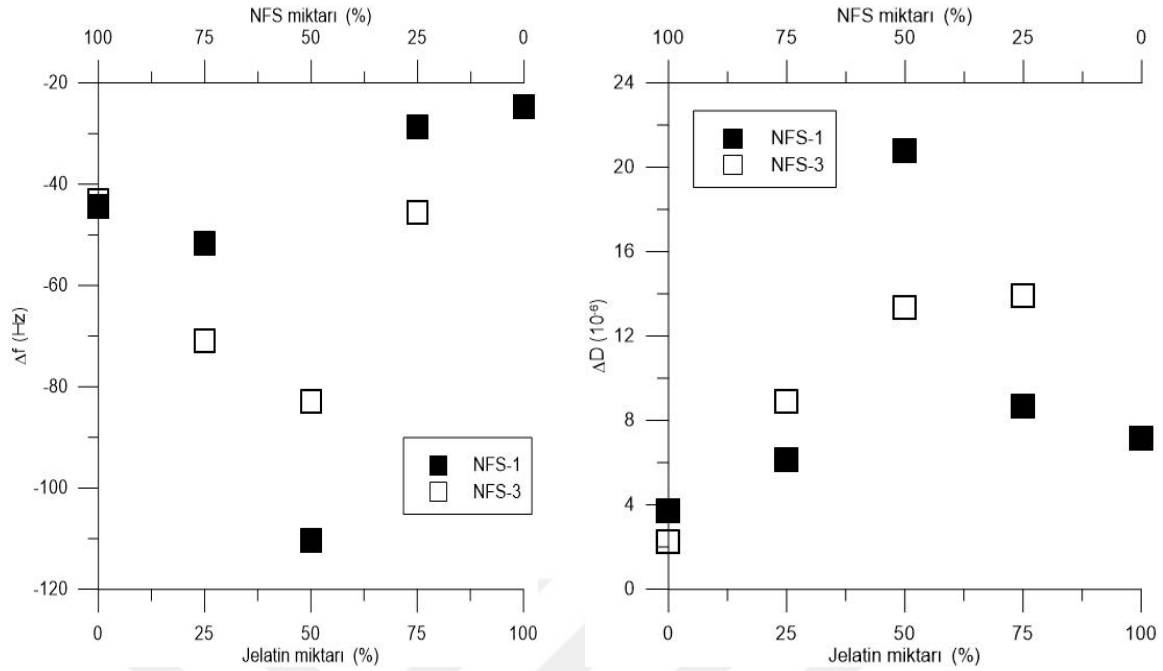


Şekil 26. NFS-1 ve Jelatin karışım model yüzeylerin MYS ile etkileşim sonucu enerji yitim grafiği

Adsorpsiyon çalışmalarında hem frekans hem de enerji yitim değerleri incelendiğinde başlangıç aşamasında pik oluşumu görülmektedir. Karışım içerisinde jelatin oranı arttıkça pik oranının azaldığı, %100 jelatinde ise bu pikin olmadığı görülmektedir. Bu pik oluşumlarının tabakanın hızlı sıvı almasından dolayı kaynaklandığı düşünülmektedir. %100 jelatin filminin frekans değerlerinde eğim oluşması bu duruma kanıt olarak gösterilebilir. Bununla birlikte, şekillerde NFS-3' ün daha az pik verdiği kolaylıkla görülmektedir. NFS-3' ün çapraz bağlanmış yapısının sıvı alımını azalttığı gibi su alma hızını da azalttığı görülmektedir.

QCM-D çalışmalarında jelatin ve NFS karışım oranlarının MYS ile etkileşimini daha detaylı değerlendirmek için 15. dakikadaki Δf ve ΔD değerleri alınarak oluşturulan grafikler Şekil 27'de verilmiştir.

İlk olarak Şekil 27'de ki NFS/jelatin frekans değerleri incelendiğinde azalan NFS miktarı ile birlikte MYS tutunmasında ve şişme de önce bir artış sonra da azalma görülmüştür. %50 jelatin-%50 NFS karışımında dönüm noktası gerçekleşmiştir. Gerçekleşen artış selüloz/jelatin tabakasının kimyasal yapısına ilaveten fiziksel özelliklerinde etkili olduğu anlamı taşımaktadır.



Şekil 27. NFS-1 ve NFS-3 jelatin karışımlarının on beşinci dakikadaki Δf ve ΔD grafiği

Molekül yapıları dikkate alındığında NFS' nin daha hidrofilik olduğu söylenebilir. Azalan NFS miktarı ile birlikte tutunmanın yani şişmenin azalması beklenmektedir.

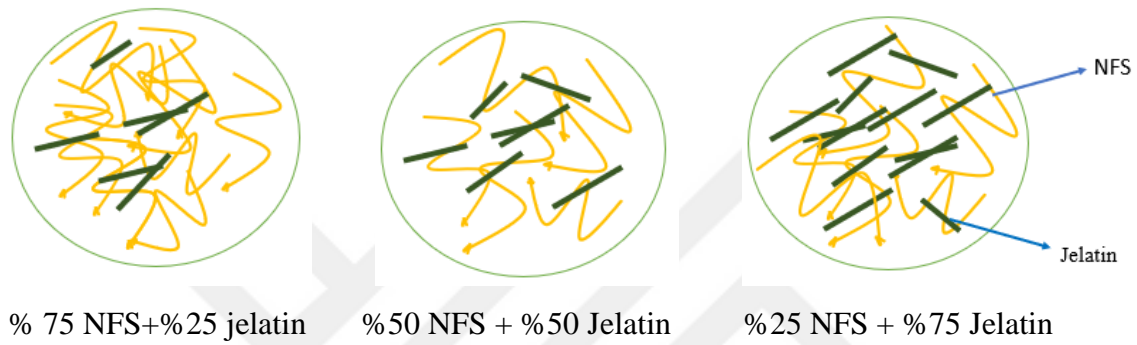
MYS ile tutunma önce artış göstermiş sonra azalmıştır. NFS-1 ile kıyaslandığında NFS-3' ün daha az MYS tutunumuna sahip olduğu ve daha az şiştiği görülmektedir. Bu durum, daha öncede belirtildiği üzere aldehit gruplarının selüloz fibrillerini asetal ve yarı asetal bağlarla birbirine bağlanması ile çapraz bağlı bir yapının oluşmasından kaynaklanmaktadır

Çalışmada belirtilen oranlarda hazırlanan karışımların QCM-D kristal yüzeyine döner kaplama tekniği ile aktarılması karışımın reolojik özelliklerinin film özelliklerine etki etmesine neden olmaktadır (Yüksek viskoziteye sahip materyalin daha kalın tabaka oluşturması gibi). Bununla birlikte reolojik özellikler kimyasalların birbiriyle olan etkileşimleriyle de alakalıdır.

