

**YALOVA ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LİPAZ İMMOBİLİZE EDİLMİŞ POLİAKRİLAMİT HİDROJELLERİNİN  
ŞİŞME, AKTİVİTE VE SALIM DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Nazlı ÖZCAN**

**Kimya ve Süreç Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Kimya ve Süreç Mühendisliği Programı**

**HAZİRAN 2014**



**YALOVA ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LİPAZ İMMOBİLİZE EDİLMİŞ POLİAKRİLAMİT HİDROJELLERİNİN  
ŞİŞME, AKTİVİTE VE SALIM DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Nazlı ÖZCAN  
(125107006)**

**Kimya ve Süreç Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Kimya ve Süreç Mühendisliği Programı**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Didem OMAV**

**HAZİRAN 2014**



YALOVA ÜNİVERSİTESİ Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 125107006 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **NAZLI ÖZCAN**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**LİPAZ İMMOBİLİZE EDİLMİŞ POLİAKRİLAMİT HİDROJELLERİNİN ŞİŞME, AKTİVİTE VE SALIM DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :** Yrd.Doç.Dr.Didem OMA Y  
Yalova Üniversitesi



**Jüri Üyeleri :** Yrd.Doç.Dr.Didem OMA Y  
Yalova Üniversitesi



Yrd.Doç.Dr.Hikmet OKKAY  
Yalova Üniversitesi



Doç. Dr. İ. Gökhan TEMEL  
Yalova Üniversitesi



**Teslim Tarihi : 17 Haziran 2014**  
**Savunma Tarihi : 02 Temmuz 2014**



*Aileme,*





## ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmam süresince; sadece okul yaşantımda değil, aynı zamanda sosyal ve kültürel yaşantımda da her daim yakın ilgisini esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, çok sevdiğim ve değer verdiğim hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Didem OMA Y'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Doç.Dr.İ.Gökhan TEMEL ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Bayram KILIÇ'a,

Yüksek lisansın ders aşamasında bilgi ve birikimlerinden yararlandığım tüm Yalova Üniversitesi Kimya ve Süreç Mühendisliği öğretim üyelerine,

Yine laboratuvar çalışmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı sevgili arkadaşım Pınar AKAY'a,

Çalışmalarım boyunca gösterdiği anlayış ve büyük yardımlarından dolayı değerli arkadaşım İbrahim ÇÖKEN'e,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, bıkmadan emek veren ve sevgilerini hiçbir zaman eksik etmeyen canım aileme,

Ayrıca öğrenim hayatım boyunca beni maddi ve manevi destekleyen, üzerimde bir anne kadar emeği olan canım babaanneme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Haziran 2014

Nazlı ÖZCAN



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER .....	ix
KISALTMALAR.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
SUMMARY .....	xix
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ .....	3
2.1 Hidrojeller .....	3
2.1.1 Hidrojellerin sınıflandırılması.....	5
2.1.1.1 Hazırlama yöntemlerine göre hidrojeller .....	6
2.1.1.2 İyon yüklerine göre hidrojeller.....	7
2.1.1.3 Fiziksel yapılarına göre hidrojeller .....	8
2.1.1.4 Çapraz bağ durumlarına göre hidrojeller .....	8
2.1.2 Hidrojellerin sentezi.....	9
2.1.3 Hidrojellerin şişme davranışları .....	9
2.1.3.1 Hidrojellerin dinamik şişme davranışı .....	9
2.1.3.2 Hidrojellerin şişme kinetik mekanizması.....	11
2.1.4 Hidrojellerin kullanım alanları .....	14
2.2 Poliakrilamit .....	16
2.2.1 Poliakrilamit üretiminde kullanılan yöntemler .....	17
2.2.1.1 Sulu çözelti polimerizasyonu .....	17
2.2.1.2 Karışık çözücü sistemlerinde çözelti polimerizasyonu .....	18
2.2.1.3 Dispers faz polimerizasyonu .....	18
2.2.2 Akrlamit bazlı hidrojeller .....	18
2.3 Enzimler ve Genel Özellikleri .....	20
2.3.1 Lipaz enzimi .....	21
2.4 Enzim İmmobilizasyonu .....	22
2.4.1 Taşıyıcı destek materyali .....	23
2.4.2 Enzim immobilizasyon yöntemleri .....	24
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....	27
3.1 Kullanılan Malzemeler .....	27
3.2 Ekipmanlar .....	27
3.3 Akrlamit Bazlı Hidrojellerin Hazırlanması .....	27
3.3.1 Hidrojellerin sentezi .....	27
3.3.1.1 Saf poliakrilamit hidrojellerinin sentezi .....	27
3.3.1.2 Lipaz&poliakrilamit hidrojellerinin sentezi .....	28
3.3.2 Hidrojellerin kurutulması.....	29
3.3.2.1 Kötü çözücü ile kurutma .....	29
3.3.2.2 Freeze dryer ile kurutma .....	30
3.4 Akrlamit Bazlı Hidrojellerin Karakterizasyonu .....	30

3.5 Enzim Aktivitesi Analizi .....	31
3.5.1 Serbest enzim aktivitesi analizi .....	31
3.5.2 İmmobilize enzim aktivitesi analizi .....	31
3.5.3 Protein tespiti .....	31
<b>4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>33</b>
4.1 Kurutma Yöntemlerinin Akrilamit Bazlı Hidrojeller Üzerine Etkilerinin İncelenmesi.....	33
4.1.1 Farklı yöntemler ile kurutulmuş akrilamit bazlı hidrojellerin karakterizasyonu .....	33
4.1.1.1 Farklı Yöntemler ile kurutulmuş akrilamit bazlı hidrojellerin yüzey morfolojisi .....	33
4.1.2 Farklı yöntemler ile kurutulmuş akrilamit bazlı hidrojellerin şişme davranışlarının incelenmesi .....	34
4.1.2.1 Farklı yöntemler ile kurutulmuş akrilamit bazlı hidrojellerin dinamik şişme davranışı .....	34
4.1.2.2 Farklı yöntemler ile kurutulmuş akrilamit bazlı hidrojellerin şişme kinetik mekanizması .....	36
4.2 İmmobilize Enzimin Akrilamit Bazlı Hidrojeller Üzerine Etkilerinin İncelenmesi .....	45
4.2.1 Lipaz immobilize edilmiş akrilamit bazlı hidrojellerin karakterizasyonu .....	45
4.2.1.1 Lipaz immobilize edilmiş akrilamit bazlı hidrojellerin ısı analizi ...	45
4.2.1.2 Lipaz immobilize edilmiş akrilamit bazlı hidrojellerin yapısal morfolojisi .....	47
4.2.1.3 Lipaz immobilize edilmiş akrilamit bazlı hidrojellerin yüzey morfolojisi .....	48
4.2.2 Lipaz immobilize edilmiş akrilamit bazlı hidrojellerin aktivite ve salım davranışlarının incelenmesi .....	49
4.2.2.1 Aktivite davranışı ve immobilizasyon verimi .....	49
4.2.2.2 Salım davranışı ve salım verimi .....	52
4.2.3 Lipaz immobilize edilmiş akrilamit bazlı hidrojellerin şişme davranışlarının incelenmesi .....	54
4.2.3.1 Lipaz immobilize edilmiş akrilamit bazlı hidrojellerin dinamik şişme davranışı .....	54
4.2.3.2 Lipaz immobilize edilmiş akrilamit bazlı hidrojellerin şişme kinetik mekanizması .....	57
<b>5. SONUÇLAR .....</b>	<b>67</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>73</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>79</b>

## KISALTMALAR

<b>AAm</b>	: Akrilamit
<b>APS</b>	: Amonyum persülfat
<b>BSA</b>	: Sığır serum albümin
<b>D</b>	: Difüzyon katsayısı
<b>F</b>	: Çözücü difüzyon fraksiyonu
<b>FT-IR</b>	: Fourier transform kızıl ötesi spektrumu
<b>IPN</b>	: İç içe geçmiş polimerik ağ
<b>k</b>	: Orantı sabiti
<b>L</b>	: Silindirik polimerin yarı çapı
<b>MBAAm</b>	: N,N'-metilenbisakrilamit
<b>n</b>	: Difüzyon üsteli
<b>PAAm</b>	: Poliakrilamit
<b>pNFP</b>	: Para nitro fenil palmitat
<b>R<sub>dif</sub></b>	: Çözücü difüzyon oranı
<b>R<sub>relax</sub></b>	: Polimer zinciri relaksasyon oranı
<b>S</b>	: Şişme oranı
<b>SEM</b>	: Taramalı elektron mikroskobu
<b>S<sub>eq</sub></b>	: Denge şişme oranı
<b>S<sub>maksimum</sub></b>	: Kinetik model ile hesaplanan denge şişme oranı
<b>SMBS</b>	: Amonyum persülfat
<b>Tg</b>	: Camsı geçiş sıcaklığı
<b>TGA</b>	: Isıl gravimetrik analiz
<b>v/v</b>	: Hacim/hacim
<b>XRD</b>	: X ışınları kırınımı
<b>τ</b>	: Çözücü penetrasyon hızı



## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

Çizelge 2.1 : Hidrojellerde suyun konumu .....	5
Çizelge 2.2 : Hidrojellerin sınıflandırılması .....	6
Çizelge 2.3 : Hidrojellerin sentezlenme yöntemleri .....	9
Çizelge 2.4 : Hidrojellerin difüzyon üsteli .....	13
Çizelge 2.5 : Taşıyıcı destek materyallerine örnekler .....	24
Çizelge 4.1 : Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin $S/S_{eq}$ oranının zamanla değişimi. ....	37
Çizelge 4.2 : Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojeller için güç kanunu modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.....	38
Çizelge 4.3 : Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojeller için Voight tabanlı denklem modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri .....	41
Çizelge 4.4 : Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojeller için ikinci mertebeden şişme kinetiği modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.....	43
Çizelge 4.5 : Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojeller için kısa zamanlı yaklaşım metodu ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri .....	44
Çizelge 4.6 : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin bağlı enzim aktiviteleri .....	50
Çizelge 4.7 : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin salım davranışı.....	52
Çizelge 4.8 : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin $S/S_{eq}$ oranının zamanla değişimi .....	58
Çizelge 4.9 : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojelleri için güç kanunu modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.....	59
Çizelge 4.10 : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojelleri için Voight tabanlı denklem modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.....	61
Çizelge 4.11 : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojeller için ikinci mertebeden şişme kinetiği modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri .....	64
Çizelge 4.12 : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojeller için kısa zamanlı yaklaşım metodu ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri .....	66





## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2.1 : Hidrojelerle ait genel bir şematik gösterim .....	3
Şekil 2.2 : Hidrojellerin moleküler etkileşimlerinin sistematik olarak gösterimi.....	4
Şekil 2.3 : Tampon çözeltide bir hidrojinin şişme davranışı .....	10
Şekil 2.4 : Hidrojellerin şişmesi ve çözünmesi.....	11
Şekil 2.5 : Poliakrilamitin şematik olarak gösterimi .....	16
Şekil 2.6 : Lipazların hidroliz reaksiyonu.....	21
Şekil 2.7 : Enzim immobilizasyon yöntemleri .....	25
Şekil 2.8 : Mikrokapsül tipi ve kafes tipi tutuklama yöntemleri. ....	25
Şekil 3.1 : Saf poliakrilamid hidrojinin için reaksiyon mekanizması.....	28
Şekil 3.2 : Lipaz& poliakrilamid hidrojinin için reaksiyon mekanizması.....	30
Şekil 4.1a : Kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojinin SEM görüntüleri .....	33
Şekil 4.1b : Freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojinin SEM görüntüleri .....	33
Şekil 4.2 : Farklı kurutma yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojinin dinamik şişme davranışı .....	34
Şekil 4.3a : Kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojinin karşı hidrojinin denge şişme oranları (4320 dakikada sonunda) .....	35
Şekil 4.3b : Freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojinin karşı hidrojinin 4320 dakikadaki denge şişme oranları .....	35
Şekil 4.4 : Güç kanunu modelinin kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojinlerdeki uygulaması (0-270 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).....	38
Şekil 4.5 : Voight tabanlı denklem modelinin kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojinlerdeki uygulaması (270-4320 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).....	40
Şekil 4.6 : İkinci mertebeden şişme kinetiği modelinin kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojinlerdeki uygulaması (0-4320 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).....	42
Şekil 4.7 : Kısa zamanlı yaklaşım metodunun kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojinlerdeki uygulaması (0-270 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).....	46
Şekil 4.8 : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojinlerin TGA termogramları.....	47
Şekil 4.9 : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojinlerin XRD analizleri.....	48
Şekil 4.10a : % 0,0 lipaz&PAAm hidrojinin SEM görüntüsü.....	48
Şekil 4.10b : % 1,0 lipaz&PAAm hidrojinin SEM görüntüsü .....	48
Şekil 4.10c : % 3,0 lipaz&PAAm hidrojinin SEM görüntüsü .....	48
Şekil 4.10d : % 5,0 lipaz&PAAm hidrojinin, SEM görüntüsü .....	48
Şekil 4.10e : % 7,0 lipaz&PAAm hidrojinin, SEM görüntüsü .....	48
Şekil 4.10f : % 10,0 lipaz&PAAm hidrojinin SEM görüntüsü .....	48
Şekil 4.11a : Yüksek miktarda modifiye edilmiş % 7,0 lipaz&PAAm hidrojinin SEM görüntüsü .....	49

<b>Şekil 4.11b</b> : Yüksek miktarda modifiye edilmiş % 10,0 lipaz&PAAm hidrojelinin SEM görüntüsü .....	49
<b>Şekil 4.12</b> : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin immobilizasyon verimi.....	50
<b>Şekil 4.13</b> : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin salım verimi .....	53
<b>Şekil 4.14</b> : Tutuklama yöntemi ile lipaz immobilize edilmiş ve lipaz salımı gerçekleşmiş hidrojel.....	54
<b>Şekil 4.15</b> : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin dinamik şişme davranışı .....	55
<b>Şekil 4.16</b> : Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin denge şişme oranları (4320 dakikada sonunda).....	56
<b>Şekil 4.17</b> : Güç kanunu modelinin lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (0-270 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı) .....	59
<b>Şekil 4.18</b> : Voight tabanlı denklem modelinin lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (270- 4320 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı) .....	61
<b>Şekil 4.19</b> : Voight tabanlı denklem modelinin lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (270- 4320 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı) .....	63
<b>Şekil 4.20</b> : Kısa zamanlı yaklaşım metodunun lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (0-270 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı) ....	65

# LİPAZ İMMOBİLİZE EDİLMİŞ POLİAKRİLAMİD HİDROJELLERİNİN ŞİŞME, AKTİVİTE VE SALIM DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ

## ÖZET

Sunulan tez çalışmasında; akrilamid bazlı hidrojeller, amonyum persülfat(APS)/sodyum metabisülfid (SMBS) redoks başlatıcı çifti ve N,N'-metilenbisakrilamid (MBAAm) çapraz bağlayıcı kullanılarak serbest radikalleşme polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. İlk aşamada; sentezlenen poliakrilamid hidrojeller farklı kurutma yöntemleri ile kurutulmuş, jellerin yüzey morfolojisi, dinamik ve kinetik şişme davranışları incelenmiştir. Kurutma yöntemlerinin hidrojellerin su tutma kapasitesi üzerine etkisi araştırılarak en iyi belirlenen kurutma yöntemi ikinci aşama için seçilmiştir. İkinci aşamada ise; su tutma kapasitesini arttırmak amacıyla, poliakrilamid hidrojellere tutuklama yöntemi ile lipaz immobilize edilmiştir. Bu hidrojeller için; ısıl, yapısal, yüzey morfolojisi, aktivite ve salım davranışı, dinamik şişme davranışı incelenmiştir. Hidrojellerin ısıl, yapısal, yüzey özelliklerinin belirlenmesinde, TGA, XRD ve SEM analizleri kullanılmıştır. Bu incelemeler sonucunda, immobilize lipaz miktarı optimize edilmiştir. Modifiye edilmemiş ve optimum miktarda lipaz yüklenerek modifiye edilmiş hidrojellerin dinamik şişme oranlarına çeşitli şişme kinetik modelleri uygulanmıştır ve tüm hidrojeller için difüzyon mekanizması, başlangıç ve denge şişme oranı, çözücü penetrasyon oranı ve difüzyon katsayısı gibi kinetik parametreler belirlenmiştir.

Kurutma yöntemlerinin hidrojeller üzerine etkisi incelendiğinde; kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojele kıyasla freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelin por miktarı ve boyutunun fazla olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla; freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojelin, yüzey özelliği, dinamik şişme oranı, kinetik şişme parametreleri bakımından diğer yöntemle üstünlük sağladığı belirlenmiştir. Böylece; sunulan tezin ikinci aşamasında modifiye edilmiş hidrojeller freeze dryer yöntemi ile kurutulmuştur.

Tutuklama yöntemi ile optimum miktarda lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerde yüksek ısıl kararlılık, kristal ve/veya üç boyutlu kompleks yapı, hidrojelin por miktarı ve boyutunda farkedilir bir artış belirlenmiştir. Aynı zamanda hidrojelin denge şişme oranlarında  $\approx$  % 1181'lik bir artış tespit edilmiştir ve hidrojellerin su adsorplama kapasitesinin arttığı saptanmıştır. Dolayısıyla modifiye edilmiş bu hidrojellerde karakterize edilen tüm özelliklerinin geliştiği belirlenmiştir. Bu gelişim, iyi bir modifikasyon işleminin gerçekleştirildiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Poliakrilamid, hidrojel, enzim, modifikasyon, kinetik parametreler.



# **INVESTIGATION OF SWELLING, ACTIVITY AND RELEASE BEHAVIOURS OF LIPASE IMMOBILIZED POLYACRYLAMIDE HYDROGELS**

## **SUMMARY**

In the thesis that is presented, acrylamide-based hydrogels were synthesized with free radical polymerization using ammonium persulphate(APS)/sodium methabisulphite(SMBS) as initiators and N, N' methylenebisacrylamide (MBAAm) as crosslinker. In the first stage, polyacrylamide hydrogels, which are synthesized drying with different drying methods, were examined surface morphology, dynamic and kinetic swelling behaviors. The effects of the drying methods on water absorbing capacity of hydrogels, the best drying method was selected for the second stage. In the second stage, in order to increase water absorbing capacity of hydrogels, lipase was immobilized in polyacrylamide hydrogels by the entrapment method. For these hydrogels; thermal, structural and surface morphology, activity and release behavior, dynamic swelling behavior were investigated. TGA, XRD and SEM were used for determination of thermal, structural and surface properties. The result of these examinations, the amount of immobilized lipase was optimized. A variety of hydrogel swelling kinetics modeling techniques were applied on the dynamic swelling rates of non-modified and the optimum amount of lipase immobilized hydrogels. For all the hydrogels; the diffusion coefficient of kinetic parameters such as diffusion mechanism, initial and equilibrium swelling ratio, the penetration rate of the solvent, diffusion coefficient were determined.

When analyzing the impact of drying methods on hydrogels, compared to dried PAAm hydrogels by the poor solvent method, it was found that the amount and size of the pores of dried PAAm hydrogels by freeze dryer method were more. Thus, it was identified that dried PAAm hydrogel by freeze dryer method superior to other method with regard to surface properties, the dynamic swelling rate and kinetic swelling parameters. So; in the second stage of the thesis, modified hydrogels were dried by freeze dry method.

It was determined that high thermal stability, crystalline and / or three-dimensional complex structure, increase of the amount and size of the pores were at the optimum amount of lipase immobilized PAAm hydrogels by the method of entrapment. At the same time, it was specified that the equilibrium swelling ratio of the hydrogels increased  $\approx 1181\%$  and water adsorption capacity of hydrogels increased. Therefore, it was inferred that all characterized properties of modified hydrogels evolved. This development shows that a good modification process was carried out.

**Key words: Polyacrylamide, hydrogel, enzyme, modification, kinetic parameters.**



## 1. GİRİŞ

Hidrojel olarak adlandırılan hidrofilik jeller, büyük miktarda su tutma kapasitesine sahip, üç boyutlu, çapraz bağlı polimerlerdir. Su içeriği kendi kütlelerinin % 100'ünden fazla olan hidrojellere süper absorbant denir (Güven ve Şen, 1991; Mahdavinia ve Pourjavadi, 2004) . Su dışında çözücülerde en az % 20 ve daha fazla miktarlarda şişebilen jeller ise kserojel olarak adlandırılır (Akçakaya, 2005; Huglin ve Zakarai, 1986). Yumuşaklık, akıllılık ve su depolama kapasitesi hidrojelleri benzersiz bir malzeme yapmaktadır (Tanaka, 1981; Shibayama ve Tanaka 1993) .