Moleküler yapılarında bulunan iyonik gruplara ilaveten OH, NH ve karboksil grupları NFS ile jelatin etkileşiminde hem elektrostatik hem de hidrojen bağı oluşumunun etkili olabileceğini göstermektedir. Khalalo ve ark. Yüzey Plazma Rezonansı (SPR) kullanılarak NFS model film üzerine pH 5.8' de adsorbe edilen jelatin miktarını $2,27 \text{ mg/m}^2$ olarak tespit etmişlerdir. Ortalama özgül yüzey alanı $250 \text{ m}^2/\text{g}$ olarak kabul edilirse, NFS üzerindeki jelatin adsorpsiyonu 0.55 mg/g olarak hesaplanabilir. Bu %64 NFS/ %36 jelatin oranlarından

oluşan bir karışımın, bu malzemeler arasında neredeyse %100 birleştirme sağladığı yaklaşımını verir. Bu hesaplama dikkate alındığında deneysel çalışmalar da %75 NFS + %25 Jelatin karışımında serbest selüloz fibrillerine bağlı olmayan jelatin moleküllerinin olmadığı, diğer karışımlarda ise selüloz fibrillerine bağlı olmayan jelatin varlığından bahsedilebilir. Daha esnek yapıya sahip olduğu düşünülür.

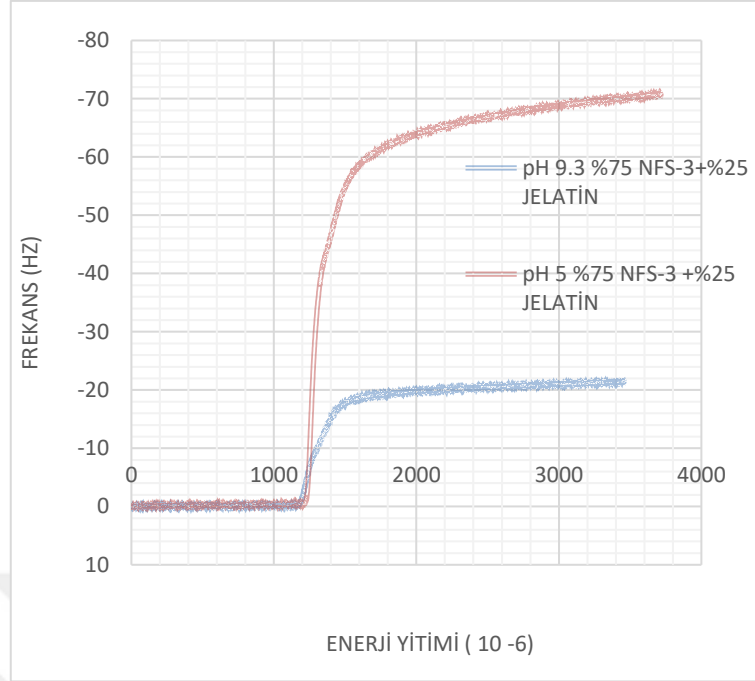
Jelatinin döner kaplama sırasında film yüzeyinde boşlukları doldurarak yüzey pürüzlülüğünü düşürdüğü söylenebilir. Karışımın şematik gösterimi aşağıda verilmiştir.



3.2.4. pH'm Jelatin Adsorpsiyonuna Etkisi

Jelatinin jel kuvveti, konsantrasyon, prolin+hidroksiprolin kalıntılarının dağılımı, molekül büyüklüğü ve şekillerine bağlı olmakla beraber pH 4 ile 10 aralığında pH' dan bağımsız olduğu, bu aralığın dışında ise jelatin jellerinin inhibe olduğu bildirilmektedir.

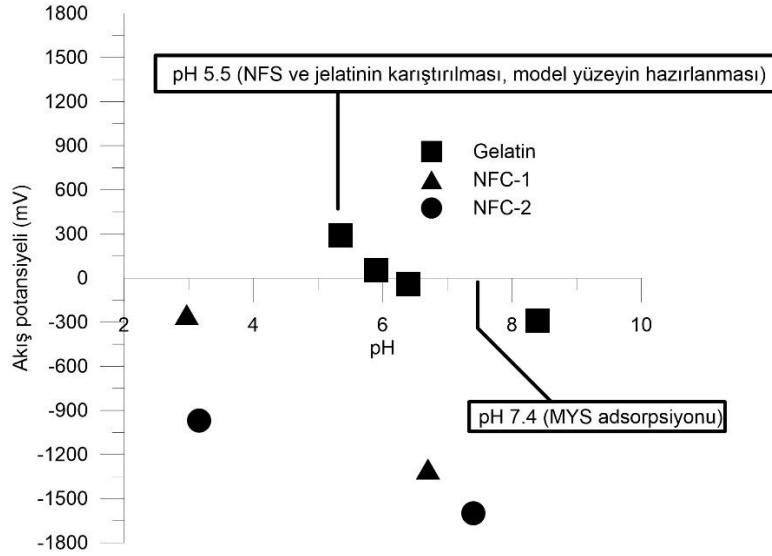
Jelatin/NFS karışım yüzeyindeki MYS sonucu şişme ve tutunmayı etkileyen etmenler arasında pH' da önemli bir yer tutmaktadır. Bu etkiyi görebilmek için farklı pH' larda hazırlanmış olan karışım yüzeylerinin QCM-D ile incelenmesiyle elde edilen frekans ve enerji yitim grafiği Şekil 28' de verilmiştir. Grafik incelendiğinde düşük pH ile frekansın yani yüzeyde meydana gelen şişmenin ayrıca enerji yitim eğrisi incelendiğinde de yüzeydeki tutunmanın arttığı belirgin olarak görülebilmektedir.



Şekil 28. pH'ın frekans ve enerji yitim üzerine etkisi

3.2.5. Jelatin ve NFS'nin İzoelektrik Noktası

Şekil 29' da görüldüğü üzere pH 5.5' de üretilen NFS/Jelatin filmlerinde NFS anyonik yüke sahipken jelatin katyonik yüke sahiptir. Jelatinin lizin ve arjinin grupları İEP' den (pH 6.2) daha düşük asidik pH' larda protonlanır. pH 6,2' den yüksek olan 'nin İEP' nin ötesinde, bu gruplar protonlarını kaybederken glutamik ve aspartik asit negatif yüklü hale gelmiştir. Şekilde görüldüğü gibi, NFS' ler jelatin ile karıştırıldığında hidrojen, asetal ve amidol bağlarının yanı sıra elektrostatik çekim itici mekanizmadır. MYS, model filme enjekte edildiğinde, pH 7.4' e yükselmiş ve elektrostatik itme baskın hale gelmiştir. MYS içerisindeki elektrolitler hem NFS'lerin hem de jelatinin üzerindeki iyonik grupları adsorbe etmiştir. Bu durumda elektrolit adsorpsiyonu ve elektrostatik itmenin, filmlerin şişmesinde artırıcı bir etki oluşturduğu sonucuna varılabilir.