Hidrojeller, çok iyi su tutabilme, sulu ortamda şişebilme yeteneklerinden dolayı biyoteknoloji, biyomühendislik, biyomedikal bilimler, eczacılık, tarım, veterinerlik, yiyecek endüstrisi, telekomünikasyon gibi alanlarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Biyomateryal özelliğe sahip hidrojeller, biyotıp, eczacılık, veterinerlik gibi alanlarda; kontrollü salım sistemleri, yapay organ yapımı, kontakt lens yapımı, enzim immobilizasyon sistemleri, ilaç taşıyıcı sistemler, yapay kornea, kemik hastalıkları tedavisi için materyal, kulak içi uygulamalar, sentetik kırık, safra kesesi ve yemek borusu yapımında, yara örtü/zarı-ameliyat ipliği ve buna benzer pek çok uygulamada etkin olarak kullanılmaktadır (Boztepe, 2010).

Hidrojellerin biyomedikal, farmasötik ve tarımsal alanda geniş kullanım alanları bulmasında; iyonik şiddet, elektromagnetik ışımaya, pH ve sıcaklık gibi dış çevre koşullarındaki değişimlere hacimlerini yüzlerce kat artıp azaltarak kontrollü bir şekilde cevap verebilmeleri önemli rol oynamıştır (Taşdelen ve diğ, 2005; Peppas ve diğ, 2000; Hoffman, 2002).

Poliakrilamitler ise, başlıca akrilamit ve türevi monomerlerin homo ve kopolimerizasyonu ile elde edilen çeşitli yarıdaki ticari ürünlerin ve proseslerin geliştirilmesinde kullanılan, çok geniş uygulama alanları olan sentetik polimerlerdendir. Hemen hemen bütün şartlar altında, suda çözünebilen küçük veya çok büyük molekül ağırlıklı ürün olarak elde edilirler. İyonik türevlerinin olduğu kimyasal reaksiyonlara girme yeteneğinden dolayı da endüstriyel bir öneme sahiptir (Kaşgöz, 1999).

N'N-metilenbisakrilamit çapraz bağlayıcı varlığında akrilamit ile birlikte bir veya daha fazla fonksiyonel monomerlerin kopolimerizasyonu ile hazırlanan poliakrilamit hidrojeller; tarım (Kazanskii ve Dubrovskii, 1992), sondaj sıvıları (Maitland, 2000) ve doku mühendisliği (Calvert, 2009; Drury ve Mooney, 2003) uygulamalarında geniş kullanım alanına sahiptir. Poliakrilamit hidrojeller; toksik olmaması, biyolojik olarak inert olması, uzun zincir uzunluğu, şeklini ve mekanik gücünü koruma kapasitesi, mekanik, kimyasal ve biyofiziksel özelliklerinin ayarlanabilir olması yönüyle polimer dünyasında oldukça ilgi görmüştür (Lin ve diğ, 2004; Hynd ve diğ, 2007).

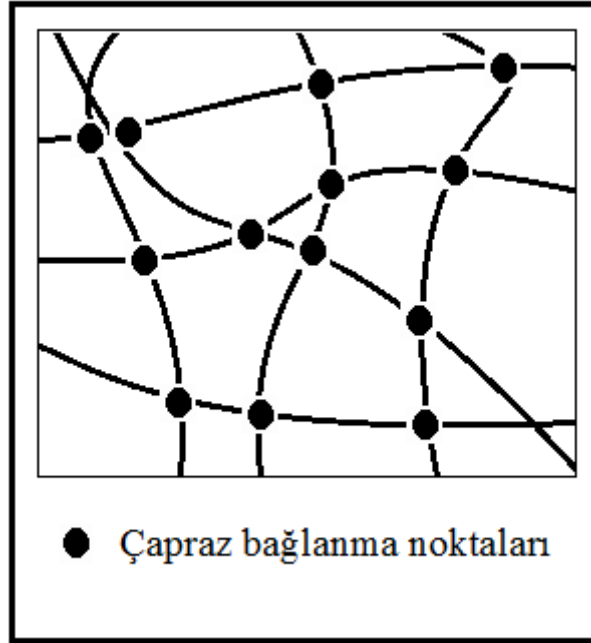
Sunulan bu tez çalışmasında, N'N-metilenbisakrilamit ile çapraz bağlanmış poliakrilamit hidrojeller sentezlenmiştir. Sentezlenen poliakrilamit hidrojeller farklı kurutma yöntemleri ile kurutularak; jellerin yüzey morfolojisi, dinamik ve kinetik şişme davranışları incelenmiştir. Sonrasında apraz bağlı poliakrilamit hidrojellere tutuklama yöntemi ile lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş ve bu hidrojellerin ısıl, yapısal, yüzey morfolojileri, aktivite ve salım davranışları, dinamik ve kinetik şişme davranışları incelenmiştir.



## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. Hidrojeller

Hidrojel olarak adlandırılan hidrofilik jeller, büyük miktarda su tutma kapasitesine sahip, üç boyutlu, çapraz bağlı polimerlerdir. Su içeriği kendi kütlesinin % 100'ünden fazla olan hidrojellere süper absorbant denir (Güven ve Şen, 1991; Mahdavinia ve Pourjavadi, 2004) . Su dışında çözücülerde en az % 20 ve daha fazla miktarlarda şişebilen jeller ise kserojel olarak adlandırılır (Akçakaya, 2005; Huglin ve Zakarai, 1986). Yumuşaklık, akıllılık ve su depolama kapasitesi hidrojelleri benzersiz bir malzeme yapmaktadır ( Tanaka, 1981; Shibayama ve Tanaka, 1993) . Hidrojellere ait genel bir şematik gösterim Şekil 2.1' de sunulmuştur.

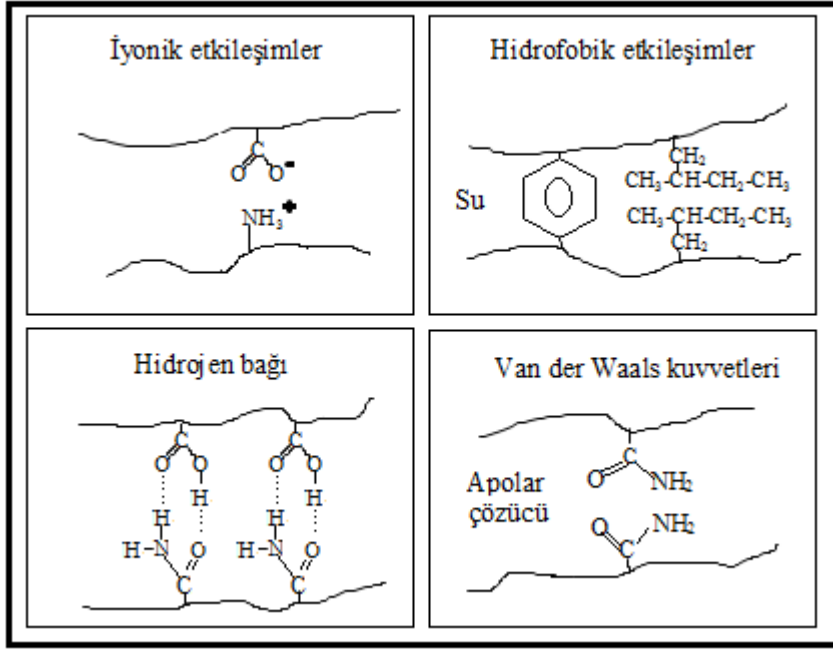


Şekil 2.1 Hidrojele ait genel bir şematik gösterim.

Hidrojeller, çapraz bağlayıcı varlığında hidrofilik monomerlerin polimerizasyonu ile ya da hidrofilik polimer zincirlerinin çapraz bağlanmasıyla elde edilebilir. Hidrojellerin çözünmemesi, yapısındaki kimyasal ya da fiziksel çapraz bağların sonucu iken; yapısına çok miktarda su alması, suyu seven (hidrofilik) karakteri ve ağ şeklindeki gözenekli yapısından kaynaklanır. Hidrojellerin eşsiz özelliklerinden biri,

izotropik şişmeye bağlı olarak şişme boyunca ve sonrasında orijinal şekillerini koruyabilme özelliğidir (Park, 2002).

Hidrojellerin üç boyutlu yapısı kimyasal bağlar ya da iyonik etkileşim, hidrojen bağı, fiziksel etkileşimler, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri aracılığıyla gerçekleşir. Bu etkileşimler Şekil 2.2’de sunulmuştur (Duran, 2000). Hidrofobik etkileşimler, fiziksel çapraz bağ benzeri etkileşimler olduğundan jelin şişme davranışını doğrudan etkilemektedir.



**Şekil 2.2** Hidrojellerin moleküler etkileşimlerinin sistematik olarak gösterilmesi.

Hidrojeller yapısında  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-COOH$ ,  $-COOR$ , vb. gibi polar ve su sever fonksiyonel gruplar içerir (Peppas ve Khare, 1993). Bu gruplar su ile etkileşerek hidrojen bağları oluştururlar. Bağlı duruma geçen su moleküllerinin varlığı ile hidrofilik fonksiyonel gruplar çevresinde kütsel bir büyüme olur ve çapraz bağlı polimer şişmeye başlar. Hidrofilik grupların fazlalığı ile şişmenin miktarı arasında bir ilişki vardır. Şişmiş bir hidrojelde üç tür su bulunmaktadır (Alvarez-lorenzo ve Concheiro, 2002; Karadağ ve diğ, 1997; Kundakçı ve diğ, 2009). Hidrojellerde suyun konumu Çizelge 2.1’de tarif edilmektedir.

**Çizelge 2.1** Hidrojellerde suyun konumu.

❖ <b>Bağlı su</b>	Polimerin polar grupları ile hidrojen bağları yapan sudur.
❖ <b>Ara yüzey suyu</b>	Polimerin su sevmez grubu çevresinde toplanan ve sıkıca bağlı olmayan sudur.
❖ <b>Serbest ya da kütle su</b>	Polimerin gözeneklerini dolduran sudur. Bir bağ olmaksızın su molekülleri fiziksel olarak gözenek içinde yer alır.

Hidrojellerin diğer bir özelliği, tek bir polimer jel molekülü olmasıdır. Diğer bir deyişle; jelin ağ zincirleri makroskopik ölçekte büyük bir molekül oluşturmak için birbirine bağlıdır. Bu hidrojeller ne tamamen sıvı, ne de tamamen katı durumdadır. Bu yarı sıvı benzeri, yarı katı benzeri özellik saf bir sıvıda ya da saf bir katıda bulunmayan farklı relaksiyon davranışına neden olur (Almdal ve diğ, 1993).

#### **2.1.1. Hidrojellerin Sınıflandırılması**

Hidrojeller farklı yöntemlere göre sınıflandırılabilir. Polimerik hidrojeller, hazırlama yöntemlerine, iyonik yüklerine, fiziksel yapılarına ve çapraz bağlanma durumlarına bağlı olarak sınıflandırılabilirler (Duran, 2000; Peppas ve Bures, 2000; Wu ve diğ, 1992). Bu sınıflandırma Çizelge 2.2’de şematik olarak gösterilmiştir.

**Çizelge 2.2** Hidrojellerin sınıflandırılması.

❖ <b>Hazırlanma yöntemlerine göre hidrojeller</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Homopolimer hidrojeller</li><li>• Kopolimer hidrojeller</li><li>• Çoklu polimer hidrojeller</li><li>• IPN (interpenetrating) hidrojeller</li></ul>
❖ <b>İyonik yüklerine göre hidrojeller</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Nötral hidrojeller</li><li>• Anyonik hidrojeller</li><li>• Katyonik hidrojeller</li><li>• Amfolitik hidrojeller</li></ul>
❖ <b>Fiziksel yapılarına göre hidrojeller</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Amorf hidrojeller</li><li>• Yarı kristalin hidrojeller</li><li>• Hidrojen bağlı yapılar</li></ul>
❖ <b>Çapraz bağlanma durumlarına göre hidrojeller</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Fiziksel hidrojeller</li><li>• Kimyasal hidrojeller</li></ul>

### **2.1.1.1 Hazırlama Yöntemlerine Göre Hidrojeller**

#### **Homopolimer hidrojeller**

Tek bir hidrofilik monomerin çapraz bağlanmasıyla oluşmuş yapılardır. Poli(2-hidroksi etil metakrilat) (HEMA), poli(gliseril metakrilat), poli(3-hidroksi propil metakrilat) içeren poli(hidroksi alkil metakrilat)'lar bu tür hidrojellere verilebilecek örneklerdir (Swami, 2004). Yumuşak kontak lens yapımı ve kontrollü ilaç salım aparatları gibi önemli uygulama alanları bulunmaktadır (Hoffman, 2002).

#### **Kopolimer hidrojeller**

İki monomerin çapraz bağlanmasıyla oluşur. Ancak monomerlerden birinin hidrofilik yapıda olması gerekir. En çok araştırılan kopolimerik hidrojellere poli(HEMA-ko-AA) ve poli(HEMA-ko-metilmetakrilat) [poli(HEMA-ko-MMA)] örnek olarak verilebilir (Brazel ve Peppas, 1999; Ende ve Peppas, 1997).

### **Çoklu polimer hidrojel**

İki ya da daha fazla sayıda kopolimerin reaksiyonu ile oluşur. Bu tür hidrojelere, hem pH ya hem de sıcaklığa duyarlı olan poli(N-izo-propilakrilamit-ko-AA-ko-HEMA) [poli(NIPA-ko-AA-ko-HEMA)] ve poli(sodyum akrilat-ko-NIPA-ko-AA) hidrojelere örnek verilebilir (Vakkalanka ve diğ, 1996; Bag ve diğ, 2004).

### **IPN (interpenetrating) hidrojel**

Çapraz bağlı iki polimerik örgünün fiziksel olarak birleşmesiyle oluşur (Peppas ve diğ, 2000; Holffman, 2002). Örneğin polioksietilen ve PAA den hazırlanan IPN yapılar mevcuttur. Öncelikle çapraz bağlı polioksietilen hazırlanır, daha sonra bu örgü AA, başlatıcı ve çapraz-bağlayıcı içeren karışımda şişirilirken polimerizasyonda gerçekleşir (Uysal, 2001). IPN'i oluşturan iki polimerik örgünün birbiriyle uyumlu olması IPN oluşumunu artırır, faz ayrımını engeller.

#### **2.1.1.2 İyonik Yüklerine Göre Hidrojel**

İyonik hidrojelere şişme davranışları yüklü polimerler ve serbest iyonlar arasındaki iyonik etkileşimlerle etkilenmektedir. Karboksilik asit gibi iyonik gruplar içeren iyonik hidrojel yüksek hidrofiliteleri nedeniyle yüksek miktarda su asorblayabilirler (Hamidi ve diğ, 2008).

### **Nötral hidrojel**

Yapılarında yüklü gruplar bulundurmayan homopolimerik veya kopolimerik nötr hidrojelere dir.

### **Anyonik hidrojel**

Anyonik hidrojel, genellikle negatif yüklü asidik veya anyonik monomerlerin homopolimerlerinden ya da bir anyonik monomerle bir nötr monomerin kopolimerinden oluşur. Bunlar dış ortam pH'sına bağlı olarak denge şişme davranışlarında ani değişimler gösterirler (Ende ve diğ, 1995; Peppas ve Khare, 1993). Anyonik hidrojel hazırlanmasında, AA, krotonik asit, itakonik asit yaygın olarak kullanılan monomerlerdendir (Swami, 2004) .

## **Katyonik hidrojjeller**

Katyonik hidrojjeller, pozitif yüklü bazik veya katyonik monomerlerin homopolimerlerinden ya da bir katyonik monomerle bir nötr monomerin kopolimerinden oluşurlar. Katyonik hidrojjellerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan monomerlerden bazıları aminoetil metakrilat ve türevleri, 4-vinil piridindir ( Swami, 2004 ).

## **Amfolitik hidrojjeller**

Hem pozitif hem de negatif yüklü hidrojjellerdir ( Hoffman, 2002).

### **2.1.1.3 Fiziksel Yapılarına Göre Hidrojjeller**

#### **Amorf Hidrojjeller**

Makromolekül zincirleri gelişi güzel yerleşmiştir.

#### **Yarı kristalin hidrojjeller**

Yapı içerisinde makromolekül zincirlerinin düzenli yerleştiği yoğun kısım mevcuttur.

#### **Hidrojen bağlı yapılar**

Üç boyutlu yapı hidrojen bağları ile oluşmuştur.

### **2.1.1.4 apraz Bağ Durumlarına Göre Hidrojjeller**

#### **Fiziksel hidrojjeller**

Zincirler arası hidrojen bağları, koordinasyon bağları, heliks oluşumu, iyonik bağlar veya hidrofobik etkileşimlerin neden olduğu çapraz bağlanmalar sonucu oluşurlar. Bu tür yumak oluşumu ya da polimer zincirlerin arasındaki fiziksel dolaşıklıklarla oluşan jeller sıcaklık, pH ya da çözücü bileşiminin değişmesine bağlı olarak homojen bir çözelti oluştururlar ve başlangıç koşullarına dönüldüğünde yeniden jelleşirler. Bu davranışlarından dolayı bu jellere tersinir jeller de denir ( Sungur, 2011 ).

#### **Kimyasal hidrojjeller**

Zincirler arası çapraz bağlanmanın kuvvetli kimyasal bağlarla meydana geldiği jellere denir. Bu jeller pH, çözücü bileşimi ve sıcaklığa bağlı olarak tekrar çözünmedikleri için tersinmez jeller olarak adlandırılırlar. Kimyasal jellerde polimer zincirlerinin çaprazlanması için çapraz bağlayıcı eklenmesi gerekmektedir (Sungur, 2011 ).

### 2.1.2 Hidrojellerin Sentezi

Günümüzde hidrojellerin sentezinde çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler çapraz bağlanma yöntemleri kullanılmaktadır. Kimyasal olarak çapraz bağlanan hidrojeller, radikal polimerizasyonu, komplementer grupların kimyasal reaksiyonu, yüksek enerjili reaksiyonla ve enzim kullanımıyla sentezlenebilmektedir. Fiziksel olarak çapraz bağlanmış hidrojeller ise iyonik etkileşimlerle, kristalizasyonla, H-bağlarıyla ve protein etkileşimleriyle sentezlenebilmektedir (Hennink ve Van Nostrum, 2002). Hidrojellerin sentezlenme yöntemleri Çizelge 2,3’de gösterilmektedir.

**Çizelge 2.3** Hidrojellerin sentezlenme yöntemleri.

<b>❖ Fiziksel olarak çapraz bağlanmış hidrojeller</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• İyonik etkileşimlerle çapraz bağlanma</li><li>• Graft kopolimer ve ampifilik blokların çapraz bağlanması</li><li>• Kristalizasyonla çapraz bağlanma</li></ul>
<b>❖ Kimyasal olarak çapraz bağlanmış hidrojeller</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Radikal polimerizasyonu ile çapraz bağlanma</li><li>• Yüksek enerjili radyasyonla çapraz bağlanma</li><li>• Enzim kullanarak çapraz bağlanma</li></ul>
<b>❖ Komplementer grupların kimyasal reaksiyonu ile çapraz bağlanmış hidrojeller</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Aldehitlerle çapraz bağlama</li><li>• Yüksek enerjili radyasyonla çapraz bağlama</li><li>• Kondenzasyon reaksiyonu ile çapraz bağlama</li></ul>

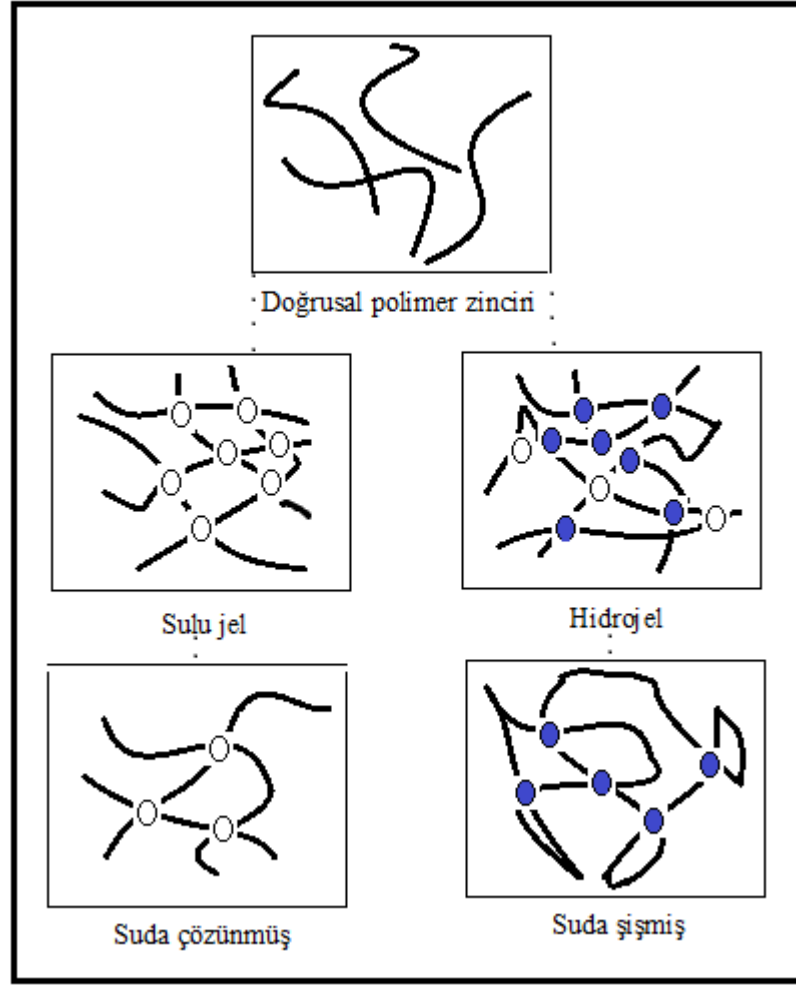
### 2.1.3 Hidrojellerin Şişme Davranışları

#### 2.1.3.1 Hidrojellerin Dinamik Şişme Davranışı

Şişme, küçük moleküllü bir sıvının bir polimer tarafından adsorplanması prosesidir. Çözücü molekülleri yapısal boşluklara girerken polimerin süper moleküler yapılarının arasını zorla açar. Buna yapılar arası şişme adı verilir. Eğer çözücü molekülleri yapıların içine girerse, makro moleküller zorla açılır. Buna da yapı içi







Şekil 2.4 Hidrojellerin şişmesi ve çözünmesi.