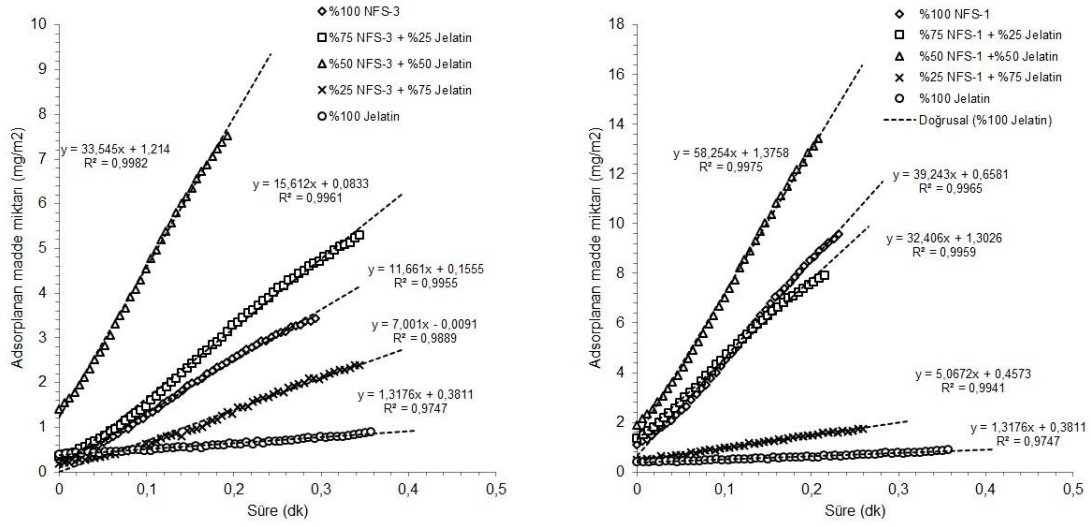


Şekil 29. NFS ve Jelatinin İzoelektrik noktası

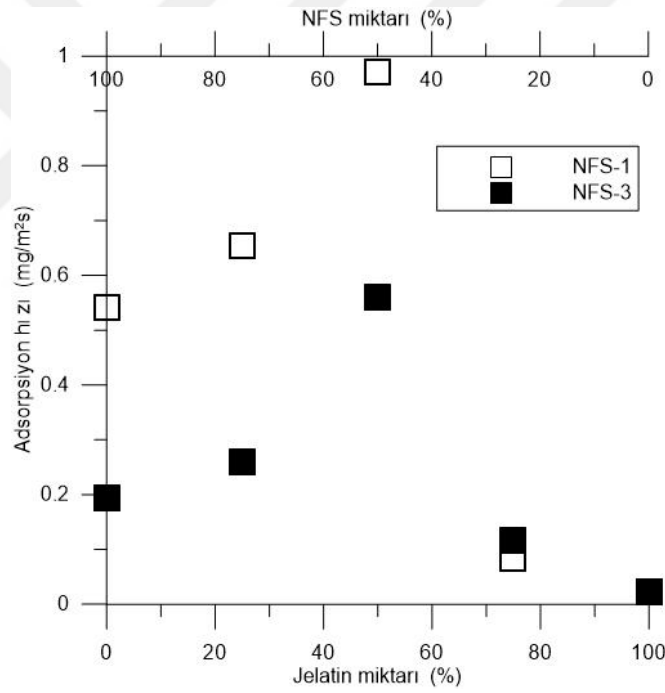
3.2.6. MYS' nin Adsorpsiyon Oranı

Kristal üzerine adsorplanan kütle Δf 'deki değişimi kullanarak Sauerbrey denklemine göre hesaplanmaktadır (Denklem 1). Adsorplanan MYS oranı ($\text{mg}/\text{m}^2\text{s}$), filmlerin adsorpsiyon hızı, Sauerbrey kütesinin ilk eğimi ile adsorpsiyon zamanı eklenerek doğrusal eğilim ile belirlenmiştir. Daha yüksek aldehid içeriğine sahip NFS-1' den oluşan film ile NFS-2 içeren film karşılaştırıldığında MYS' nin adsorpsiyon hızı, daha yavaştır (Şekil 30).

Aldehit grupları ile hidroksil veya amin grupları arasındaki asetal ve amidol bağına bağlı filmin çapraz bağlanmış ve kompakt yapısı, adsorpsiyon hızını azaltmıştır. Jelatin içeriği %50'ye yükseldiğinde, hem NFS-1 hem de NFS-2 içeren film için adsorpsiyon hızı artmıştır. Bu noktadan sonra, muhtemelen daha fazla oranda jelatin film yapısını değiştirmiş ve adsorpsiyon oranını düşürmüştür. Katyonik jelatin ile anyonik NFS arasındaki pH 5.5' deki kompleksleşme mekanizması da film özelliklerini etkiler ve dolayısıyla adsorpsiyon hızını değiştirir.



Şekil 30. Adsorbe edilen Sauerbrey kütesinin ilk eğimi



Şekil 31. NFS-1/jelatin ve NFS-2/jelatin model filmlerinde, MYS adsorpsiyon hızı

4. SONUÇLAR

4.1. NFS/Kitosan Çalışmaları

Tez kapsamında farklı oranlarda aldehit içeren NFS'ler kullanılarak döner kaplayıcı yardımı ile QCM-D kristal yüzeylerine filmler oluşturulmuştur. Bu filmlerin hem su hemde MYS ile olan etkileşimleri detaylı bir şekilde QCM-D cihazı ile araştırılmıştır.

NFS/Kitosan çalışmaları incelenen NFS filmlerinin aldehit oranı arttıkça su adsorplamayı gösteren frekans değişiminin arttığı bulunmuştur. Bu filmlerde aldehit içeriğinin artmasıyla karboksil miktarının düştüğü görülmüştür. XRD sonuçlarına göre asetal ve yarı asetal bağları yapabilen NFS filmlerinin daha fazla amorf bölgeye sahip olduğu görülmüştür. Kitosanın asetik asit ile muamele edilmesiyle birlikte kristalen bölgeyi işaret eden pikin ortadan kaybolduğu görülmüştür.

Model yüzeylerin kitosan adsorpsiyonu deneylerine bakıldığında aldehit oranı yüksek olan filmlerin daha düşük miktarda kitosan adsorpladığı bulunmuştur. Bu durum filmin kimyasal ve fiziksel yapısındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Özellikle aldehit gruplarının varlığı hidroksil ve sekonder aminler ile çapraz bağlanma yaratarak NFS ve kitosan matris yapılarının daha sıkı olmasını sağlar. Bu yüzeylerin MYS ile etkileşimlerinde aldehit gruplarından etkilenmiştir. Aldehit grubu fazla olan NFS-1/ kitosan matrisinin daha düşük oranda MYS adsorpladığı görülmüştür.

Kitosanın asetik asit ile muamelesi hem yapısında hemde NFS ile olan etkileşimde büyük değişikliklere yol açmıştır. QCM-D çalışmalarında NFS yüzeylerine kitosan-2 gönderildiğinde oluşan film tabakasının daha az su içerdiği belirlenmiştir. Araştırmanın bu noktasının daha açık hale getirilebilmesi için reflometrik yöntemlerin kullanılması gerekmektedir.

4.2. NFS/Jelatin Çalışmaları

Farklı oranlarda NFS ve jelatinin pH:5.5'de karıştırılmasının ardından döner kaplayıcıda filmler üretilmiş ve bu filmlerin MYS adsorpsiyonu incelenmiştir. Adsorplanan madde miktarını gösteren frekans değişimi jelatinin %50 oranına çıktığı filmlerde daha fazla olduğu görülmüştür.

Adsorpsiyon MYS'nin NFS/Jelatin filmlerine adsorpsiyon hızı incelendiğinde aldehit kuruluğu fazla, karboksil grubu az olan NFS-1/Jelatin filminden daha yavaş olduğu belirlenmiştir. Selüloz/Jelatin networkunun asetal ve amidol bağları ile daha sıkı yapıya dönüşmesi bu duruma neden olmuştur.



5. ÖNERİLER

Aldehit ve karboksil içeriği farklı NFS'lerin kitosan ve jelatin ile birlikte MYS ile nasıl etkileşime girdiği, QCM-D tekniği kullanılarak incelemeler yapılmıştır. Özellikle yara örtüsü uygulamalarında kullanılan matris yapılar dikkate alındığında selüloz, kitosan ve jelatin yaygın olarak kullanıldığı görülmüştür. Ancak bu yapıların yara sıvısı ile temasında sağlamlığını koruması önemli bir özelliktir. Glutel aldehit gibi çapraz bağlayıcılarının yapıya ilave edildiği bilinmektedir. Bu tez kapsamında selülozun hidroksil gruplarının bir kısmının aldehit yapısına dönüştürülmesi ve oluşturulacak NFS/Biyoaktif malzeme kompleksinin dayanımına katkı yapması düşünülmüştür. Çalışmalarda sadece MYS ile etkileşimler incelenmiş olup bu maddelerin aorejel uygulması ile yara örtüsüne dönüştürülmesi ayrı bir doktora tezi olarak çalışılmaktadır.

Filmlerin MYS ile etkileşiminde fonksiyonel grupların ötesinde yapısal özelliklerinde etkili olacağı görülmüştür. Bu nedenle film içerisinde çapraz bağlanma sağlanacak kimyasalın film özelliklerine de nasıl etki edeceği incelenmelidir. Adsorpsiyon çalışmalarında QCM-D tekniğini destekleyici olarak replotometrik yöntemlerin kullanımı önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

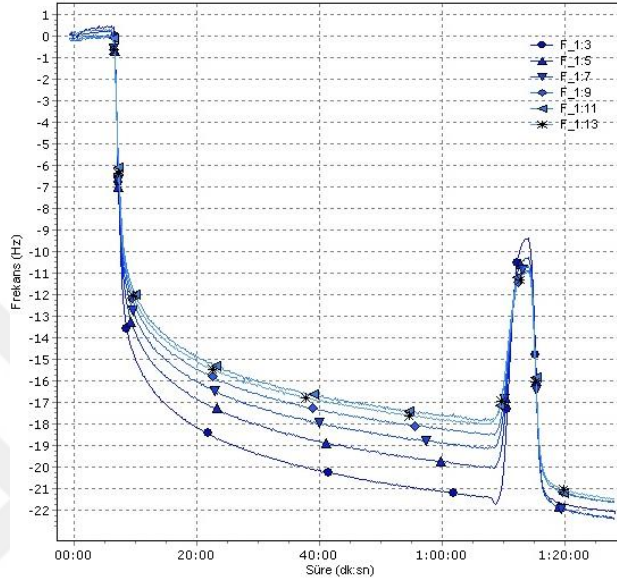
- Arnesen, J. A. ve Gildberg, A., 2002. Preparation and Characterisation of Gelatine From the Skin of Harp Seal (*Phoca groenlandica*), Bioresource Technology, 82, 191-194.
- Binan, L., Tendey, C. ve Crescenzo, G. D., 2014. Differentiation of Neuronal Stem Cells Into Motor Neurons Using Electrospun Poly-l-lactic Acid/gelatin Scaffold, Biomaterials, 35, 664-674.
- Cheow, C. S., Norizah, M. S, Kyaw, Z. Y. ve Howell, N. K., 2007. Preparation and Characterisation of Gelatins From the Skins of Sin Croker and Shortfin Scard, Food Chemistry, 101, 386-391.
- Chong, E. J., Phan, T. T. ve Lim, I. J., 2007. Evaluation of Electrospun PCL/gelatin Nanofibrous Scaffold for Wound Healing and Layered Dermal Reconstitution, Acta Biomater, 3, 321-330.
- Cimecioglu, A. L. ve Thomaidis, J. S., 2003. Polysaccharide Aldehydes Prepared by Oxidation Method and Used Strength Additives in Papermaking, United States Patent, 6, 586-588.
- Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M. ve Chiellini, E., 2011. Chitosan-A Versatile Semi-Synthetic Polymer in Biomedical Applications, Progress in Polymer Science, 36, 981-1014.
- Du, L., Khiari, Z., Pietrasik, Z. ve Betti, M., 2013. Physicochemical and Functional Properties of Gelatins Extracted From Turkey and Chicken Heads, Poultry Science, 92, 2463-2474.
- Dutta, P. K., Dutta, J. ve Tripathi, V. S., 2004. Chitin and Chitosan: Chemistry, Properties and Application, Journal of Scientific and Industrial Research, 63, 20-31.
- Elzoghby, A. O., 2013. Gelatin-based Nanoparticles as Drug and Gene Delivery Systems: Reviewing Three Decades of Research. J Controlled Release, 172, 1075-1091.
- Erge, A. ve Zorba, Ö., 2016. Jelatin ve Fizikokimyasal Özellikleri, Akademik Gıda, 431-440.
- Gautam, S., Chou, C. F. ve Dinda, A. K., 2014. Surface Modification of Nanofibrous Polycaprolactone/gelatin Composite Scaffold by Collagen Type I Grafting for Skin Tissue Engineering, Materials Science and Engineering, 34, 402-409.
- Gautam, S., Dinda, A. K. ve Mishra, N. C., 2013. Fabrication and Characterization of PCL/gelatin Composite Nanofibrous Scaffold for Tissue Engineering Applications by Electrospinning Method, Materials Science and Engineering, 3, 1228-1235.
- Gonzales, I., Baufi, S. ve Pelach, M. A., 2012. Nanofibrillated Cellulose as Paper Additive in Eucalyptus Pulps, Bioresources, 7, 5167-5180.