### 2.1.3.2 Hidrojellerin Şişme Kinetik Mekanizması

Polimerlerin dinamik şişme özellikleri; çözücü adsorpsiyon hızını, denge şişmesine yaklaşım hızını ve çözücü ilerleme hızını kontrol eden taşınım mekanizmasını içerir. Çözücü adsorpsiyon hızı, birim zamanda alınan çözücü gösterir ve doğrudan polimerin denge şişme derecesiyle bağlantılıdır. Şişebilen sistemlerde kütle aktarımı, difüzyonun konsantrasyon gradiyentine bağlı olduğu Fick kanunu ile tanımlanır. Dıştaki şişmiş kauçuğumsu kısmı, içteki şişmemiş camsı kısımdan ayıran çözücü ilerleme hızı, ilaç salım uygulamalarında ve taşınım mekanizmasının karakterizasyonunda önemlidir (Erce, 2006).

Şişme, camsı veya kısmen kauçuğumsu durumundan relaks kauçuğumsu bölgeye sürekli bir geçiş prosesidir. Polimer-çözücü sistemleri için çözücü adsorplama proseslerinin çoğunlukla difüzyon klasik teorisinden beklenen davranışa uymadığı bilinmektedir (Park, 1968). Kauçuğumsu polimerler tarafından yapılan çözücü adsorplama, difüzyon katsayısına bağlı konsantrasyon ile Fick kanunu ile tarif

edilmesine rağmen, bu açıklama, genellikle camsı polimerler için uygun değildir. Polimer moleküllerinin yavaş oryantasyonu hem nüfuz etme hem de çözücü adsorplama deneyleri için geniş bir yelpazede anormal etkilere yol açabilir, özellikle bu tür deneyler, camsı geçiş sıcaklığı (Tg) yakınında ya da altında gerçekleştirilir.

Bajpai ve arkadaşlarının (2008) yapmış olduğu sınıflandırmaya dayanarak, iki temel kategori ortaya çıkabilir: bunlardan birincisi polimerin Tg'sinin ortam sıcaklığının altında olduğu zaman görünen, Fick difüzyonudur. Bu durumda, polimer zincirleri, yüksek bir mobiliteye sahiptir ve çözücü, kauçuğumsu ağ yapıya kolayca nüfuz eder. Bu nedenle, çözücü difüzyon oranı ( $R_{dif}$ ), polimer zinciri relaksasyon oranından ( $R_{relax}$ ) daha yavaştır, ( $R_{dif} \ll R_{relax}$ ). Fick difüzyonu, çözücü adsorplama zamanının karekökünün bir fonksiyonu olarak polimer ağırlığının doğrusal olarak artışı tarafından karakterize edilmektedir (Bajpai ve diğ., 2008). İkincisi ise, polimerin Tg'sinin deney sıcaklığının üstünde olduğu zaman görünen Fick olmayan difüzyondur. Bu durumda, polimer zincirlerinde polimerin iç kısma suyun nüfuz etmesini sağlayacak hareket yeterli değildir (Li ve diğ., 2005). Fick olmayan difüzyon iki alt bölümlere ayrılır: I. Durum (geçiş kontrolü) difüzyonu ve anomali taşınım. Difüzyon oranı relaksasyon oranı ile karşılaştırıldığında difüzyon çok hızlı olduğu zaman, ( $R_{diff} \gg R_{relax}$ ), II. Durum difüzyonu hâkimdir. Burada, kütle aktarımının hızı doğrudan zamanla orantılıdır. Difüzyon ve relaksasyon oranları birbirine yakın olduğu zaman anomali taşınım görülmektedir, ( $R_{dif} \approx R_{relax}$ ). Polimerler, belli çözücüler ile temas halinde olduğunda çoğunlukla şiştiğinden dolayı, Fick olmayan davranışı çözmek için modifiye sınır koşulları ve / veya jeneralize difüzyon katsayısı ile Fick'in yasaları kullanılabilir (Rossi ve Mazich 1991).

Peppas (1985) tarafından, bir polimerin şişmesinin zamana bağlılığı en basit anlamda "güç kanunu modeli" (power law model) ile tanımlanmıştır. Difüzyon ve gevşemenin birbirine göre önemini belirten transport mekanizması, absorpsiyon verilerinin ( $S/S_{eq} \leq 0,6$  durumunda veya çok kısa bir süre için) güç kanunu modeline uydurulmasıyla Eş. 2.1'den yararlanılarak saptanabilir.

$$S/S_{eq} = kt^n \quad 2.1$$

Bu denklemde,  $S/S_{eq}$  polimer içine hareket eden çözücünün dengedeki koşullara göre normalleştirilmiş halini ifade eder.  $S$  ve  $S_{eq}$  sırasıyla  $t$  anında ve dengede ( $t = \infty$ )

adsorplanan veya desorplanan kütledir, n ve k ise difüzyon katsayıları ve taşınım mekanizması ile ilişkilendirilebilen sabitler olup sırasıyla difüzyon üsteli ve orantı sabiti olarak adlandırılır (Brazel ve Peppas, 2000). Difüzyon üsteli, n, geometriye ve çözücü adsorpsiyonunun fiziksel mekanizmasına bağlıdır.

Film halindeki bir materyal için; n = 0,5 değerine kadar Fick difüzyonu, n = 1,0 değeri II. Durum (gevşeme kontrollü) difüzyonu, bu değerler arasındaki n değerleri ise Fick olmayan (anomali) difüzyonu gösterir. n >1 ise Süper Durum II transportu tanımlar. Farklı maddelerin adsorpsiyon ve desorpsiyon hızlarını karşılaştırmada kullanılan bu eşitliğin kullanımındaki zorluk; k değerinin n değerine bağlı olmasıdır. Bundan dolayı, yalnızca aynı n değerine sahip maddeler için direkt olarak k değerlerinin karşılaştırılması mümkündür. Silindirik şeklindeki bir malzeme için; n = 0,45-0,50 değerleri Fick difüzyonu, 0,50 < n < 1,0 Fick olmayan difüzyonu gösterir (Çapan, 1993). Hidrojeller için difüzyon üsteli Çizelge 2.4'te gösterilmektedir.

**Çizelge 2.4** Hidrojellerin difüzyon üsteli.

<b>Taşınım türü</b>	<b>Difüzyon üsteli (n)</b>	<b>Zamana bağlılığı</b>
Fick difüzyonu	0,5	$t^{1/2}$
Anomali difüzyonu	0,50 < n < 1,0	$t^{n-1}$
II. Durum difüzyonu	1,0	Zamandan bağımsız

Daha önce ele aldığımız güç yasası denklemi şişme davranışının büyük bir bölümünü etkili bir şekilde tarif etmesine rağmen,  $S/S_{eq} = 0,6$  üzerinde kesin bir analiz vermekte başarısız olur (Bartil ve diğ, 2007). %60'ın ötesinde daha iyi bir analiz sonucu elde etmek için, Eş. 2.2'de gösterilen Voight tabanlı denklem kullanılmaktadır (Gudeman ve Peppas, 1995).

$$S = S_{eq}(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}) \quad 2.2$$

Burada  $\tau$ ; çözücü penetrasyon hızını temsil etmektedir.

Eş. 2.3 hidrojellerin şişme davranışlarını açıklamak için kullanılan ikinci mertebeden şişme kinetiğini temsil eder (Yin ve diğ, 2002).

$$t/S = A + Bt \quad 2.3$$

Burada, S zamanla şişme derecesini,  $A = 1 / (dS / dt)_0$ , hidrojel başlangıç şişme oranını ve  $B = 1/S_{max}$  hidrojel denge anındaki şişme değerinin tersini ifade eder.

Hidrojel karakterizasyonu için, difüzyon katsayısının ( $D$ ) hesaplanmasında kısa zamanlı yaklaşım metodu kullanılır. Kısa zamanlı yaklaşım metodu, Eş.2.4'te gösterilmiştir.

$$F = 4\left[\frac{Dt}{\pi L^2}\right]^{1/2} - \pi\left[\frac{Dt}{\pi L^2}\right] - \frac{\pi}{3}\left[\frac{Dt}{\pi L^2}\right]^2 + \dots \quad 2.4$$

Burada  $D$  ( $\text{cm}^2\text{s}^{-1}$ ) difüzyon katsayısını,  $L$  silindirik polimer örneğin yarıçapını,  $F$  ( $S/S_{eq}$ )  $t$  zamanda hidrojel içine çözücünün difüzyon fraksiyonunu ifade eder. Yüksek dereceden terimler ihmal edilerek denklem Eş. 2.5'deki gibi indirgenir.

$$F = 4\left[\frac{Dt}{\pi L^2}\right]^{1/2} \quad 2.5$$

$F$ 'e karşı  $t^{1/2}$  grafiğe geçirilerek  $D$  Eş. 2.6 gösterilen şekilde hesaplanır.

$$D = \frac{\pi L^2 (eğim)^2}{16} \quad 2.6$$

#### 2.1.4 Hidrojellerin Kullanım Alanları

Hidrojeller, çok iyi su tutabilme, sulu ortamda şişebilme yeteneklerinden dolayı biyoteknoloji, biyomühendislik, biyomedikal bilimler, eczacılık, tarım, veterinerlik, yiyecek endüstrisi, telekomünikasyon gibi alanlarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Biyomateryal özelliğe sahip hidrojeller, biyotıp, eczacılık, veterinerlik gibi alanlarda; kontrollü salım sistemleri, yapay organ yapımı, kontakt lens yapımı, enzim immobilizasyon sistemleri, ilaç taşıyıcı sistemler, yapay kornea, kemik hastalıkları tedavisi için materyal, kulak içi uygulamalar, sentetik kıkırdak, safra kesesi ve yemek borusu yapımında, yara örtü/zararı-ameliyat ipliği ve buna benzer pek çok uygulamada etkin olarak kullanılırlar (Boztepe, 2010).

Hidrojellerin biyomedikal, farmasötik ve tarımsal alanda geniş kullanım alanları bulmasında; iyonik şiddet, elektromagnetik ışımaya, pH ve sıcaklık gibi dış çevre koşullarındaki değişimlere hacimlerini yüzlerce kat artırıp azaltarak kontrollü bir şekilde cevap verebilmeleri önemli rol oynamıştır (Taşdelen ve diğ., 2005; Peppas ve diğ., 2000; Hoffman, 2002).

Hidrojellerin ilk uygulaması, kontakt lensler olarak ortaya çıkar. Mekanik kararlılıklarının iyi oluşu, yüksek oksijen geçirgenliği ve uygun kırınım indisine sahip olmaları, kontakt lenslerde kullanılmalarının temel nedenidir (Gümüşderelioğlu, 2002).

Biyomalzeme alanında ilk kez Wichterle ve Lim (1960) tarafından çapraz bağlı HEMA hidrojel­leri çalışılmış ve bu çalışmadan sonra hidrojel­ler biyomalzeme alanında geniş yer almıştır. Daha sonra hücre enkapsülasyon için kalsiyum arjinat başarılı şekilde kullanılmıştır (Lim ve Sun 1980). 1980'lerden sonra, yapay yanık sargıları olarak kullanım için hidrojel­ler içine örneğin kolajen ve köpek balığı kıkırdak gibi doğal polimerler dahil edilmiştir (Yannas ve diğ., 1989). Doğal ve sentetik polimer esaslı hidrojel­lerin hücrelerin enkapsülasyonu için kullanılmasına ilgi giderek artmış (Gin ve diğ. 1990; Sefton ve diğ., 2000) ve son olarak bu hidrojel­ler doku ve organların tamir ve yenilenmesi için matrisler olarak doku mühendisliğinde çekici hale gelmiştir (Woerly, 1997, Ohya ve diğ., 2000).

Son yıllardaki en önemli uygulamalardan biri kontrollü ilaç salım sistemlerdeki kullanımlardır. Örnek olarak insülin salımı verilebilir. İnsülin salımının kontrolünde, glikoz seviyesinde artma olduğunda daha fazla insülin salabilen akıllı hidrojel­ler kullanılmaktadır. Pek çok glikoz-cevaplı hidrojel sistemi, pH'ye duyarlı polimerlerden (HEMA-dimetilaminoetil metakrilat kopolimeri) hazırlanmaktadır (Gümüşderelioğlu, 2002).

Hidrojel­ler cerrahi işlemlerden sonra trombozu ve adhezyonları önlemede kullanılmaktadır ve mikro düzeyde üretilen hidrojel­ler biyosensörlerde kullanılmaktadır. Tedavi amaçlı göz damlaları da hidrojel­lerin bir başka kullanım alanıdır. Göz damlaları göz yaşı tarafından seyreltilerek kısa sürede akar. Bu alanda kullanılan hidrojel göze sıvı ürün olarak düşmesine rağmen, gözdeki sıcaklığa maruz kaldığında daha viskoz bir hale gelir. Kaymaya karşı duyarlılığından dolayı da göz her kırılışında sıvı hale gelir ve jelin bütün göze eşit miktarda yayılmasını sağlar. Bu yöntem benzer şekilde burun spreyleri için de kullanılabilir. Özellikle insülin gibi ilaçların bu tür bir sistemden burun yoluyla salımı konusunda çalışmalar yapılmakta ve böylece enjeksiyon yönteminin yerini alabileceği düşünülmektedir (Gümüşderelioğlu, 2001).

Hidrojel­ler, endüstriyel açıdan son derece önemli olan seyreltik sulu çözeltilerden büyük moleküllerin ayrılmasında da kullanılmaktadırlar. Minnesota Üniversitesinden Edward Cussler Jr. ve arkadaşları, şişmiş bir jelin suyu emerken, su içerisinde çözülmüş maddeleri dışarıda tuttuğunu göstermişlerdir. Ayrıca hidrojel­ler, jel elektroforezi ve jel kromatografisi gibi moleküler ayırma işlemlerinde "moleküler elek" görevini üstlenirler (Arı, 1998).

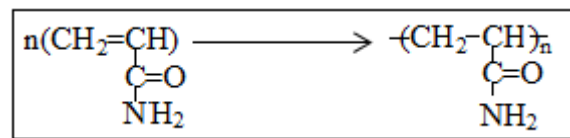
Günümüzde biyoteknolojik alanda üzerinde en çok durulan konulardan biri hidrojenlerin enzim ve hücre immobilizasyonunda taşıyıcı olarak kullanımına yönelik çalışmalardır (Roseman ve Carderelli, 2001). Fiziksel enzim tutuklama yöntemi için kullanılan çapraz bağlı poliakrilamid bunlar için iyi bir örnektir.

Robotlarla çalışılan bilim dalında uyarı-cevap hidrojenleri, yük kaldırma fonksiyonunu yerine getirmek amacıyla kullanılmaktadır. Uyarı-cevap hidrojenleri çeşitli sinyallere cevap olarak büzüşür veya şişerken bir kuvvet üretir. Böylece bu hidrojenler, robotu harekete geçirici veya sensör olarak robot teknolojisinde kullanım alanı bulur (Çiçek, 1998).

Hidrojenler yüksek oranda su tutucu olmaları ile peçete, çocuk bezi gibi temizlik ürünlerinin yapımında (Wu ve diğ., 1992), gübrelerin ve tarım ilaçlarının kontrollü salımlarında (Roseman ve Carderelli, 2001; Qui ve Park, 2001), endüstride yağ ve petrol içerikli sulu atıklardan saflaştırma ve suyun uzaklaştırılması işlemlerinde (Ohara ve Sakai, 1985) ve hastane atıklarından suda çözülebilen ya da hidrojenle uyumlu olarak soğurulabileceği bazı fizyolojik (kan ve üre vb.) sıvıların ayrılmasında da kullanılırlar (Shibana ve diğ., 1987; Chemelir ve diğ., 1983).

## 2.2 Poliakrilamid

Poliakrilamidler, başlıca akrilamid ve türevi monomerlerin homo ve kopolimerizasyonu ile elde edilen çeşitli yarıdaki ticari ürünlerin ve proseslerin geliştirilmesinde kullanılan, çok geniş uygulama alanları olan sentetik polimerlerdendir. Hemen hemen bütün şartlar altında, suda çözünebilen küçük veya çok büyük molekül ağırlıklı ürün olarak elde edilirler. İyonik türevlerinin olduğu kimyasal reaksiyonlara girme yeteneğinden dolayı da endüstriyel bir öneme sahiptir (Kaşgöz, 1999). Şekil 2.5'de poliakrilamid şematik olarak gösterilmektedir.



Şekil 2.5 Poliakrilamidin şematik olarak gösterimi.

Akrilamid polimerleri çeşitli şartlarda suda çözünebildiği için birçok proste kullanılmaktadır. Esas olarak, çöktürücü ve yardımcı olarak madencilikte mineral işlenmesinde, endüstride atıkların ve atık suların arıtılmasında, sıvı-katı ayırma

işlemlerinde kullanılmaktadır. Poliakrilamitler, mukavva ve kağıt yapımında katkı maddeleri olarak veya işletmede yardımcı olarak büyük miktarlarda uygulama alanına sahiptir. Ayrıca sulu süspansiyonda katıları uzaklaştırmak için etkilidirler. Asidik, nötral ya da bazik sistemlerde, hatta yüksek konsantrasyonlu elektrolitlerin varlığında da kullanılabilirler. Mineral filizlerinin artırılmasında, mineral ve metal tanecikler, kanalizasyon ve endüstriyel atıklarda geniş uygulama alanı bulmaktadır. Genellikle aglomerasyon ve sedimentasyon hızlanmasına sebep olan çok seyreltik çözeltiler halinde kullanılırlar. Bundan dolayı çok yüksek molekül ağırlıklı poliakrilamitler (≈20 milyon), olağanüstü etkin flokülantlardır (Kaşgöz, 1999).

### **2.2.1. Poliakrilamit Üretiminde Kullanılan Yöntemler**

Poliakrilamit üretiminde üç temel yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler; aşağıda ayrıntılı bir şekilde açıklanmaktadır.

#### **2.2.1.1 Sulu Çözelti Polimerizasyonu**

Sulu çözelti polimerizasyonu, en çok kullanılan yöntem olup, başlatıcı olarak peroksitler, persülfatlar, azo bileşikleri ve redoks çiftleri gibi serbest radikal başlatıcıları kullanılmaktadır. Reaksiyon ortamı akrilamitin sulu çözeltisidir. Polimerin ortalama molekül ağırlığı, monomer ve başlatıcı konsantrasyonu polimerizasyon sıcaklığı, zincir transfer vasıtaları ve elektrolit konsantrasyonları ile çalışmak suretiyle kontrol edilebilir. Sulu çözeltilerde polimerizasyon, çapraz bağlı olma derecesine ve molekül ağırlığına bağlı olarak suda çözünebilir ürünler vermektedir. Derişik akrilamit çözeltileri ile potasyum persülfat başlatıcısı kullanılarak, oda sıcaklığında gerçekleştirilen reaksiyonlardan viskoz, suda yavaş çözünen, renksiz jeller elde edilir. Sulu çözeltilerden yüksek molekül ağırlıklı katı polimer eldesi için kullanılan iki ana yöntem, termal tabaka kurutması ve çöktürmedir. Küçük pul şeklindeki polimerler çözelti polimerizasyonunu takiben termal tabaka kurutması ile elde edilir. Kurutma sistemi seçimi, poliakrilamitin istenilen ortalama molekül ağırlığına, kurutma boyunca gerçekleşen reaksiyonlara ve üretilen polimerin ısı hassasiyetine bağlıdır. Çöktürme yönteminde ise, belirli konsantrasyondaki reaksiyon karışımı hızla karıştırılan soğuk çözücü içerisine katılıp, çöken polimer süzülür ve yıkanır, vakumda düşük sıcaklıkta kurutulur (Kaşgöz, 1999).