- Guo, X.F., Kikuchi, K., Matahira, Y., Sakai, K. ve Ogawa, K., 2002. Water-Soluble Chitin of Low Degree of Deacetylation, Journal of Carbohydrate Chemistry, 21, 149-161.
- Isogai, A., Saito, T. ve Fukuzumi, H., 2011. Tempo-oxidized Cellulose Nanofibers, Nanoscale, 3, 71-85.
- Iwamoto, S., Isogai, A. ve Iwata, T., 2011. Structure and Mechanical Properties of Wet-spun Fibers Made From Natural Cellulose Nanofibers, Biomacromolecules, 12, 831-836.
- Jayakumar, R., Menon, D., Manzoor, K., Nair, S. V. ve Tamura, H., 2010. Biomedical Applications of Chitin and Chitosan Based Nanomaterials, Carbohydrate Polymers, 82, 227-232.
- Kalia, S., Boufi, S. ve Celli, A., 2014. Nanofibrillated Cellulose: Surface Modification and Potential Applications, Colloid and Polymer Science, 292, 5-31.
- Khalil, H. S. A., Davoudpour, Y. ve Islam, M. N., 2014. Production and Modification of Nanofibrillated Cellulose Using Various Mechanical Processes: A Review, Carbohydrate Polymers, 99, 649-665.
- Kurita, K., 2006. Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans, Marine Biotechnology, 8, 203-226
- Lee, S. Y., Chun, S. J. ve Kang, I. A., 2009. Preparation of Cellulose Nanofibers by High-pressure Homogenizer and Cellulose-based Composite Films, Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 5, 50-55.
- Manocha, L. M., Valand, J. ve Patel, N., 2006. Nanocomposites for Structural Applications, Indian Journal of Pure and Applied Physics, 44, 135-142.
- Muzzarellia, R. A. A., Boudrant, J., Meyer, D., Manno, N., Demarchis, M. ve Paoletti, M. G., 2012. Current Views on Fungal Chitin/Chitosan, Human Chitinases, Food Preservation, Glucans, Pectins and Inulin: A Tribute to Henri Braconnot, Precursor of the Carbohydrate Polymers Science, on the Chitin Bicentennial, Carbohydrate Polymers, 87, 995-1012.
- Nemtsev, S. V., Gamzazade, A. I., Rogozhin, S. V., Bykova, V. M. ve Bykov, V. P., 2002. Deacetylation of Chitin under Homogeneous Conditions, Applied Biochemistry and Microbiology, 38, 521-526.
- Nogi, M., Lwamoto, S. ve Nakagaito, A. N., 2009. Optically Transparent Nanofiber Paper, Advanced Materials, 21, 1595-1598.
- Olszewska, A., Eronen, P. ve Johansson, L. S., 2011. The Behaviour of Cationic Nano Fibrillar Celulose in Aqueous Media, Cellulose, 18, 1213-1226.
- Ondaral, S., Hocaoglu, G. ve Ergün, M. E., 2015. Cationic and Anionic Nanofibrillated Celluloses as Dry Stregth Additives for Papermaking, Cellulose Chemistry and Technology, 49, 7-8, 617-623.

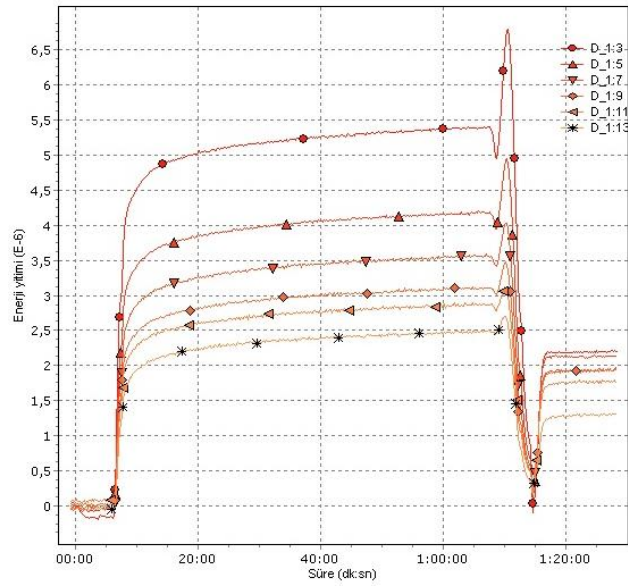
- Rahman, M. S., Al-Saidi, G. S., Guizani, N., 2008. Thermal Characterisation of Gelatin Extracted from Yellowfin Tuna Skin and Mammalian Gelatin, Food Chemistry, 108, 472-481.
- Saito, T., Kimura, S. ve Nishiyama, Y., 2007. Cellulose Nanofibers Prepared by Tempo-mediated Oxidation of Native Cellulose, Biomacromolecules, 8, 2485-2491.
- Sarboon, N. M., Badii, F. ve Howell, N. K., 2013. Preparation and Characterisation of Chicken Skin Gelatin as an Alternative to Mammalian Gelatin, Food Hydrocolloids, 30, 143-151.
- Segal, L., Creely, J. J., Martin Jr, A. E. ve Conrad, C. M., 1959. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer, Textile Research Journal, 29, 10, 786-794.
- Sehaqui, H., Mushi, N. E. ve Morimune, S., 2012. Cellulose Nanofiber Orientation in Nanopaper and Nanocomposites by Cold Drawing, ACS Applied Materials and Interfaces, 4, 1043-1449.
- Seydibeyoglu, M. O. ve Oksman, K., 2008. Novel Nanocomposites Based on Polyurethane and Micro Fibrillated Cellulose, Compos Science Technology, 68, 3-4, 908-914.
- Srithongkham, S., Vivitchanont, L. ve Krongtaew, C., 2012. Starch/cellulose Biocomposites Prepared by High-shear Homogenization/compression Molding, Journal of Materials Science and Engineering B, 2, 4, 213-222.
- Taipale, T., Österberg, M. ve Nykänen, A. 2010. Effect of Microfibrillated Cellulose and Fines on the Drainage of Kraft Pulp Suspension and Paper Strength, Cellulose, 17, 1005-1020.
- Ulubayram, K., Cakar, A. N. ve Korkusuz, P., 2001. EGF Containing Gelatin-based Wound Dressings, Biomaterials, 22, 1345-1356.
- Varma, A. J., Deshpandea, S. V. ve Kennedy, J. F., 2004. Metal Complexation by Chitosan and Its Derivatives: A Review, Carbohydrate Polymers, 55, 77-93.
- Wasswa, J., Tang, J. ve Gu, X., 2007. Utilization of Fish Processing by Products in the Gelatin Industry, Food Reviews International., 23, 159-174.
- Xie, W., Xu, P. ve Liu, Q., 2001. Antioxidant Activity of Water Soluble Chitosan Derivatives, Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 11, 1699-1701.
- Yıldırım, Z., Öncük, N. ve Yıldırım, M., 2016. Kitosan ve Antimikrobiyal Özellikleri, 5, 1, 19-36.
- Younes, I. ve Rinaudo, M., 2015. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications, Marine Drugs, 13, 1133-1174.
- Zimmermann, T., Bordeanu, N. ve Strub, E., 2010. Properties of Nanofibrillated Cellulose from Different Raw Materials and its Reinforcement Potential, Carbohydrate Polymers 79, 4, 1086-1093.

7. EKLER

EK-1

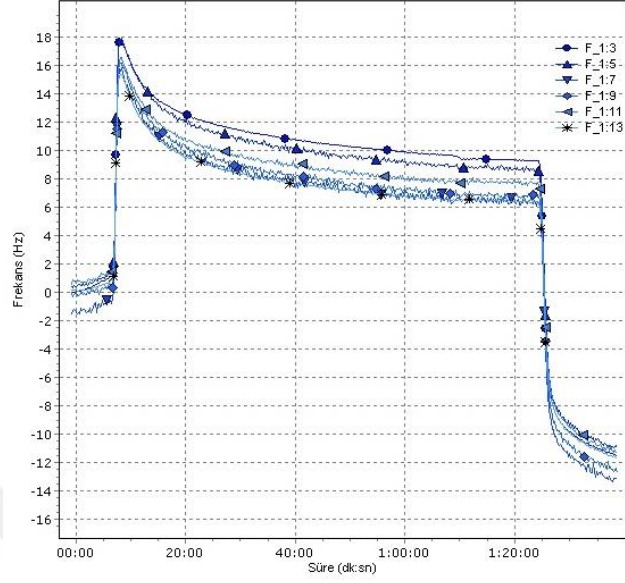


Ek Şekil 1. NFS-1 için, kitosan-1 ve MYS adsorpsiyonu frekans grafiği

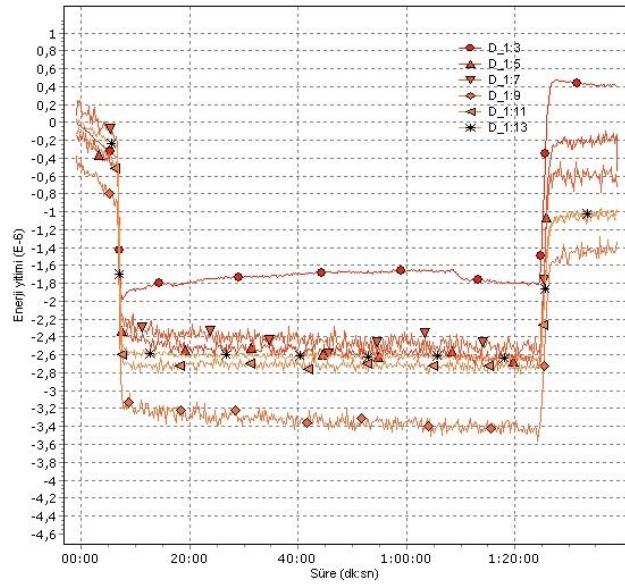


Ek Şekil 2. NFS-1 için, kitosan-1 ve MYS adsorpsiyonu enerji yitim grafiği

Ek-1'in devamı

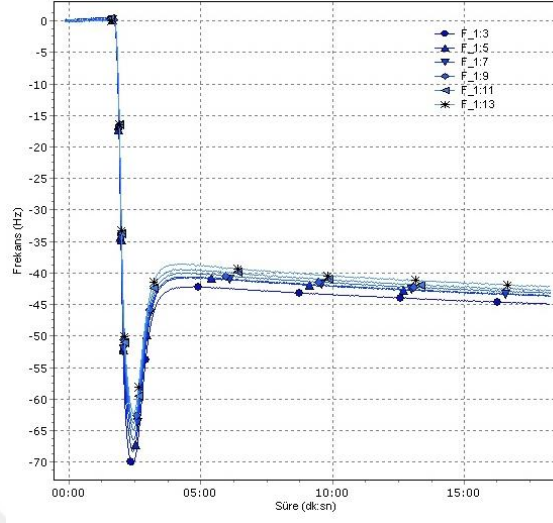


Ek Şekil 3. NFS-1 için, kitosan-2 ve MYS adsorpsiyon frekans grafiği

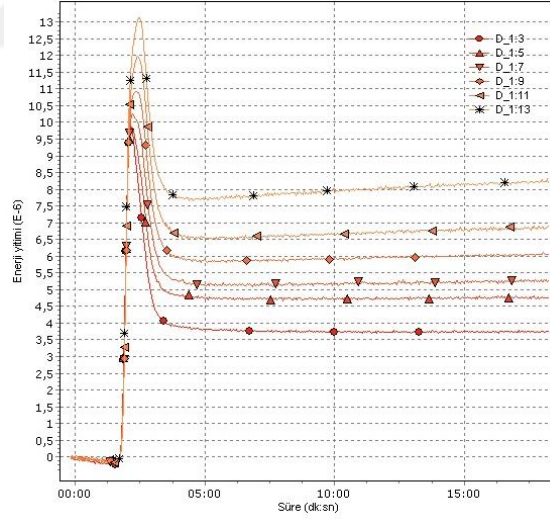


Ek Şekil 4. NFS-1 için, kitosan-2 ve MYS adsorpsiyon enerji yitim grafiği

Ek-1'in devamı

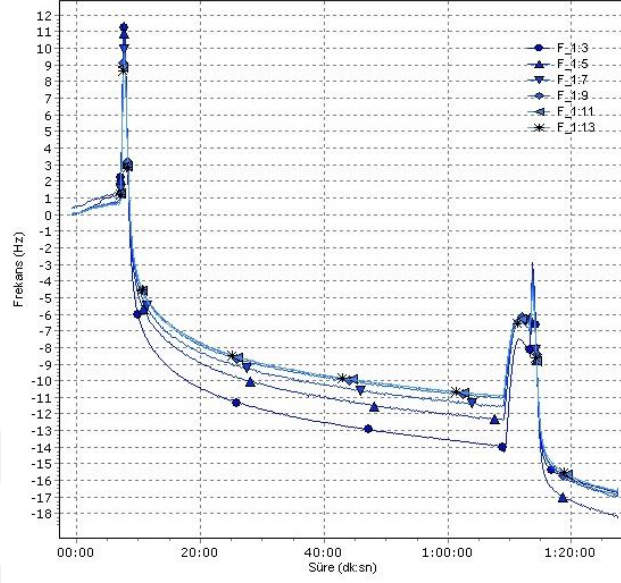


Ek Şekil 5. NFS-1 ,MYS adsorpsiyonu frekans grafiği

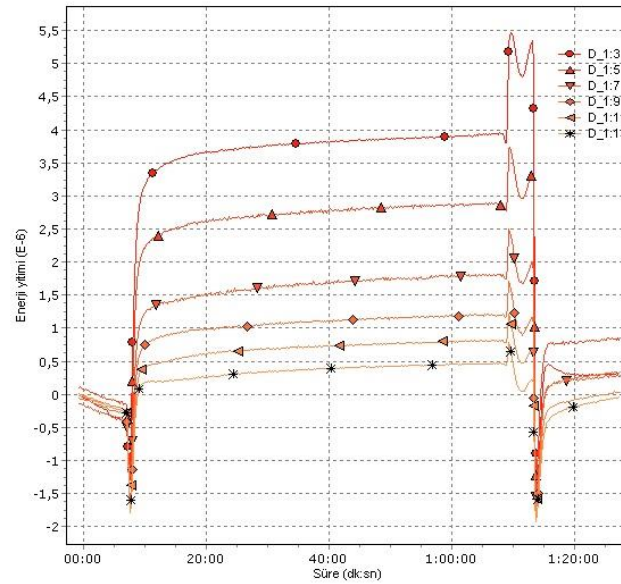


Ek Şekil 6. NFS-1,MYS adsorpsiyonu enerji yitim grafiği

Ek-1'in devamı

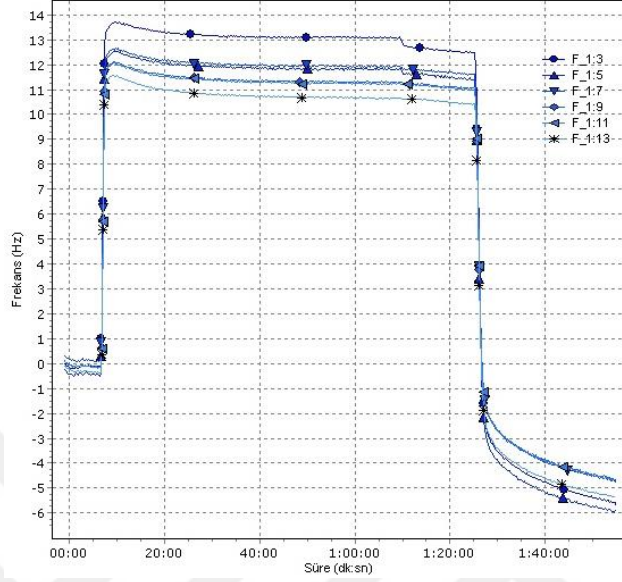


Ek Şekil 7. NFS-2 için, kitosan-1 ve MYS adsorpsiyonu frekans grafiği