### **2.2.1.2 Karışık Çözücü Sistemlerinde Çözelti Polimerizasyonu**

Bu sistemde, akrilamit ve diğer bileşikler, su ve organik çözücü (kosolvent) karışımında çözülürler, kosolvent olarak genellikle alkoller kullanılır. Karışık çözücü sisteminde elde edilen maksimum molekül ağırlığı, sulu çözelti polimerizasyonunkinden daha düşüktür. Büyüyen polimer zincirinin ortamdaki çözülmesi molekül ağırlığı büyüdüğünü sınırlar. Bu değer, organik çözücü seçimi ve organik çözücünün suya oranı ile değişebilir. Organik çözücü oranının azalması, molekül ağırlığını artırır. Karışık çözücü polimerizasyonu ile hazırlanan polimerler, sulu çözelti polimerizasyonu ile elde edilenlere nazaran daha dar molekül ağırlığı dağılımına sahiptir. Karışık çözücülerden ayrılan polimerler, akışkan yatak, tepsi yada döner vakum kurutucular ile kurutulmaktadır (Kaşgöz, 1999).

### **2.2.1.3 Dispers Faz Polimerizasyonu**

Çözelti polimerizasyonunda farklı olan dispers faz polimerizasyonunda sulu reaksiyon kütleleri, inert organik taşıyıcı içinde dağıtılır. Ksilan, parafin yağı, fuel oil ve tetrakloroetilen kullanılabilir. Son ürün katı boncuk şeklinde olacaksa, ksilen ve tetrakloroetilen kullanılır. Dispersiyon parçacık çapı, süspansiyon vasıtalarına, organik faz ve sulu fazın viskozitesine ve diğer parametrelere bağlı olarak 1.0-500µm arasında değişebilir. Dispers faz sistemi, iyi bir ısı transferi sağlar. Monomer konsantrasyonu, yüksek molekül ağırlıklı ürünler elde etmek için ağırlıkça %50 ya da daha yüksek tutulmaktadır. Dispers faz sistemleri, çöktürme veya azeotropik distilasyonla kurutulmaktadır (Kaşgöz, 1999).

### **2.2.2 Akrilamit Bazlı Hidrojeller**

Çapraz bağlı poliakrilamitler, suda şişme özelliklerinden dolayı, geniş bir kullanım alanına sahip olan hidrojellerdendir. Genellikle akrilamit monomerinin çapraz bağlanma vasıtasıyla, serbest radikal kopolimerizasyonu ile elde edilen poliakrilamit jeller, hidrojeller içerisinde önemli bir grup oluştururlar. Çapraz bağlama vasıtası

olarak N,N-metilenbisakrilamit, trietilenglikoldimetakrilat, tetrametilenglikoldiakrilat, divinilbenzen gibi bifonksiyonel monomerler kullanılabilir (Harland ve Prud'homme, 1992).



Noniyonik poliakrilamit jeller doğrudan kullanılabilceği gibi, gerek polimer zincirinde bazı modifikasyon reaksiyonları, gerekse akrilamit monomerinin çeşitli fonksiyonel gruplara sahip diğer monomerlerle kopolimerizasyon reaksiyonları sonucunda bünyede çeşitli hidrofilik fonksiyonel gruplara sahip modifiye poliakrilamitler elde edilebilmekte ve dolayısıyla kullanım alanları genişlemektedir (Kaşgöz, 1999).

N<sup>o</sup>N-metilenbisakrilamit çapraz bağlayıcı varlığında akrilamit ile birlikte bir veya daha fazla fonksiyonel monomerlerin kopolimerizasyonu ile hazırlanan poliakrilamit hidrojjeller; tarım (Kazanskii ve Dubrovskii, 1992), sondaj sıvıları (Maitland, 2000) ve doku mühendisliği (Calvert, 2009; Drury ve Mooney, 2003) uygulamalarında geniş kullanım alanına sahiptir. Poliakrilamit hidrojjeller; toksik olmaması, biyolojik olarak inert olması, uzun zincir uzunluğu, şeklini ve mekanik gücünü koruma kapasitesi, mekanik, kimyasal ve biyofiziksel özelliklerinin ayarlanabilir olması yönüyle polimer dünyasında oldukça ilgi görmüştür (Lin ve diğ., 2004; Hynd ve diğ., 2007). Ancak, fazla şişmiş hidrojjeller, etkin bir enerji dağılımı mekanizmasının eksikliği nedeniyle çok kırılıgandır ve çapraz bağlantı noktalarının dağılımı düzensizdir (Brown, 2007; Cohen ve Ramon, 1992).

Son zamanlarda özellikle hidrojjellerin mekanik mukavemet ve direncini arttırmak için yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu amaç doğrultusunda denenen teknikler; IPN (iç içe geçmiş polimer ağı) ya da yarı-IPN hidrojjellerin sentezlenmesi (Lee ve Chen, 2001; Myung ve diğ., 2007), jel ağı içine inorganik kil, karbon nanotüp (Haraguchi ve Takehisa, 2002, Stefanescu ve diğ., 2008), polimer parçacıkları (Huang ve diğ., 2007; Zhou ve diğ., 2011) ve organik moleküllerin (Sadeghi ve Hosseinza, 2009) eklenmesidir.

Ayrıca uzun yıllardan beri çapraz bağlı poliakrilamite çeşitli modifikasyon reaksiyonları uygulayarak çapraz bağlanma miktarının şişme özellikleri üzerine etkileri incelenmektedir. Bu bağlamda pH değişimi ile metal katyonları tutma kapasitesindeki değişim araştırılmaktadır (Latha ve diğ., 1991).

### 2.3 Enzimler ve Genel Özellikleri

Enzimler, canlı hücrede meydana gelen kimyasal reaksiyonları katalizleyen veya düzenleyen protein yapısında biyolojik katalizörlerdir. Kendileri herhangi bir değişime uğramadan canlı sistemlerde oluşan kimyasal tepkimelerin hızını artırır. Organizmadaki organik moleküllerin yapımı, yıkımı, kas hareketleri ve solunu gibi fizyolojik olaylar enzimlerin yardımıyla yürütülmektedir (Telefoncu, 1997; Erarslan, 2002).

Enzimlerin katalitik aktiviteleri, onların tersiyer ve kuaterner yapıları sayesinde gerçekleşir. Bütün enzimler katalitik bir merkeze, bir veya daha çok substrat bağlanma bölgesine, yine bir veya daha çok düzenleyici bölgeye sahiptir (Aehle, 2004).

Birçok enzim katalizör işlevi için, protein kısmına ek olarak protein olmayan bileşenler de içermektedir. Bu yardımcı grup maddeler prostetik grup, kofaktör veya koenzim olarak adlandırılır. Prostetik grup, proteine bağlı, aminoasit olmayan ve enzime belli özellikler kazandıran gruptur. Kofaktörler, kataliz için gerekli küçük organik moleküllerdir. Koenzim terimi ise bir enzimin aktivitesi için gerekli olan ve sıklıkla bir vitaminden türeyen organik moleküller için kullanılır. Bir enzimin işlevi için gerekli bütün yardımcı faktörleri içeren biçimi, haloenzim, kofaktörlerini kaybetmiş yalnızca protein kısmını içeren biçimi ise apoenzim olarak adlandırılmaktadır. Enzimin özelliğini ve spesifikliğini sağlayan kısım apoenzimdir (Özgömlekçi, 2006).

Enzimler spesifik aktiviteye sahip proteinler oldukları için, enzimin bu spesifitesi substratla geçici olarak enzim-substrat kompleksini kurmaya yarar. Bu geçici kompleks sayesinde ürünler oluşur, daha sonra enzim substrattan ayrılarak tekrar eski haline geri döner. Substratın enzimin üzerinde bağlandığı aktif bölgeye ise katalitik bölge adı verilir. Substratın enzime bağlanması anahtarın kilide uyması gibi bir uyum gösterir. Enzimler substratlarına karşı çok iyi spesifite gösterdikleri için kendine özgü ve uyumlu tek bir substratla bağlanarak tek bir ürün oluştururlar (Chaplin ve Bucke, 1990).

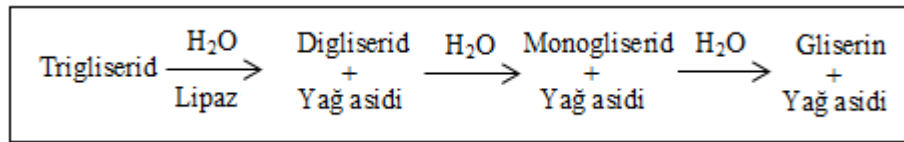
Karmaşık canlı sistemlerinde çalışan enzimler, spesifikler, toksik etki göstermezler, suda çözünebilirler, çok düşük derişimlerde bile substrat reaksiyonlarını katalizleyebilirler ve yan ürün oluşumuna neden olmadan yüksek verim sağlarlar. Enzimlerin bu özellikleri, onların biyokimyasal, endüstriyel ve analitik alanlarda uygulanmalarına yol açmıştır (Betigeri ve Neau, 2002).

### 2.3.1 Lipaz Enzimi

Lipazlar (EC.3.1.1.3, triaçilgliserol açil hidrolaz) hayvansal ve bitkisel yağların normal koşullar altında tersinir hidrolizini katalizleyen enzimlerdir. Bunun dışında esterifikasyon, transesterifikasyon gibi reaksiyonları da katalizlemektedir. Lipaz enzimi dünya çapındaki enzim satışlarının %4'lük kısmına sahiptir (Paiva ve diğ, 2000; Balcao ve Malcata, 1998).

Son yıllarda lipaz enzimi araştırmalarına olan ilgi artmıştır. Bu temel olarak lipazların benzersiz yapısal karakteristiklerine bağlı bir durumdur. Lipazlar çok çeşitli substratları kullanabilme yeteneğine sahiptir. Çok yüksek sıcaklık ve pH değerlerinde ve organik çözücülere karşı yüksek kararlılıktadır. Kimyasal olarak ürünlerine karşı yüksek seçiciliğe sahiptirler. Bu özellikler lipaz enzimlerine düşük sıcaklık ve basınçta reaksiyonları kataliz etme imkânı sağlamaktadır (Paiva ve diğ, 2000; Villeneuve ve diğ, 2000).

Etkin olduğu hidroliz reaksiyonu genel olarak Şekil 2.6'da gösterilmektedir (Koç, 1994).



Şekil 2.6 Lipazların hidroliz reaksiyonu.

Lipazlar hayvansal, bitkisel ve doğal veya genetik olarak iyileştirilmiş mikroorganizmalardan elde edilebilir. Bunların arasından, kolay üretilmesi ve pek çok hidrolitik ve sentetik reaksiyonu katalizlemesinden dolayı en fazla kullanım alanı bulan ise mikrobiyal kaynaklı lipazlardır. Lipaz tarafından katalizlenmiş olan reaksiyonlar doğal metabolik reaksiyonlara benzemesinden dolayı kimyasal reaksiyonlara oranla daha çevre dostu olarak tanımlanırlar. Düşük aktivasyon enerjileri sebebiyle lipazın katalizlediği reaksiyonlar daha düşük sıcaklık ve nötral

pH gerektirir, enerji gereksinimi düşüktür ve ürün ve substratlara karşı aktiviteleri çok yüksektir ve bu aktivite özellikle de substrat (yağ)-su ara yüzeyinde en yüksek seviyeye çıkmaktadır. Bu kavram ara yüzey aktivasyonu olarak tanımlanabilir. Bu sebeple, en yüksek aktivitelere, substrat için yüksek yüzey alanına ulaşıldığı emülsiyon sistemlerinde ulaşılmaktadır (Öztürk, 2002).

İyonların ve reaktiflerin lipaz aktivitesine olan etkilerinin incelenmesi sonucu, ağır metal iyonlarının lipaz aktivitesini inhibe ettiği bunun tersi olarak alkali metal iyonlarının ise artırdığı görülmüştür. Lipaz aktifliği üzerine en etkili iyon  $Ca^{2+}$  dir. Lipaz aktivitesini inhibe eden maddelere  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Sn^{2+}$ , boronik asitler ve dietil-p-dinitrofenil fosfat örnek olarak verilebilir. (Akoh ve Min, 1998). Lipazlar belli pH değerlerinde katalitik olarak aktiftir. Lipazların çoğu için optimum pH 7-8 arası değişir. Mikrobiyolojik kaynaklı lipazlar pH= 6,0-7,5 civarında yüksek kararlılık gösterirler (Fadıloğlu, 1996).

Genel olarak lipazların maksimum aktivite gösterdiği sıcaklık aralığı 30-40°C'dir. Hayvan ve bitki lipazları genellikle hücre dışı mikrobiyal (mantar ve bakteri) lipazlara göre daha az termal kararlılık gösterir. Pankreatik lipazlar 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda aktivitelerini kaybederler (Fadıloğlu, 1996).

## 2.4 Enzim İmmobilizasyonu

Enzimler, endüstriyel alanda birçok avantaja sahip olmasına rağmen kullanımları sınırlıdır. Enzimlerin kullanımını sınırlayan faktörleri şöyle sıralayabiliriz:

- Endüstriyel ortam koşulları ( pH, sıcaklık) enzimlerin aktivitesini yitirmesine neden olabilir.
- Serbest enzimlerle gerçekleştirilen endüstriyel uygulamalarda reaksiyonun sonlandırılması ortama inhibitör katılmasıyla olur. İnhibitör varlığı yeni bir kirlilik doğurur.
- Çözelti halinde kullanılan enzimlerin izolasyonu ve saflaştırılması gibi ayırma işlemlerinin uygulanmasından dolayı çok pahalıdır.
- Serbest enzimlerin sürekli sistemlere uygulanması olanaksızdır.

- Bu nedenlerden dolayı enzimlerin bir kez kullanımı yerine immobilize edilerek tekrarlanabilir kullanımlara girmeleri ve termal kararlılıklarının sağlanması ekonomik açıdan büyük önem taşımaktadır.

Enzim immobilizasyonu, katalitik proseslerde enzim moleküllerinin katalitik aktifliğini koruyarak tekrar ve sürekli kullanımını sağlamak amacıyla bir destek maddesine fiziksel ve kimyasal tutulması olarak tanımlanabilir (Worsfold, 1995). Immobilize enzimler, serbest enzimlere göre daha kullanışlı ve avantajlı moleküllerdir. Immobilize enzimlerin serbest enzimlere göre üstünlüklerini şöyle sıralayabiliriz:

- Reaksiyon sonunda ortamdan kolayca uzaklaştırılabilirler (süzme, santrifüjleme vb.) ve ürünlerin enzim tarafından kirletilmesi söz konusu değildir.
- Çevre koşullarına (pH, sıcaklık vb.) karşı daha dayanıklıdır.
- Birçok kez ve uzun süre kullanılabilir.
- Sürekli işlemlere uygulanabilir.
- Serbest enzime kıyasla daha kararlıdır.
- Ürün oluşumu kontrol altında tutulabilir.
- Birbirini izleyen çok adımlı reaksiyonlar için uygundur.
- Bazı durumlarda serbest enzimden daha yüksek bir aktivite gösterir.
- Enzimin kendi kendisini parçalaması (otoliz) olasılığı azalır.
- Mekanistik çalışmalar için uygundur.
- Otomatik işlemlere imkân verir.

Endüstriyel boyutta önemli bir ekonomi sağlar; üretim kaybı azalır. (Telefoncu, 1997).

#### **2.4.1 Taşıyıcı Destek Materyali**

Enzim immobilizasyonunda genellikle sentetik kimyasal maddeler ve sentetik makro moleküller destek materyali olarak kullanılmaktadır. Destek materyalinde hidroksil, karboksil ve amino grupları gibi aktif gruplar bulunmaktadır. Enzimlerin immobilizasyonu sırasında bu gruplar korunmalı ve enzim aktifliğini yitirmemelidir. Bununla birlikte, destek için kullanılan kimyasallar, bazı durumlarda enzimleri kısmen veya tamamen çalışamaz hale getirebilir. Çizelge 2.5'te taşıyıcı destek materyallerine örnekler verilmektedir.

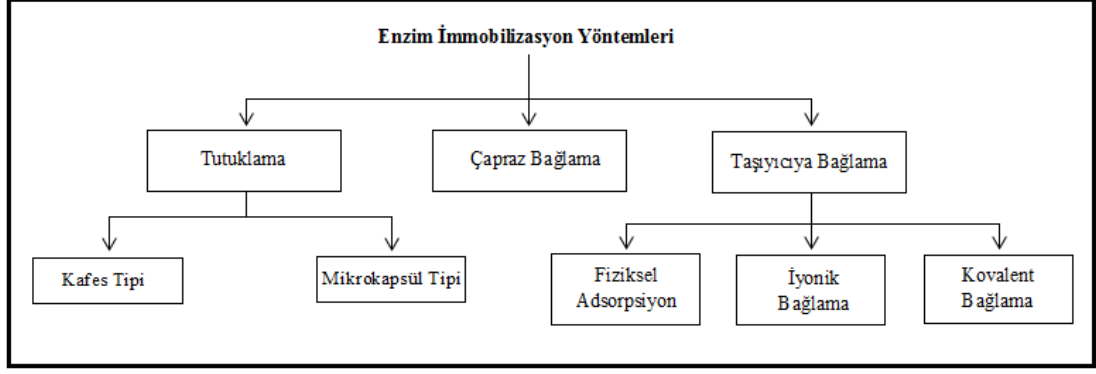
**Çizelge 2.5** Taşıyıcı destek materyallerine örnekler ( Karaca, 2006).

<b>Sentetik materyal</b>	<b>Doğal materyal</b>
❖ P(AAm-ko-AA) esaslı polimerler	• Agaroz
❖ Dakron	• Dekstran
❖ Poliamidler	• Selüloz
❖ Stiren esaslı polimerler	• Cam
❖ Akrilat esaslı polimerler	• Kollajen
❖ İyon değiştrici reğineler	• Silikajel

Tüm enzimler için genel bir destek ortamı bulunmamakla birlikte, proteinlere yüksek afinite, enzimlerle direkt reaksiyon ve kimyasal modifikasyonlar için reaktif fonksiyonel gruplara sahip olması, hidrofilik olması, mekanik stabilite ve sertlik, yenilenebilirlik destek ortamları için arzu edilen bazı özelliklerdir.

#### **2.4.2 Enzim İmmobilizasyon Yöntemleri**

Bir enzimin immobilizasyonunda önemli olan bağlanma metodunun seçimidir. Bu bağlanmada, enzimin kimyasal doğasının değişimi veya enzimin bağlanma bölgesindeki reaktif grupların değişimi ile enzimin aktivite kaybetmesi önlenmelidir. Diğer bir deyişle, enzim mümkün olan en düşük hasarla bağlanmalıdır. Enzimin aktif bölgesindeki önemli bilgi, bu görevin başarılmasında yarar sağlayacaktır. Enzimin esansiyel bağlanma bölgesindeki gruplarla reaksiyondan kaçınılması istenmektedir. Alternatif olarak, bağlanma sırasında aktif bölge enzim aktivitesini kaybetmeksizin uzaklaştırılabilecek uzun koruyucu gruplar ile korunabilir. Bazı durumlarda koruyuculuk fonksiyonu bir substrat veya enzimin bir yarışmalı inhibitörü tarafından yerine getirilebilir (Coşkun, 2007). Şekil 2.7’de enzim immobilizasyon yöntemleri şematik olarak gösterilmiştir.

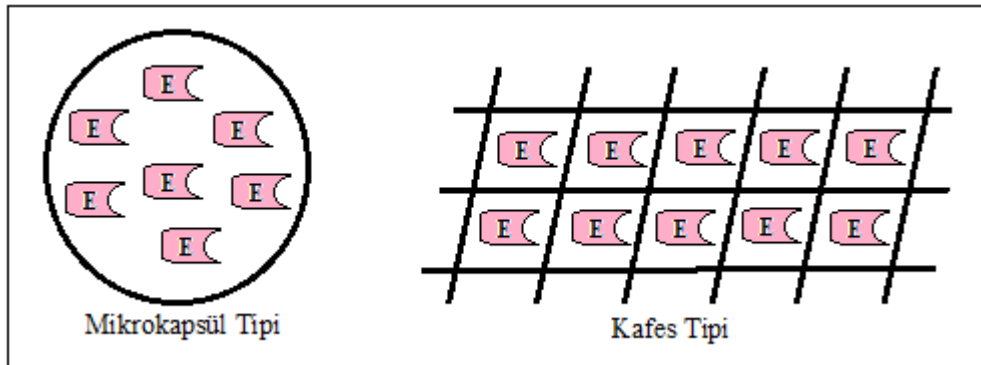


**Şekil 2.7** Enzim immobilizasyon yöntemleri.

Sunulan çalışmada lipaz enziminin üretilen hidrojellere tutuklama yöntemi ile immobilizasyonu çalışıldığından, bu yöntem aşağıda anlatılmıştır.

Tutuklama yöntemi ile immobilizasyon, enzimin polimer matrise veya membrana hapsedilmesine dayanır. Enzim taşıyıcıya kimyasal olarak bağlanmadan, taşıyıcının mikroyapısı içerisinde hareketsiz olarak yer almaktadır. Tutuklama yöntemi uygulanacak taşıyıcının gözenek yapısının enzimin dışarıya sızmasını engelleyecek kadar sıkı olması, aynı zamanda substratın ve ürünün ise hareket etmesine olanak verecek boyutta olması istenir (Dumitriu ve diğ., 1988).