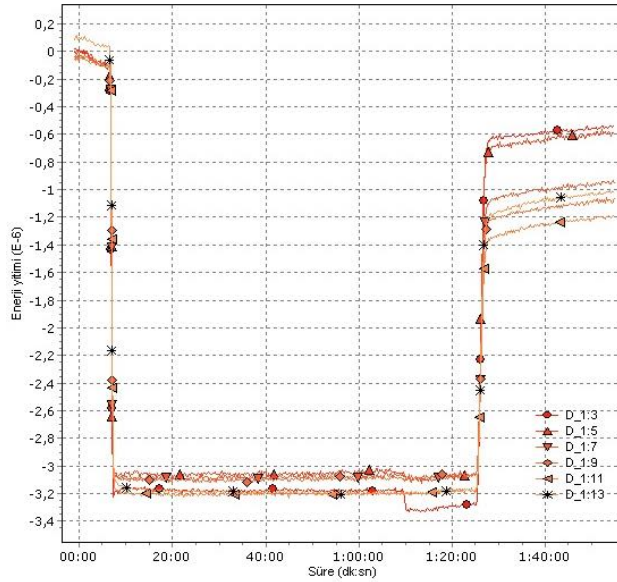


Ek Şekil 8. NFS-2 için, kitosan-1 ve MYS adsorpsiyonu enerji yitim grafiği

Ek-1'in devamı

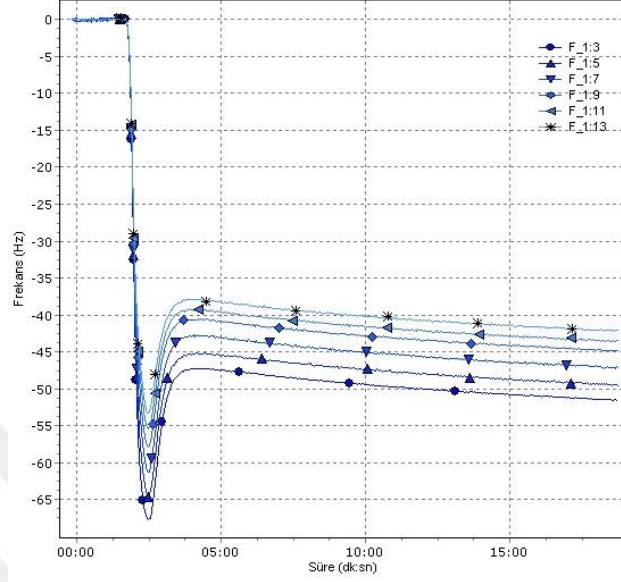


Ek Şekil 9.NFS-2 için, kitosan-2 veMYS adsorpsiyonu frekans grafiği

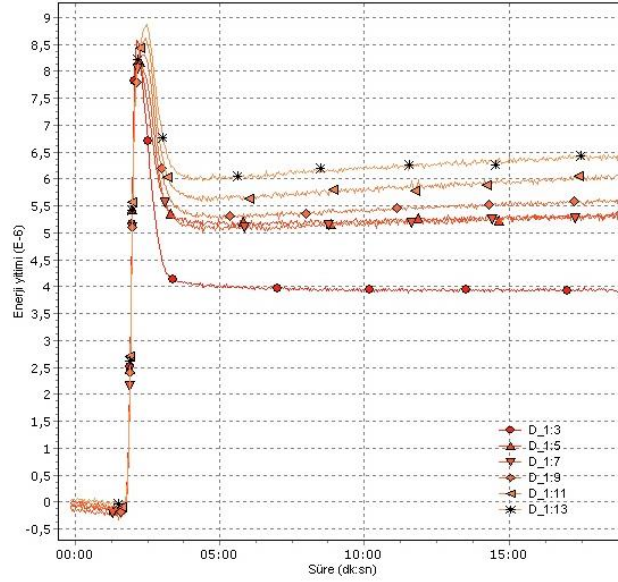


Ek Şekil 10. NFS-2 için, kitosan-2 ve MYS adsorpsiyon enerji yitim grafiği

Ek-1'in devamı

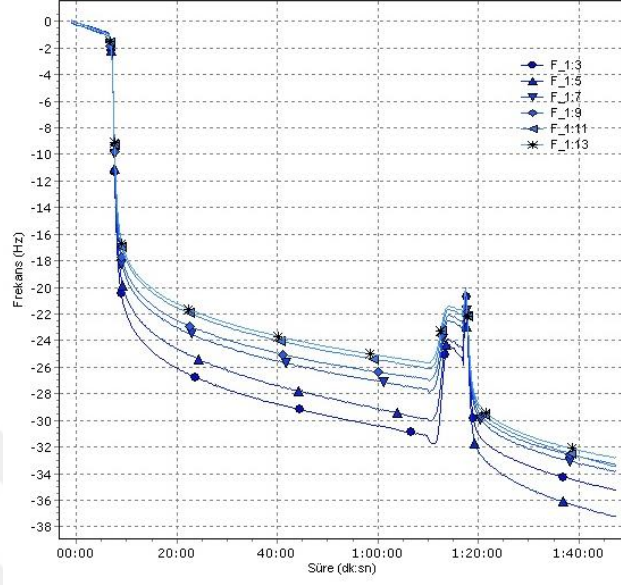


Ek Şekil 11. NFS-2, MYS adsorpsiyonu frekans grafiği

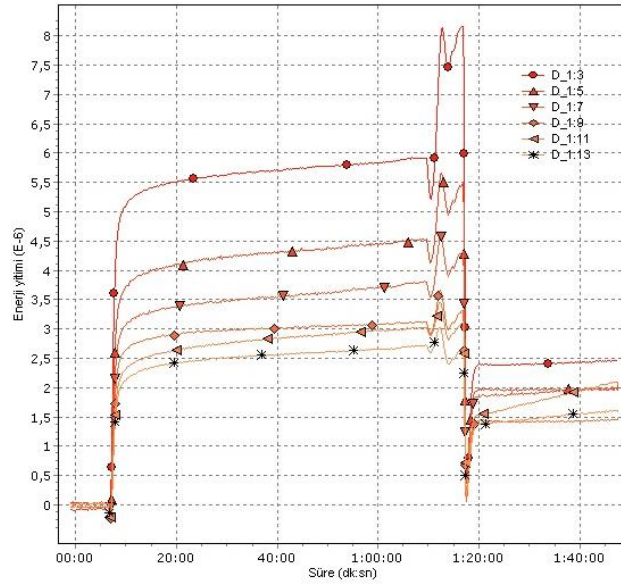


Ek Şekil 12. NFS-2, MYS adsorpsiyonu enerji yitim grafiği

Ek-1'in devamı

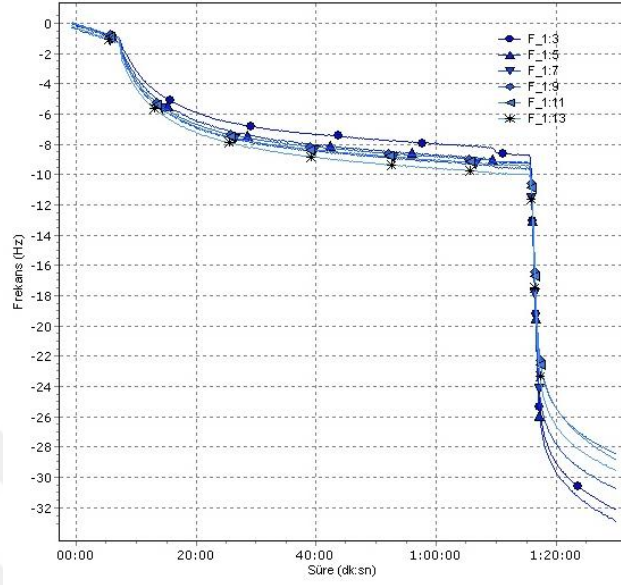


Ek Şekil 13. NFS-3 için, kitosan-1 ve MYS adsorpsiyonu frekans grafiği

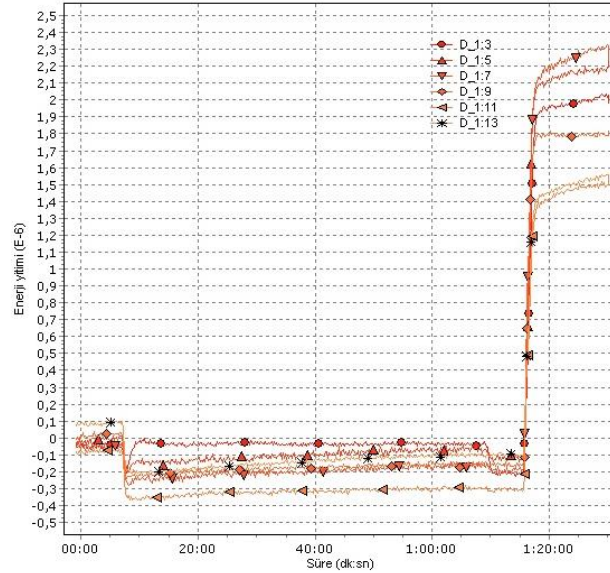


Ek Şekil 14. NFS-3 için, kitosan-1 ve MYS adsorpsiyon enerji yitim grafiği

Ek-1'in devamı

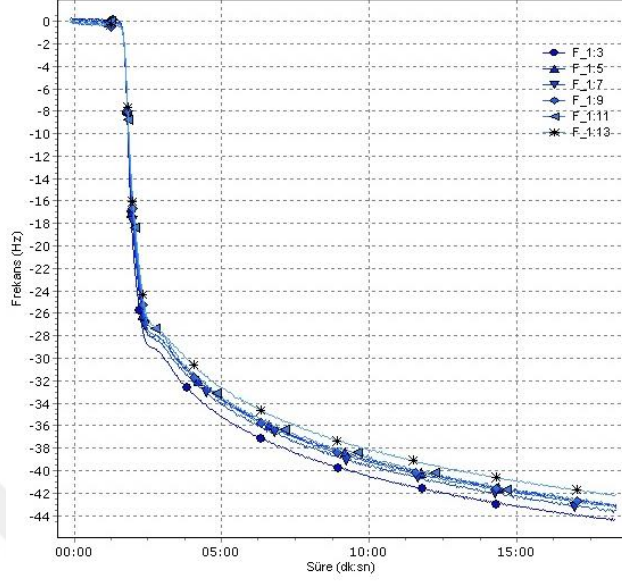


Ek Şekil 15. NFS-3 için, kitosan-2 ve MYS adsorpsiyonu frekans grafiği

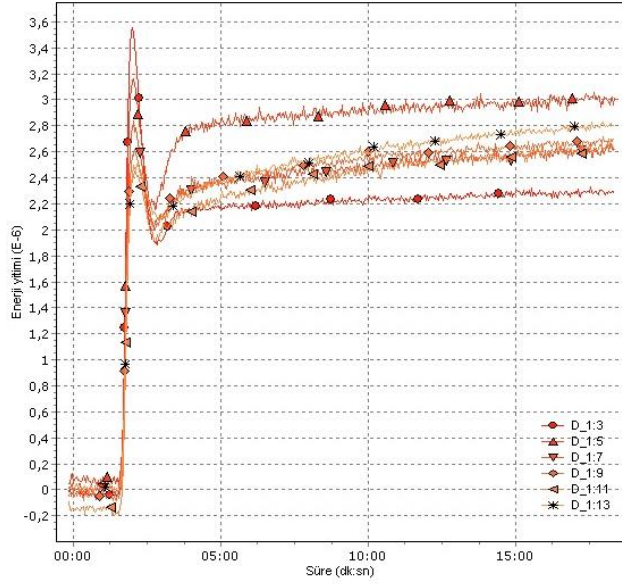


Ek Şekil 16. NFS-3 için, kitosan-2 ve MYS adsorpsiyonu enerji yitim grafiği

Ek-1'in devamı



Ek Şekil 17. NFS-3 için, MYS adsorpsiyonu frekans grafiği



Ek Şekil 18. NFS-3 için, MYS adsorpsiyonu enerji yitim grafiği

ÖZGEÇMİŞ

22.04.1993 tarihinde Trabzon'da doğan Elif ÇELİK ilk ve orta öğretimini de burada tamamlamıştır. 2011'de K.T.Ü 'de Orman Endüstri Mühendisliği bölümünde başladığı lisans öğrenimini 2015 yılında tamamladı. K.T.Ü Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı olan Lif ve kağıt teknolojisi anabilim dalında yüksek lisans öğrenimine başlamıştır.