Tutuklama yöntemi, kafes tipi ve mikrokapsül tipi olmak üzere ikiye ayrılır. Bu yöntemler Şekil 2.8’de gösterilmiştir.



**Şekil 2.8** Mikrokapsül tipi ve kafes tipi tutuklama yöntemleri.

Yüksek derecede çapraz bağlı bir polimerin enzim çözeltisi içinde oluşturulması yoluyla immobilizasyon türü “kafes tipi tutuklama” olarak adlandırılır. Bu amaçla en çok kullanılan polimer N,N’-metilenbisakrilamid ile çapraz bağlanmış PAAm dir. Polimerleşme sonucu enzim molekülleri çapraz bağlar arasında hapsedilmekte ve böylece çözeltiliye geçmeleri engellenmektedir. Kafes tipi immobilizasyonda; çapraz

bağ yüzdesi önemli bir parametredir. Çapraz bağ yüzdesi, enzim moleküllerinin dışarı sızmasına engel olacak, aynı zamanda substrat ve ürünlerin kolayca hareket etmesine olanak verecek şekilde ayarlanmalıdır. Bu yöntemle immobilize edilecek enzimin substratının küçük molekülü olması gerekir (Demirkol, 2006).

Tutuklama yöntemi ile birçok enzimi, proteini ve hücrel organelleri immobilize etmek mümkündür. Ayrıca tutuklama yöntemi ile immobilizasyonda enzim, taşıyıcıya kimyasal olarak bağlanmadığı için immobilizasyon sonucunda bir değişikliğe uğramamaktadır. Bundan dolayı tutuklama yöntemi ile immobilize edilen enzimin aktivitesinde kayıpların gözlenmemesi bu yöntemin en önemli avantajıdır.



### **3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR**

#### **3.1. Kullanılan Malzemeler**

Tez çalışması kapsamındaki hidrojellerin sentezinde ana monomer olarak kullanılan akrilamit (AAm), aktivatör olarak kullanılan amonyum persülfat (APS) ve sodyum metabisülfat (SMBS), Merk firmasından temin edilmiştir. Çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan N,N'-metilenbisakrilamit (MBAAm), Aldrich Chemicals firmasından temin edilmiştir. Lipaz enzimi, Aldrich Chemicals temin edilmiştir ve daha fazla saflaştırılmadan kullanılmıştır. Ayrıca deneyler süresince, laboratuvar şartlarında üretilen deiyonize su kullanılmıştır.

#### **3.2. Ekipmanlar**

- Hassas Terazi, Sartorius, ED224S
- Manyetik karıştırıcı, IKA<sup>\*</sup> RCT classic
- Freeze-dryer, LABCONCO
- Isıl gravimetrik analiz (TGA), EXSTAR SII TG/DTA 6300
- X Işını Kırınımı (XRD), Rigaku D/MAX-Ultima+/PC
- Taramalı elektron mikroskobu (SEM), XL30 ESEM-FEG/EDAX

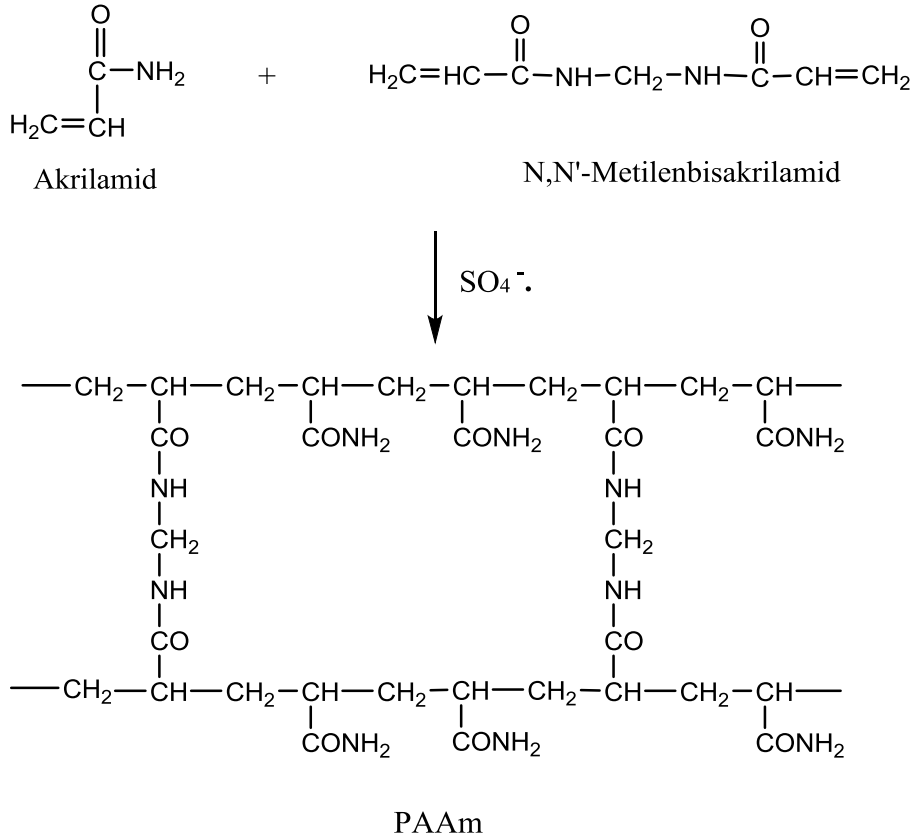
#### **3.3. Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Hazırlanması**

##### **3.3.1. Hidrojellerin Sentezi**

###### **3.3.1.1 Saf Poliakrilamit Hidrojellerinin Sentezi**

Poliakrilamit hidrojeller, amonyum persülfat(APS)/sodyum metabisülfat (SMBS) redoks başlatıcı çifti ve N,N'-metilenbisakrilamit (MBAAm) çapraz bağlayıcı kullanılarak serbest radikalleşme polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Başlangıç olarak cam deney tüpü içerisinde deiyonize su (5ml) ve AAm monomerini (0,244 g) içeren bir sulu çözelti hazırlanmıştır. Sonra sırasıyla çapraz bağlayıcı, MBAAm

(monomer ağırlığının %2'si) ile redoks başlatıcı çifti, amonyum persülfat/sodyum metabisülfid [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>/Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>] (monomer ağırlığının %1,214'ü) çözeltiye ilave edilmiştir ve homojen karışım sağlanmıştır. Polimerizasyon 35°C su banyosunda 24 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Cam deney tüplerinde sentezlenen hidrojeller, tüpler kırılarak çıkarılmıştır ve diskler halinde kesilmiştir. Hidrojeller herhangi bir olası kalıntı monomeri ve çapraz bağlama maddelerini uzaklaştırmak için 2 gün boyunca deiyonize su ile yıkanmıştır. Reaksiyon mekanizması Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

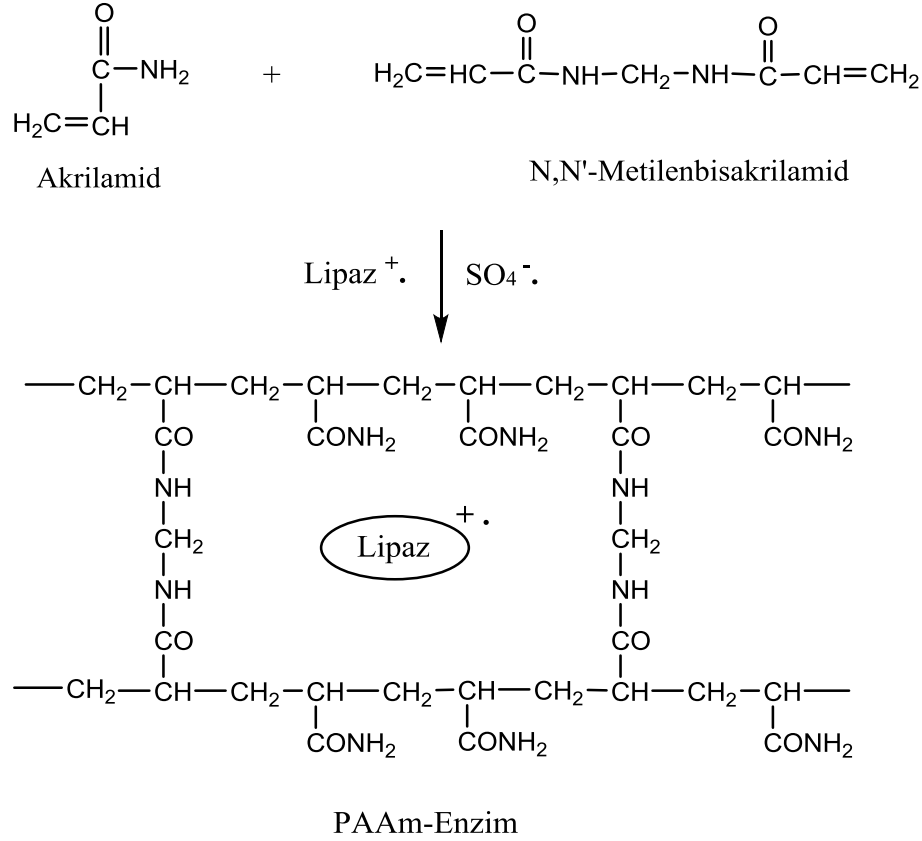


Şekil 3.1 : Saf poliakrilamid hidrojel için reaksiyon mekanizması.

### 3.3.1.2. Lipaz&Poliakrilamid Hidrojellerinin Sentezi

Lipaz enzimi akrilamid bazlı hidrojellere tutuklama yöntemiyle immobilize edilmiştir. Cam deney tüpü içerisinde deiyonize su (5ml) ve AAm monomerini (0,244 g) içeren bir sulu çözelti hazırlanmıştır. Birkaç dakika karıştırıldıktan sonra değişik miktarlarda lipaz enzimi (monomer ağırlığının %1-10'u) çözeltiye ilave edilmiştir. Daha sonra sırasıyla çapraz bağlayıcı, MBAAm (monomer ağırlığının %2'si) ile redoks başlatıcı çifti, amonyum persülfat/sodyum metabisülfid [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>/Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>] (monomer ağırlığının %1,214'ü) çözeltiye ilave edilmiştir ve homojen karışım sağlanmıştır. Polimerizasyon 35°C su banyosunda 24 saat süreyle

gerçekleştirilmiştir. Cam deney tüplerinde sentezlenen hidrojeller, tüpler kırılarak çıkarılmıştır ve diskler halinde kesilmiştir. Hidrojeller herhangi bir olası kalıntı monomeri ve çapraz bağlama maddelerini uzaklaştırmak için 2 gün boyunca deiyonize su ile yıkanmıştır. Reaksiyon mekanizmaları Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2 : Lipaz&poliakrilamid hidrojelleri için reaksiyon mekanizması.

Şekil 3.2’deki reaksiyon mekanizmasında gösterildiği gibi lipaz enzimi polimere tutuklama yöntemiyle bağlanmıştır.

### 3.3.2 Hidrojellerin Kurutulması

Hazırlanan hidrojeller iki yöntem ile kurutulmuştur.

#### 3.3.2.1 Kötü Çözücü İle Kurutma

Kötü çözücü ile kurutma yöntemi, su moleküllerinin hidrojelden desorpsiyonuna dayanan bir yöntemdir. Bu yöntem ile hidrojeller kurutulurken aseton çözeltisi kullanılmıştır. Aseton çözeltisinden değişik derişimlerde (% 20, 40, 60, 80, 100 v/v) hazırlanmıştır. İlk olarak hidrojeller, % 20’lik aseton çözeltisi içerisine daldırılmıştır ve desorplanan sıvı miktarı sabitleninceye kadar hidrojeller belirli aralıklarla aseton

ortamından çıkartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Sabit değere ulaşan hidrojeller sırasıyla % 40, 60, 80, 100'lük aseton çözeltisine daldırılarak kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.2.2 Freeze Dryer İle Kurutma

Hidrojeller  $-18^{\circ}\text{C}$ 'deki dondurucuda 1 gün süresince soğutulmuştur. Donmuş örnekler freeze dryerda 24 saat boyunca kurutulmuştur.

## 3.4. Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Karakterizasyonu

Hidrojellerin dinamik şişme ölçümleri gravimetrik yöntemle belirlenmiştir. Öncelikle hidrojel numunelerinin hassas terazide kuru ağırlıkları alınmıştır. Her bir numune 200 ml deiyonize su içerisine bırakılmış ve 3 gün boyunca şişme ortamlarından alınarak yaş ağırlıkları kaydedilmiştir. Hidrojeller tarafından adsorplanan sıvı miktarı sabitleninceye kadar ölçümlere devam edilmiştir. Bu değerlerden yola çıkarak her bir numune için şişme %'si hidrojellerin kuru ağırlıkları temel alınarak Eş.3.1'e göre hesaplanmıştır.

$$\%S = \frac{m_t - m_0}{m_0} * 100 \quad (3.1)$$

Eşitlikte  $m_t$ ; şişmiş hidrojinin t anındaki ağırlığı,  $m_0$  ise, hidrojinin kuru ağırlığıdır.

Hidrojellerin kristal yapılarının belirlenmesi amacıyla XRD analizleri yapılmıştır. XRD desenleri,  $0-70^{\circ}$  aralığında izlenmiştir.

Hidrojellerin ısıl analizleri TGA ile yapılmış ve hidrojel numunelerinin kütlelerinin, numunelerin sıcaklığına ve zamana göre değişimi kontrollü atmosfer altında ölçülmüştür. TGA analizleri  $25-700^{\circ}\text{C}$  aralığında ve azot atmosferinde  $10^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$  ısıtma hızı ile gerçekleştirilmiştir.

Aynı zamanda yüzey/kesit özelliklerinin belirlenmesi amacıyla da SEM analizleri yapılmıştır. Bu analizlerle, hidrojellerin gözenek yapıları ve boyutları incelenmiştir.

### **3.5. Enzim Aktivitesi Analizi**

#### **3.5.1 Serbest Enzim Aktivitesi Analizi**

Lipaz aktivitesi, substrat olarak para nitro fenil palmitat (pNFP) kullanılarak belirlendi. A çözeltisi olarak 10 ml izopropil içinde 30 mg pNFP ile B çözeltisi olarak 50 mM Tris-HCl tamponunun (pH 8), 90 ml'si içinde 0,1 g Arap sakızı ve 0,4 ml Triton X-100 hazırlanarak tamamı çözünene kadar karıştırılmıştır. 9,0 ml substrat çözeltisi ve 1,0 ml enzim çözeltisi karışımı  $40\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'de karıştırılarak hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir ve absorbans  $\lambda = 410 \text{ nm}$ 'de ölçülmüştür.

#### **3.5.2 İmmobilize Enzim Aktivitesi Analizi**

Aktivite deneylerinin doğruluğunu ve kesinliğini arttırmak adına hidrojellerde bağlanmamış lipaz ve reaksiyona katılmamış monomer, çapraz bağlayıcı ya da redoks başlatıcı çifti olma ihtimaline karşı freeze dryer yöntemi ile kurutma işlemi gerçekleştirilmeden önce, bu hidrojeller 2 gün boyunca deiyonize su ile yıkanmıştır.

Enzim çözeltisi yerine 100 mg immobilize edilmiş lipaz kullanılarak deney prosedürü 3.5.1'de açıklanmış gibi gerçekleştirilmiştir.

#### **3.5.3 Protein Tespiti**

Çözünmüş protein konsantrasyonu, standart olarak sığır serum albumini (BSA) kullanılarak Lowry metoduna göre tespit edilmiştir. Bağlı protein miktarı, yüklenen protein miktarı ve süpernatantların içinde mevcut olan protein miktarı (Lowry ve diğ., 1951) arasındaki fark ile belirlenmiştir.



## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

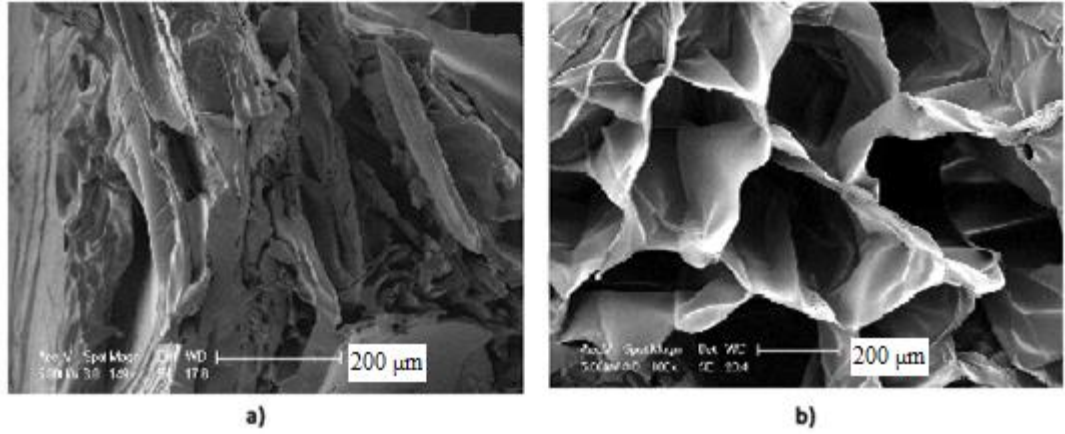
### 4.1 Kurutma Yöntemlerinin Akrilamit Bazlı Hidrojeller Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

#### 4.1.1 Farklı Yöntemler ile Kurutulmuş Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Karakterizasyonu

Kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin yüzey morfolojisi incelenerek bu hidrojellerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

##### 4.1.1.1 Farklı Yöntemler ile Kurutulmuş Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Yüzey Morfolojisi

Kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin SEM görüntüleri Şekil 4.1 'de gösterilmiştir.



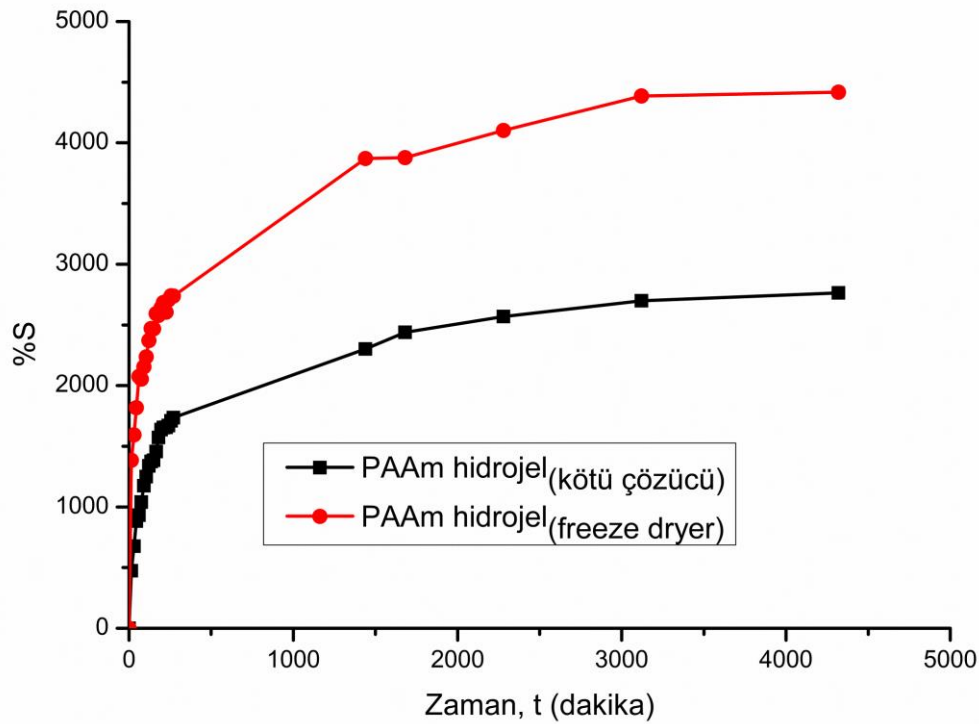
**Şekil 4.1** a) Kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin, b) freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin SEM görüntüleri.

Şekil 4.1 incelendiğinde freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelde, 200-300 mikrometre boyutunda açık porlar belirlenirken, kötü çözücü yöntemiyle kurutulmuş PAAm hidrojelde porlu yapıya rastlanılamamıştır. Bu sonuç; kötü çözücü yöntemine kıyasla freeze dryer yöntemi ile kurularak hazırlanan hidrojelin por miktarı ve boyutunun fazlasıyla arttığını açıkça göstermektedir.

## 4.1.2 Farklı Yöntemler ile Kurutulmuş Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Şişme Davranışlarının İncelenmesi

### 4.1.2.1 Farklı Yöntemler ile Kurutulmuş Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Dinamik Şişme Davranışı

Kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin şişme davranışı 25°C’de deiyonize su kullanılarak incelenmiş ve kurutma yöntemlerinin şişme oranına etkisi incelenmiştir. Şişme deneyleri denge durumuna erişinceye kadar sürdürülmüş ve farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerin dinamik şişme davranışı Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



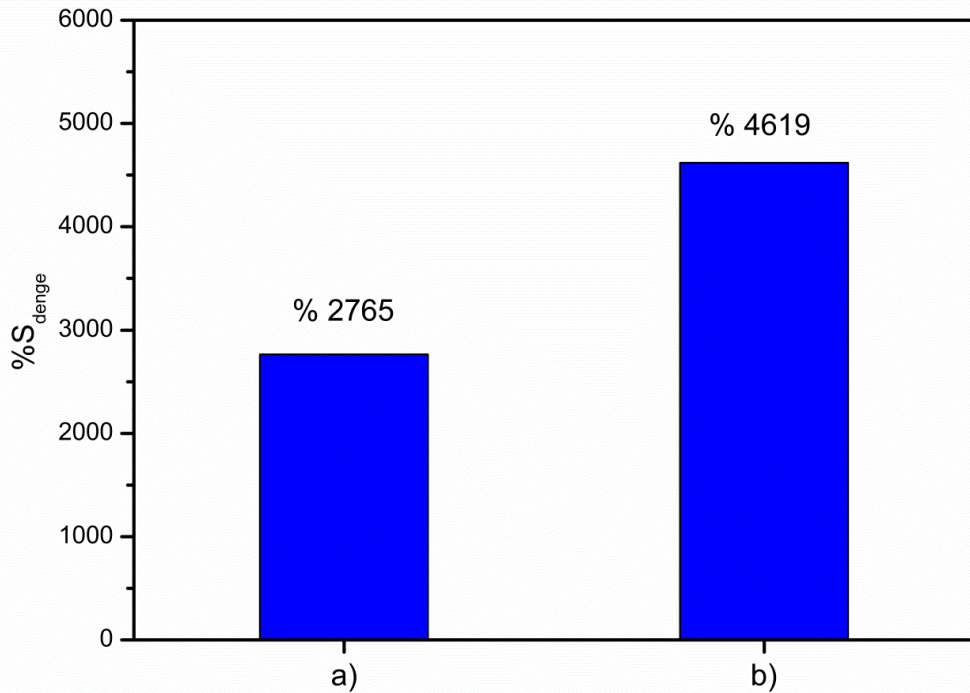
**Şekil 4.2** Farklı kurutma yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin dinamik şişme davranışı.

Şekil 4.2 incelendiğinde; her iki yöntemle kurutulmuş olan PAAm hidrojeller için; 0-270 dakika aralığında su moleküllerinin hidrojellerin içerisine nüfus etme hızının, 270-4320 dakika aralığındakinden daha fazla olduğu görülmüştür. İlk 270 dakika içerisinde kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojel, adsorpladığı toplam su miktarının % 62'sini emerken; freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojel, adsorpladığı toplam su miktarının % 75'ini bünyesinde barındırmaktadır.



Bu sonuç her iki hidrojin de ilk 270 dakika içerisinde şişme hızının fazla olduğunu, sonraki aralıklarda ise şişme hızının giderek yavaşladığını göstermektedir. 270 dakika sonunda kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojin yüzde şişme oranı, % 1736 iken; freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojinin yüzde şişme oranı, % 2737 olarak bulunmuştur. Böylece 270 dk içerisinde farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojinin dinamik şişme davranışlarında  $\approx$  % 1000'lik fark belirlenmiştir. Kurutma yöntemlerinin hidrojinin kimyasal yapısından ziyade yüzey morfolojisine etki ettiği düşünüldüğünde; freeze dryer yöntemiyle kurutulan hidrojinin por sayısı ve boyutunun, kötü çözücü yöntemiyle kurutulan hidrojinin por sayısı ve boyutundan fazla olması, dinamik şişme davranışında böyle bir farkın oluşmasında en önemli etken olduğunu düşündürmektedir.

Kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojinin şişme oranları 4320 dakika içinde dengeye geldiği ve sonraki sürelerde şişme oranlarında belli bir artış olmadığı izlenmiştir. Bu hidrojinin 4320 dakika içindeki denge şişme oranları Şekil 4.3'te verilmiştir.



**Şekil 4.3** a) Kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojele ve b) freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojele karşı hidrojinin denge şişme oranları (4320 dakika sonunda).

Şekil 4.3 incelendiğinde, kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin denge şişme oranı, % 2765 iken, freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin denge şişme oranı % 4619 olduğu görülmektedir. İki hidrojel denge şişme değerleri arasında  $\approx$  % 1854'lik bir fark olduğu hesaplanmıştır. Böylece kurutma yöntemlerinin denge şişme oranları üzerine etki ettiği belirlenmiştir. Kurutma yöntemlerinin hidrojellerin yüzey morfolojisine olan etkisinden dolayı; freeze dryer ile kurutulmuş hidrojel denge şişme oranının oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. Bu sonuç; hidrojellerde por sayısı ve boyutunun artması ile sıvı adsorplama kapasitesinde de artış olduğunu açıkça sergilemektedir.

Literatürde kurutma yöntemlerinin şişme oranına etkisinin yer aldığı hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat AAm monomerinin farklı monomerler ile kopolimerizasyonun ya da MBAAm/AAm oranının şişme oranlarına etkisinin değerlendirildiği çalışmalar literatürde yer almaktadır.

Vakum altında hava ile kurutulan, MBAAm oranı % 7,7 ve % 0,0 olan hidrojellerin şişme oranları sırasıyla % 665 ve % 1122 olarak verilmiştir (Işık, 2000).

Sunulan bu çalışmada kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş ve monomer ağırlığının % 2'si kadar MBAAm kullanılarak sentezlenmiş hidrojellerin şişme oranları sırasıyla % 2765, % 4619 olarak bulunmuştur. Literatüre kıyasla, freeze dryer yöntemiyle kurutma sonucu elde edilen şişme oranı diğer yöntemlerinkinden çok daha yüksektir.

#### **4.1.2.2 Farklı Yöntemler ile Kurutulmuş Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Şişme Kinetik Mekanizması**

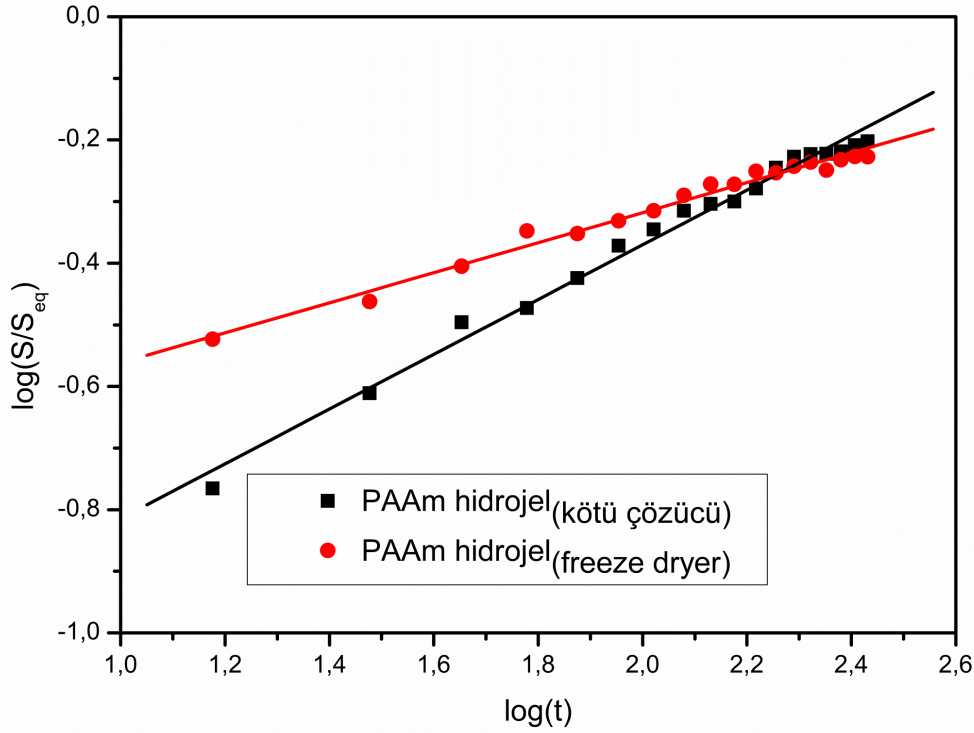
##### **Güç Kanunu Modeli**

Perpas (1985) tarafından tanımlanan güç kanunu modeli, bir polimerin şişmesinin zamana bağlılığını tanımlayan en etkili yöntemlerden biridir. Difüzyon ve gevşemenin birbirine göre önemini belirten taşınım mekanizması, güç kanunu modeli ile saptanmaktadır. Fakat bu modelin  $S/S_{eq} = 0,60$  üzerinde kesin bir analiz sonucu vermekte başarısız olduğu bilinmektedir (Bartil ve diğ, 2007).

**Çizelge 4.1** Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin  $S/S_{eq}$  oranının zamanla değişimi.

<b>t</b> (dakika)	$S/S_{eq}$ (PAAm hidrojel <sub>(kötü çözücü)</sub> )	$S/S_{eq}$ (PAAm hidrojel <sub>(freeze dryer)</sub> )
0	0	0
60	0,3367	0,4494
120	0,4846	0,5133
180	0,5690	0,5584
240	0,6044	0,5861
270	0,6279	0,5925
1440	0,8323	0,8383
1680	0,8823	0,8395
2280	0,9294	0,8882
3120	0,9764	0,9497
4320	1	1

Güç kanunu modelinin etkin kullanım alanını belirleyerek bu aralıkta daha kesin ve doğru analiz sonucu elde etmek için Çizelge 4.1'e ihtiyaç duyulmuştur. Çizelge 4.1 incelendiğinde; 270 dakikada kötü çözücü yöntemiyle kurutulmuş PAAm hidrojelinin  $S/S_{eq}$  oranı, 0,6279 iken; freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin  $S/S_{eq}$  oranı, 0,5925 olduğu görülmektedir. Dolayısıyla her iki hidrojel için de ortak zaman aralığı 0-270 dakika olarak belirlenmiştir. Bu aralık dikkate alınarak farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojelleri için güç kanunu modelinin uygulaması Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



**Şekil 4.4** Güç kanunu modelinin kötü çözücü ve freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (0-270 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).

Güç kanunu modeli uygulamalarında difüzyon üstelini ( $n$ ) ve orantı sabitini ( $k$ ) elde etmek mümkündür. Şekil 4.4'ten yararlanarak yapılan hesaplanmalar doğrultusunda, kötü çözücü ve freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojeller için difüzyon üsteli ( $n$ ), orantı sabiti ( $k$ ) ve güç kanunu modelinin etkinliğinin ifadesi olan hata değeri Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.2** Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojeller için güç kanunu modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.

Örnek	$n$	$k$	Hata
PAAm hidrojel <sub>(kötü çözücü)</sub>	0,4442	0,0551	0,03781
PAAm hidrojel <sub>(freeze dryer)</sub>	0,2438	0,1565	0,02535

Silindirik şekildeki bir malzeme için;  $n = 0,45-0,50$  değerleri Fick difüzyonu,  $0,50 < n < 1,0$  Fick olmayan (anomali) difüzyonu gösterir (Çapan, 1993). Fick difüzyonunda, polimer zincirleri, yüksek bir mobiliteye sahiptir ve su, kauçuğumsu ağ yapıya kolayca nüfuz eder (Bajpai ve diğ., 2008). Fick olmayan (anomali) difüzyonda ise polimer zincirlerinde polimerin iç kısma suyun nüfuz etmesini

sağlayacak hareket yeterli değildir (Li ve diğ, 2005). Çizelge 4.2 incelendiğinde; kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin difüzyon üsteli,  $n = 0,4442$  iken; freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin difüzyon üsteli,  $n = 0,2438$  olduğu görülmektedir. Her iki hidrojelinde taşınım mekanizması Fick difüzyonu olarak tespit edilmiştir. Böylece su; her iki hidrojelin ağ yapısına kolayca nüfus etmektedir.

Literatürde yer alan bir çalışmada; redoks polimerizasyonu ile sentezlenen poli(akrilamit-2-hidroksietil metakrilat) hidrojellerinin taşınım mekanizması Fick olmayan (anomali) difüzyon olarak verilmiştir (Işık, 2000). Yine literatürde yer alan farklı bir çalışmada, Poli(akrilamit-akrilik asit) hidrojellerine güç kanunu modeli uygulanarak bu hidrojellerin taşınım mekanizması Fick olmayan (anomali) difüzyon olduğu tespit edilmiştir (Thakur ve diğ, 2011). Sunulan bu çalışmada, her iki hidrojelin taşınım mekanizması Fick difüzyonu olarak tespit edilmesi literatüre üstünlük sağlamıştır.

Farklı maddelerin adsorpsiyon ve desorpsiyon hızlarını karşılaştırmada kullanılan güç kanunu modelinin kullanımındaki zorluk;  $k$  değerinin  $n$  değerine bağlı olmasıdır. Bundan dolayı, yalnızca aynı  $n$  değerine sahip maddeler için direkt olarak  $k$  değerlerinin karşılaştırılması mümkündür (Çapan, 1993). Dolayısıyla kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin orantı sabitleri ( $k$ ) için herhangi bir değerlendirme yapılamamıştır.

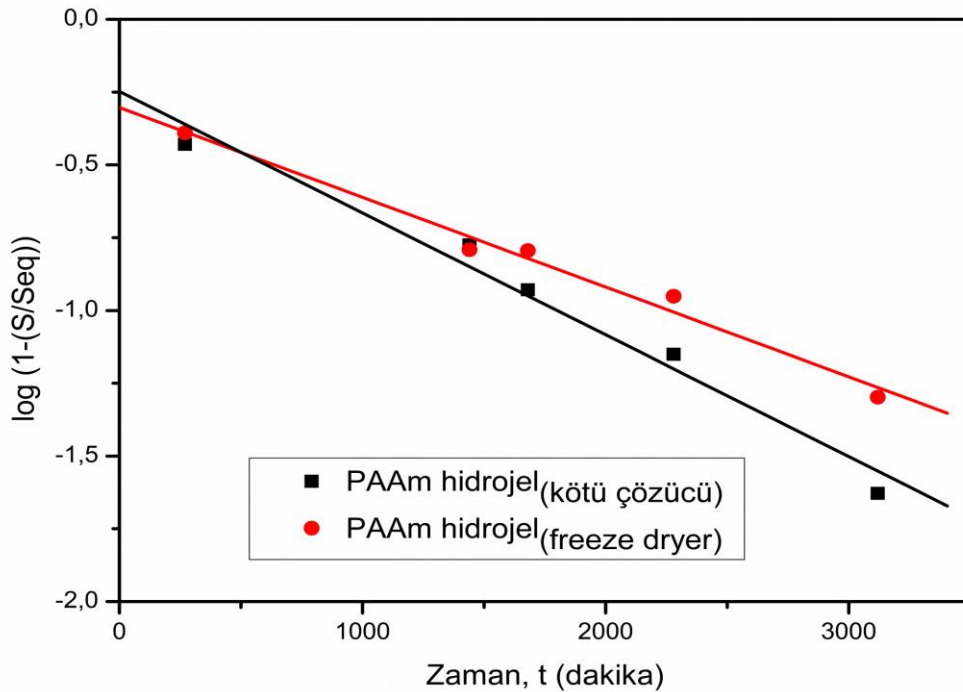
Çizelge 4.2'e göre kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelin hata değeri, % 3,781 iken, freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelin hata değeri, % 2,535'dir. Hata değerinin her iki hidrojel için de ihmal edilecek kadar az olması, güç kanunu modelinin başarılı bir şekilde uygulandığının göstergesidir.

Literatürde yer alan bir çalışmada, değişen akrilamit/akrilik asit oranlarına bağlı olarak hazırlanan poli(akrilamit-akrilik asit) hidrojellere uygulanan güç kanunu modelinin % hata değerlerine yer verilmiştir. Bu hata değerleri % 1,58-36,16 arasında değişmektedir (Thakur ve diğ, 2011). Sunulan bu çalışma literatür ile kıyaslandığında, güç kanunu modelinin oldukça etkin bir şekilde kullanıldığı görülmüştür.

## Voight Tabanlı Denklem Modeli

Daha önce ele aldığımız güç kanunu modeli şişme davranışının büyük bir bölümünü etkili bir şekilde tarif etmesine rağmen,  $S/S_{eq} = 0,6$  üzerindeki değerlerde kesin bir analiz vermekte başarısız olur (Bartil ve diğ., 2007). Voight tabanlı denklem modeli % 60'ın ötesinde daha başarılı bir analiz vermek için geliştirilmiştir. Bunun ışığında modelin kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojellere etkili bir şekilde uygulanabilmesi için bir önceki modelde yer alan Çizelge 4.1'den yararlanılmıştır.

Tablo 4.1 incelendiğinde; 270 dakikada kötü çözücü yöntemiyle kurutulmuş PAAm hidrojelinin  $S/S_{eq}$  oranı, 0,6279 iken; freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin  $S/S_{eq}$  oranı, 0,5925 olduğu görülmektedir. Dolayısıyla her iki hidrojel için de  $S/S_{eq}$  oranının % 60'ın üzerinde olduğu ortak zaman aralığı 270-4320 dakika olarak belirlenmiştir. Bu aralık dikkate alınarak farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojelleri için Voight tabanlı denklem modelinin uygulaması Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



**Şekil 4.5** Voight tabanlı denklem modelinin kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (270-4320 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).

Voight tabanlı denklem modelinin uygulamalarında çözücü penetrasyon hızını ( $\tau$ ) elde etmek mümkündür. Şekil 4.5'ten yararlanarak yapılan hesaplamalar doğrultusunda, kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAM hidrojel için çözücü penetrasyon hızı ( $\tau$ ) ve Voight tabanlı denklem modelinin etkinliğinin ifadesi olan hata değeri Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

**Çizelge 4.3** Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAM hidrojel için Voight tabanlı denklem modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.

<b>Örnek</b>	<b><math>\tau</math> (dakika)</b>	<b>Hata</b>
PAAM hidrojel <sub>(kötü çözücü)</sub>	1085,74	0,05612
PAAM hidrojel <sub>(freeze dryer)</sub>	1447,65	0,01556

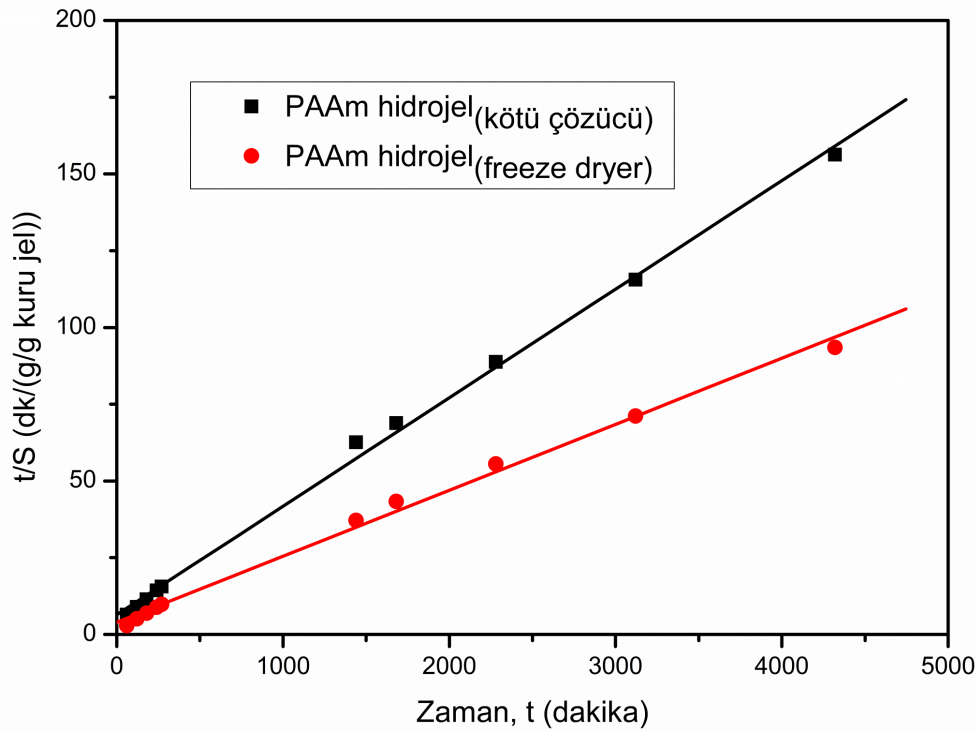
Çizelge 4.3 incelendiğinde; kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAM hidrojelinin çözücü penetrasyon hızı,  $\tau = 1085,74$  iken; freeze dryer ile kurutulmuş PAAM hidrojelinin çözücü penetrasyon hızı,  $\tau = 1447,65$  olduğu görülmektedir. Bu sonuç ile çözücünün freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAM hidrojeline, kötü çözücü yöntemiyle kurutulmuş PAAM hidrojelinden  $\approx 1,35$  kat daha kolay nüfus ettiği görülmüştür. Her iki hidrojel için yüzey morfolojisi düşünüldüğünde; çözücü penetrasyon hızının daha yüksek olmasının yani çözücünün ağ yapısı içerisine daha kolay nüfus etmesinin, hidrojel için şişme özelliğine sadece kimyasal yapının değil aynı zamanda fiziksel yapının da önemli boyutta etki ettiğinin göstergesidir.

Literatürde yer alan bir çalışmada, değişen akrilamit/akrilik asit oranlarına bağlı olarak hazırlanan poli(akrilamit-akrilik asit) hidrojel için bu model uygulanmıştır ve bu hidrojellerin çözücü penetrasyon hızının  $\tau = 5-24$  saat arasında olduğu saptanmıştır (Thakur ve diğ. 2011). Sunulan bu çalışma literatür verileri ile kıyaslandığında, sonuçların örtüştüğü görülmektedir.

Çizelge 4.3'e göre kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAM hidrojel için hata değeri, % 5,612 iken, freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAM hidrojel için hata değeri, % 1,556'dır. Hata değerinin her iki hidrojel için de ihmal edilecek kadar az olması, Voight tabanlı denklem modelinin başarılı bir şekilde uygulandığının göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

## İkinci Mertebeden Şişme Kinetiği Modeli

İkinci mertebeden şişme kinetiği modeli, hidrojellerin şişme davranışlarını geniş bir şekilde açıklamak için kullanılmaktadır (Yin ve diğ, 2002). Bu model; şişme davranışında başlangıç anından denge anına kadar tüm zaman aralıklarını etkin bir şekilde analiz edebildiğinden, farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinde zaman aralığı 0-4320 dakika olarak kullanılmıştır. Belirtilen süre dikkate alınarak bu hidrojeller için ikinci mertebeden şişme kinetiği modelinin uygulaması Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



**Şekil 4.6** İkinci mertebeden şişme kinetiği modelinin kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (0-4320 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).

İkinci mertebeden şişme kinetiği modeli; hidrojelin başlangıç anındaki şişme oranının  $((dS / dt)_0)$  ve hidrojelin modele göre hesaplanan denge anındaki şişme değerininin ( $S_{maksimum}$ ) hesaplanmasında kullanılmaktadır. Şekil 4.6'dan yararlanarak yapılan hesaplanmalar doğrultusunda, kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojelleri için başlangıç anında şişme oranı  $((dS / dt)_0)$ , denge anında şişme oranı ( $S_{maksimum}$ ) ve ikinci mertebeden şişme kinetiği modelinin etkinliğinin ifadesi olan hata değeri Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.



**Çizelge 4.4** Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojel için ikinci mertebeden şişme kinetiği modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.

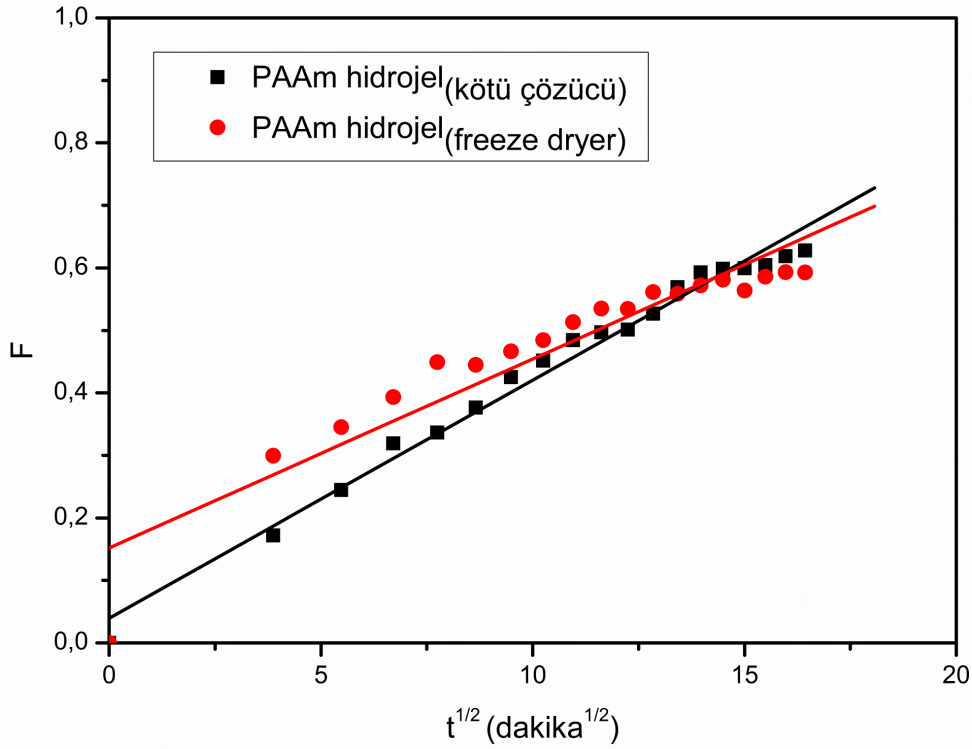
Örnek	$S_{eq(deneysel)}$	$S_{maksimum}$	Hata	$(dS / dt)_0$
PAAm hidrojel <sub>(kötü çözücü)</sub>	27,65	28,33	0,02459	0,1558
PAAm hidrojel <sub>(freeze dryer)</sub>	46,19	46,51	0,00693	0,2524

Çizelge 4.4 incelendiğinde; kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin başlangıç anında şişme oranı,  $(dS / dt)_0 = 0,1558$  iken; freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin başlangıç anında şişme oranı,  $(dS / dt)_0 = 0,2524$  olduğu saptanmıştır. Bu sonuç ile başlangıç anında freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinde gerçekleşen şişme olayının, kötü çözücü yöntemiyle kurutulmuş PAAm hidrojelinde gerçekleşen şişme olayından  $\approx 1,62$  kat daha hızlı olduğu görülmüştür. Bu sonuç; yine hidrojellerin yüzey morfolojisi düşünüldüğünde fiziksel yapının şişme davranışındaki önemini vurgular niteliktedir.

İkinci mertebeden şişme kinetiği modeli ile hesaplanan denge şişme değerleri ( $S_{maksimum}$ ) kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojel için 28,33 iken; freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojel için 46,51'dir. Deneysel olarak ölçülen denge şişme değerleri ( $S_{eq(deneysel)}$ ) ile bu model uygulanarak hesaplanan denge şişme değerlerinin ( $S_{maksimum}$ ) karşılaştırılması sonucu belirlenen hata değerleri bu modelin başarısının göstergesidir. Çizelge 4.4'e göre kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojel için hata değeri, % 2,459 iken, freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojel için hata değeri, % 0,693'tür. Hata değerinin her iki hidrojel için de ihmal edilecek kadar az olması, ikinci mertebeden şişme kinetiği modelinin başarılı bir şekilde uygulandığının göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

#### **Kısa Zamanlı Yaklaşım Metodu**

Hidrojel karakterizasyonu için, difüzyon katsayısının ( $D$ ) hesaplanmasında kısa zamanlı yaklaşım metodu kullanılmaktadır. Bu metodun farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerindeki uygulaması Şekil 4.7'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.7** Kısa zamanlı yaklaşım metodunun kötü çözücü ve freeze dryer yöntemleri ile kurutulmuş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (0-270 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).

Şekil 4.7'den yararlanarak yapılan hesaplanmalar doğrultusunda, kötü çözücü ve freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojelleri için difüzyon katsayısı ( $D$ ) Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

**Çizelge 4.5** Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojeller için kısa zamanlı yaklaşım metodu ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.

Örnek	$D$ ( $10^{-5}$ cm <sup>2</sup> /dakika)
PAAm hidrojel <sub>(kötü çözücü)</sub>	4,5603
PAAm hidrojel <sub>(freeze dryer)</sub>	11,461

Çizelge 4.5 incelendiğinde; kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin difüzyon katsayısı,  $D = 4,5603$  cm<sup>2</sup> /dakika iken; freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin difüzyon katsayısı,  $D = 11,461$  cm<sup>2</sup> /dakika olduğu hesaplanmıştır. Freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin difüzyon katsayısının, kötü

çözücü yöntemiyle kurutulmuş PAAm hidrojelinin difüzyon katsayısından  $\approx 2,52$  kat daha fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuç; yine hidrojellerin yüzey morfolojisi düşünüldüğünde fiziksel yapının şişme davranışındaki önemini vurgular niteliktedir.

4.1 bölümünde incelenen tüm kriterler dikkate alındığında; freeze dryer ile kurutma yönteminin, kötü çözücü ile kurutma yönteminden çok daha iyi bir yöntem olduğu belirlenmiştir ve tezin ikinci aşamasında hidrojellerin kurutulmasında freeze dryer ile kurutma yöntemi kullanılmıştır.

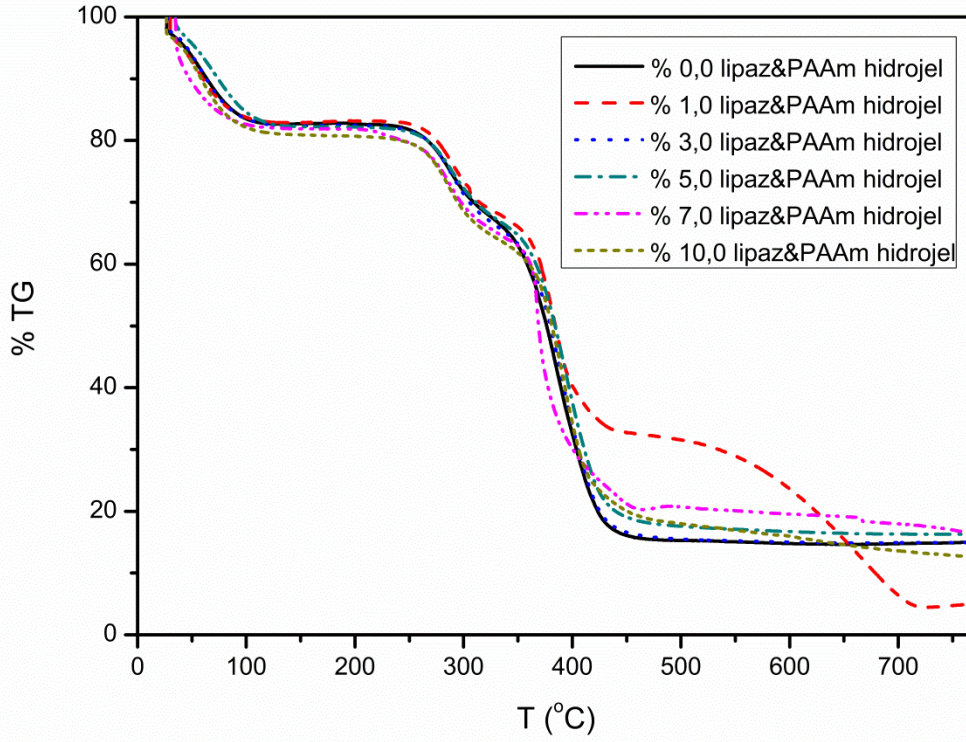
## **4.2. İmmobilize Enzimin Akrilamit Bazlı Hidrojeller Üzerine Etkilerinin İncelenmesi**

### **4.2.1. Lipaz İmmobilize Edilmiş Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Karakterizasyonu**

Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin ve lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin ısı analizi, yapısal morfolojisi ve yüzey morfolojisi incelenerek bu hidrojellerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

#### **4.2.1.1 Lipaz İmmobilize Edilmiş Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Isıl Analizi**

Tutuklama yöntemi ile değişik oranlarda (% 0,0-% 10,0 g lipaz/g monomer) lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin TGA termogramları Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.8** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerin TGA termogramları.

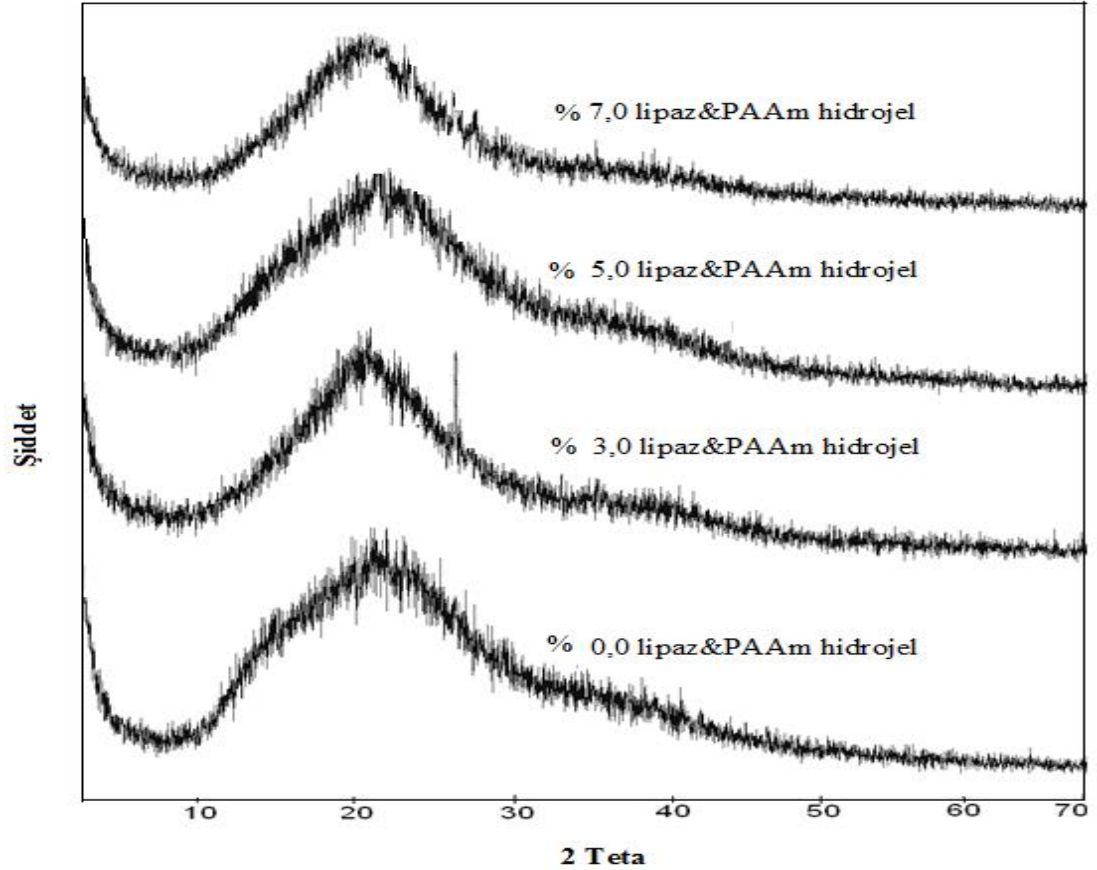
Şekil 4.8'deki termogramlara göre; 0-400°C arasında % 1,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojelinin bozunma hızı, lipaz yüklenmemiş PAAm hidrojelinin bozunma hızından daha yavaş olduğu gözlenmiştir. Fakat 400°C'den sonraki sıcaklıklarda durumun tam tersine döndüğü, % 1,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojelinin bozunma hızının, lipaz yüklenmemiş PAAm hidrojelinin bozunma hızından çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 650°C'de her iki hidrojel de ağırlığının yaklaşık % 84'ünü kaybettiği, 650°C'den sonraki sıcaklıklarda ise % 1,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojel bozunmaya devam ederek lipaz yüklenmemiş PAAm hidrojelden daha fazla kütle kaybına uğradığı görülmüştür. Bu kütle kaybının; büyük olasılıkla zayıf bağlı enzimin bozulmasından ve suyun uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

400°C'den sonraki sıcaklıklarda, % 1,0 ve % 7,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojellerinin ısıl bozunma yüzdelerinde yavaşlama olduğu ve lipaz yüklenmemiş PAAm hidrojele kıyasla kütle kaybının daha az olduğu gözlenmiştir. Bu yüksek ısıl kararlılığın enzim ve PAAm ağ arasındaki etkileşimden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Literatürde yer alan bir çalışmada, alanin ve lösin aminoasitleri immobilize edilen kitosan hidrojelinin TGA analizi yer almaktadır. Bu çalışmada, 400°C'den sonraki sıcaklıklar için alanin ve lösin aminoasitleri immobilize edilen kitosan hidrojelinin kütle kaybının, aminoasit immobilize edilmemiş kitosan hidrojelinin kütle kaybından daha az olduğu belirlenmiştir (Akay ve Omay, 2014). Sunulan bu çalışma; literatürü destekler niteliktedir.

#### 4.2.1.2 Lipaz İmmobilize Edilmiş Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Yapısal Morfolojisi

Tutuklama yöntemi ile değişik oranlarda (% 0,0, 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz/g monomer) lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin XRD analizi Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9 Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerin XRD analizleri.

Hidrojel matrikse lipaz immobilizasyonun lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinde meydana getirdiği yapısal morfolojik değişiklikler Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Lipaz immobilize edilmemiş PAAm ve lipaz immobilize edilmiş

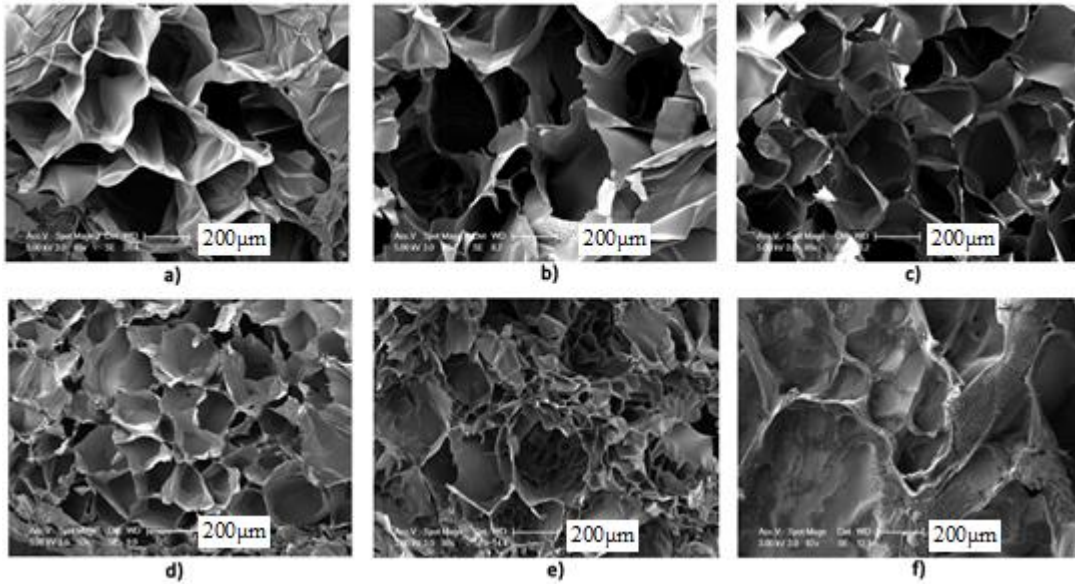
hidrojellerin XRD desenleri incelendiğinde; modifiye edilmemiş PAAm hidrojelinin  $2\theta=10-70^\circ$  arasında amorf yapı sergilediği görülmüştür.

% 3,0 g lipaz /g monomer immobilize edilmiş PAAm hidrojelinin XRD desenleri incelendiğinde,  $2\theta = 28^\circ$  de belirgin bir kırınım piki saptanmıştır. Bu kristal pik, lipazın kristal ve/veya üç boyutlu kompleks yapısını temsil etmektedir ve hidrojellerin polimerik yapısı içine bağlanan lipazın yapısındaki amino asitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Literatürde lipaz enzimi ile yapılan bir çalışmada; lipaz immobilize edilmiş fonksiyonalle gzenekli aktif karbonun XRD desenlerinde;  $2\theta = 32^\circ$  ve  $35^\circ$  arasındaki değerlerde lipazın kristal yapısına ait pikler görülmüştür (Ramani ve diğ, 2012).

#### 4.2.1.3 Lipaz İmmobilize Edilmiş Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Yüzey Morfolojisi

Tutuklama yöntemi ile değişik oranlarda (% 0,0-% 10,0 g lipaz/g monomer) lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin SEM görüntüleri Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

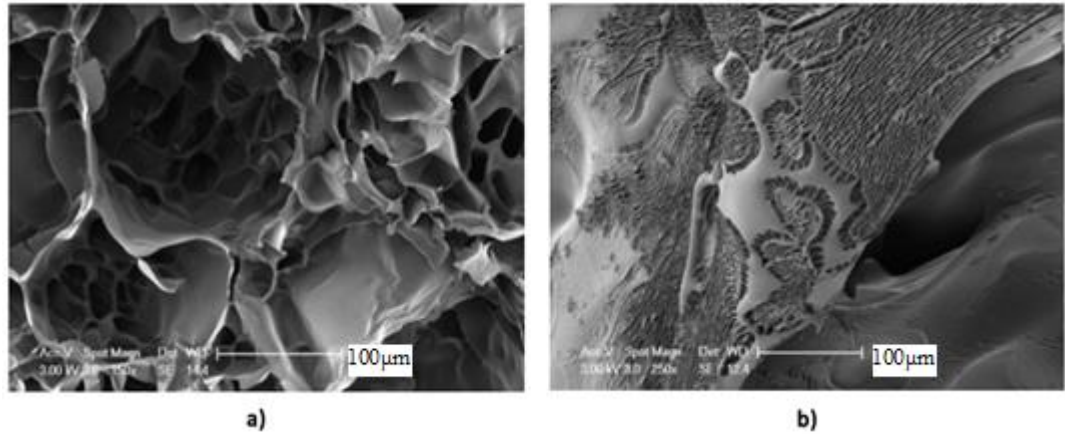


**Şekil 4.10** a) % 0,0 lipaz&PAAm hidrojelinin, b) % 1,0 lipaz&PAAm hidrojelinin, c) % 3,0 lipaz&PAAm hidrojelinin, d) % 5,0 lipaz&PAAm hidrojelinin, e) % 7,0 lipaz&PAAm hidrojelinin, f) % 10,0 lipaz&PAAm hidrojelinin SEM görüntüsü.

Şekil 4.10 incelendiğinde % 0,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojelde, çoğunlukla kapalı ile az miktarda 200-300 mikrometre boyutunda açık porlar belirlenmiştir. % 3,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojelde ise; enzim yüklemesinden kaynaklandığı düşünülen, fazla miktarda, hidrojin geneline dağılmış şekilde, 500 mikrometre boyutunda porlar olduğu gözlenmiştir. Özellikle % 7,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojelde, geniş gözeneklere ek olarak bu gözeneklerde küçük ve çok miktarda alt-gözenekler gözlenmiştir. Bu sonuç, optimum miktarda lipaz yüklemesinin, hidrojin hem por boyutunda hem de por miktarında artışa neden olduğunu göstermektedir.

% 10,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojelde ise, porlu yapıya rastlanamamıştır. Bu sonucun, aşırı miktarda lipaz yüklenmesinin PAAm hidrojelde çapraz bağlanmayı fazlasıyla azaltmasından, böylece porlu yapının oluşumunun engellenmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Yüksek miktarda modifiye edilmiş hidrojinlerin SEM görüntüleri Şekil 4.11’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.11** Yüksek miktarda modifiye edilmiş a) % 7,0 lipaz&PAAm hidrojinin, b) % 10,0 lipaz&PAAm hidrojinin SEM görüntüsü.

## **4.2.2 Lipaz İmmobilize Edilmiş Akrilamit Bazlı Hidrojinlerin Aktivite ve Salım Davranışlarının İncelenmesi**

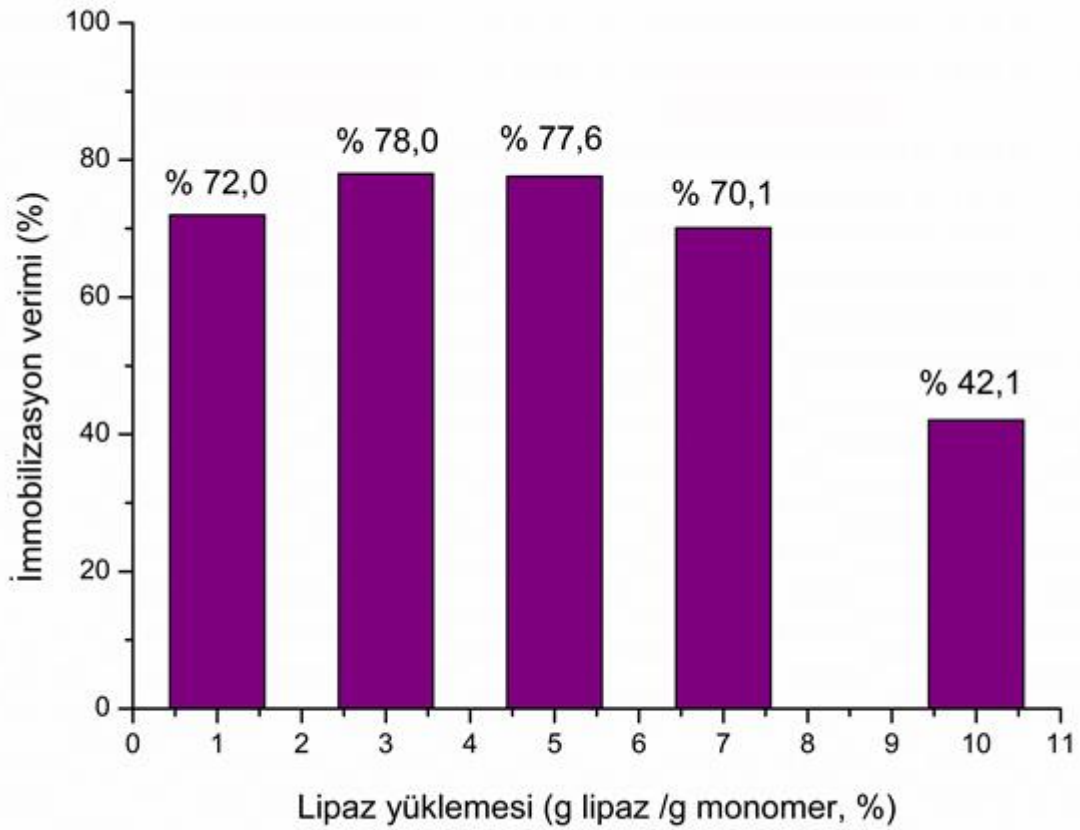
### **4.2.2.1 Aktivite Davranışı ve İmmobilizasyon Verimi**

Lipaz enzimi PAAm hidrojinlere farklı oranlarda (%1-%10 g lipaz /g monomer) immobilize edilmiştir. İmmobilize edilen enzim miktarına bağlı olarak, tutuklanan enzim aktivitesine ilişkin değerler Çizelge 4.6’da gösterilmiştir.

**Çizelge 4.6** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojjellerinin bağılı enzim aktiviteleri.

Enzim yüklemesi (g lipaz /g monomer, %)	Lipaz aktivitesi (Umg <sup>-1</sup> taşıyıcı)	Bağılı enzim aktivitesi (Umg <sup>-1</sup> taşıyıcı)
1,0	40	28,8
3,0	120	93,6
5,0	200	155,2
7,0	280	196,4
10,0	400	168,6

Çizelge 4.6'dan yola çıkarak; lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojjelleri için hesaplanan immobilizasyon verimleri Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.12** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojjellerinin immobilizasyon verimi.

Şekil 4.12 incelendiğinde; lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojjellerin çoğunda yüksek derecede immobilizasyon verimi elde edildiği görülmüştür. Şekil 4.12'de gösterilen % 1,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile elde edilmiş hidrojjelin immobilizasyon verimi % 72,0 iken, % 3,0 g lipaz /g monomer ve % 5,0 g lipaz /g



monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş hidrojellerin immobilizasyon verimleri yaklaşık % 78,0'dir. Çizelge 4.6'dan ve Şekil 4.12'den yararlanarak bu iki hidrojel karşılaştırıldığında; hidrojele immobilize edilen lipaz miktarı arttıkça yüklenen lipaz başına immobilize olan (bağlı) lipaz aktivitesinin arttığı ve buna bağlı olarak da immobilizasyon veriminin arttığı görülmüştür.

Bağlı enzim aktivitesi, hidrojel yüzeyi ile enzim arasındaki temas artışı ile ilişkilidir. % 3,0 g lipaz /g monomer ve % 5,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellerin SEM analizinde (Şekil 4.10), por boyutunda belirgin bir artışın gözlemlendiği saptanmıştır. Hidrojellerin por boyutundaki bu artışın enzimin yüzeye uygunluğunu arttırarak, bağlanma yüzdesini de arttırdığı öngörülmektedir. İmmobilizasyon veriminin % 3,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojelde en yüksek düzeyde görülmesi bu öngörüğü destekler niteliktedir.

% 3,0 g lipaz /g monomer'den sonraki yüklemelerde (% 5,0, 7,0, 10,0 g lipaz /g monomer) ise immobilizasyon verimleri sırasıyla % 77,6, 70,1, 42,1 olduğu görülmüştür. % 3,0 ve 5,0 g lipaz /g monomer yüklenen hidrojellerin immobilizasyon verimi birbirine çok yakın ve maksimum miktarda olduğu için bu yükleme miktarları immobilizasyon verimi açısından optimum yükleme miktarları olarak tespit edilmiştir. % 7,0 ve 10,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinde ise sadece bağlı enzim aktivitelerinde değil aynı zamanda immobilizasyon verimlerinde de düşüş gözlenmiştir.

Bu sonuç; % 10,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojelde yoğun porlu yapının bulunmamasının (Şekil 4.10), immobilizasyon imkanını kısıtlamış olabileceği ve dolayısıyla enzim aktivitesi azalarak immobilizasyon veriminin düşmesine neden olabileceği düşünülmüştür.

Ayrıca literatürde yer alan bir çalışmada, PAAm hidrojellerine tutuklama yöntemi ile glukosidaz enzimi immobilize edilmiştir. Bu çalışmada % 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0 oranlarında hazırlanan PAAm hidrojellerinin immobilizasyon verimleri sırasıyla % 6,98, 18,88, 35,34, 44,67 ve 35,98 olarak verilmiştir. Sunulan bu çalışma, literatürde yer alan diğer çalışmalara kıyasla daha iyi bir immobilizasyon verimi sağlamıştır.

Sonuç olarak; optimum yükleme miktarına kadar, bağlı enzim aktivitesinin artan bir davranış sergilemesi, PAAm hidrojellerinin lipaz immobilizasyon kapasitesini

göstermektedir. PAAm hidrojellerine % 3,0 g lipaz /g monomer ve % 5,0 g lipaz /g monomer yüklemesi, immobilizasyon verimi açısından en uygun aralık olarak belirlenmiştir. Bu aralıkta düşük lipaz yüklemesi gerçekleştirilmesine rağmen, %10.0 g lipaz /g monomer yüklü hidrojele kıyasla bağlı lipaz etkinliğinin neredeyse 2 kat fazla olduğu görülmüştür.

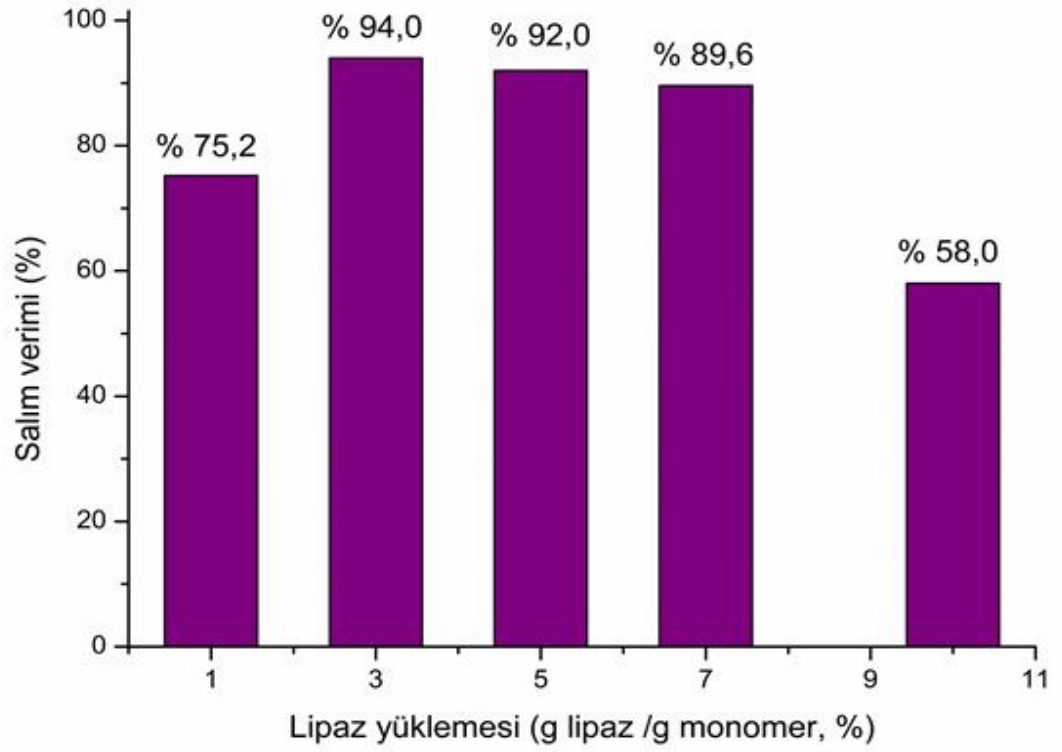
#### 4.2.2.2 Salım Davranışı ve Salım Verimi

Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin salım davranışı, farklı oranlarda lipaz yüklenmiş hidrojellerin denge şişme değerine kadar şişme çözeltisinde bırakıldıktan sonra, çözeltiliye geçmiş olan lipaz miktarının tayini ile tespit edilmiştir. Çizelge 4.7’de hidrojellerin salım davranışları gösterilmiştir.

**Çizelge 4.7** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin salım davranışı.

Enzim yüklemesi (g lipaz /g monomer, %)	Lipaz aktivitesi (Umg <sup>-1</sup> taşıyıcı)	Bağlı enzim aktivitesi (Umg <sup>-1</sup> taşıyıcı)	Şişme çözeltisinin lipaz aktivitesi (UmL <sup>-1</sup> )
1,0	40	28,8	21,6
3,0	120	93,6	87,9
5,0	200	155,2	143,0
7,0	280	196,4	174,8
10,0	400	168,6	97,79

Çizelge 4.7’den yararlanarak lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojelleri için hesaplanan salım verimleri Şekil 4.13’te gösterilmiştir.

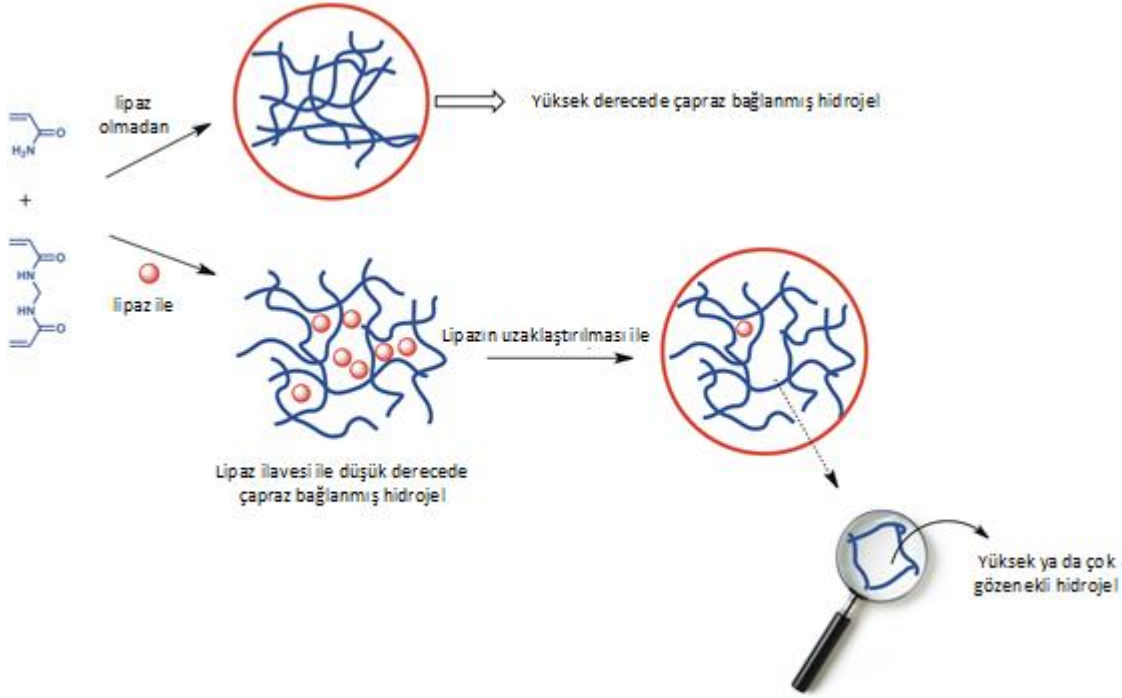


**Şekil 4.13** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin salım verimi.

Şekil 4.13 incelendiğinde; lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin çoğunda yüksek derecede salım verimi elde edildiği görülmüştür. Şekil 4.13'te gösterilen % 1,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş hidrojel immobilizasyon verimi % 75,2 iken, % 3,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş hidrojel immobilizasyon verimi % 94,0'tür. Çizelge 4,7'den ve Şekil 4.13'ten yararlanarak bu iki hidrojel karşılaştırıldığında; hidrojellere immobilize edilen lipaz miktarı arttıkça, bağlı lipaz miktarı başına çözültüye salınan lipaz miktarının arttığı ve dolayısıyla buna bağlı olarak da salım veriminin arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuç, lipaz immobilizasyonu esnasında, enzimin hidrojel yapısına bağlanması ile ekstra boşluklu bir yapı oluşması ve salım esnasında da bağlı lipazın dışarıya daha kolay difüze olması ile açıklanabilir.

% 3,0 g lipaz /g monomer'den sonraki yüklemelerde (% 5,0, 7,0, 10,0 g lipaz /g monomer) ise salım verimleri sırasıyla % 92,0, 89,6, 58,0 olduğu görülmüştür. % 3,0, 5,0 ve 7,0 g lipaz /g monomer yüklenen hidrojellerin salım verimleri birbirine çok yakın ve maksimum miktarda olduğu için bu yükleme miktarları salım verimi açısından optimum yükleme miktarları olarak belirlenmiştir. Optimum miktarda lipaz

immobilize edilerek hidrojenlerin por boyutunda sağlanan artış (Şekil 4.10), yüklü enzimin hidrojenin ağ yapısından dışarı salımına ve su moleküllerinin ağ yapısına daha kolay difüzyonuna katkı sağlamasından dolayı, hidrojenin adsorpsiyon ve desorpsiyon özelliklerinin geliştiği belirlenmiştir. Optimum miktarda lipaz immobilize edilerek hazırlanan bu hidrojenler Şekil 4.14'te şematik olarak gösterilmiştir.



**Şekil 4.14** Lipaz immobilize edilmiş ve lipaz salımı gerçekleşmiş hidrojen.

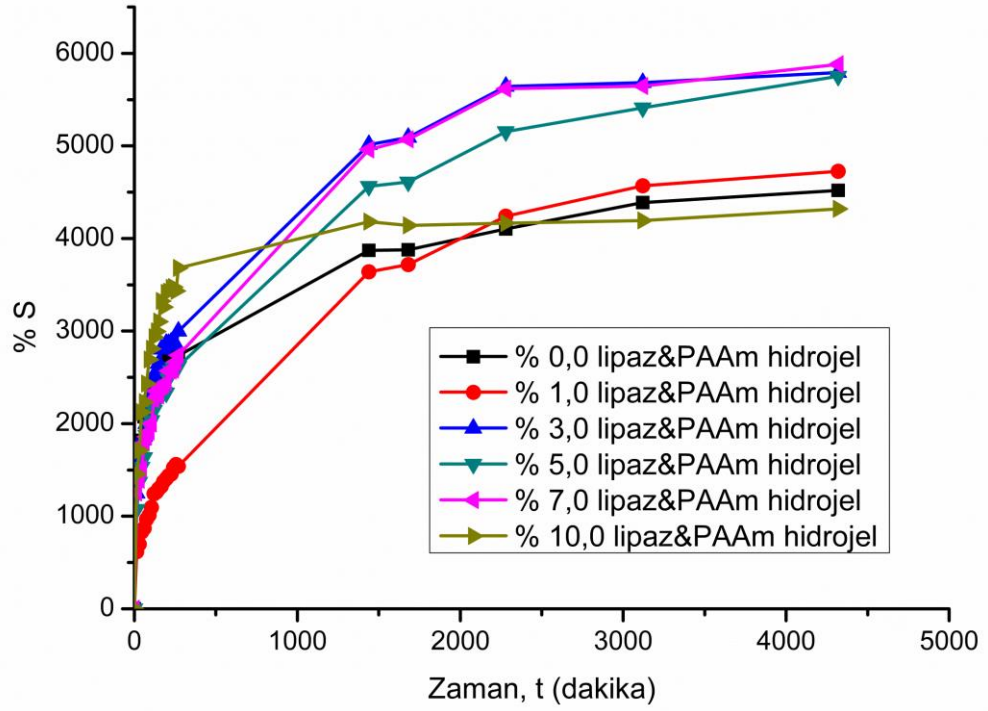
% 10,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş hidrojenin salım verimi % 58,0 ile en düşük verim olarak belirlenmiştir. Yine bu sonuç; enzimin aşırı yüklenmesi ile hidrojenelde porların oluşamaması ve buna bağlı olarak lipaz enziminin por yetersizliğinden dolayı salımının zorlaşması şeklinde açıklanabilir.

### 4.2.3 Lipaz İmmobilize Edilmiş Akrilamit Bazlı Hidrojenlerin Şişme Davranışlarının İncelenmesi

#### 4.2.3.1 Lipaz İmmobilize Edilmiş Akrilamit Bazlı Hidrojenlerin Dinamik Şişme Davranışı

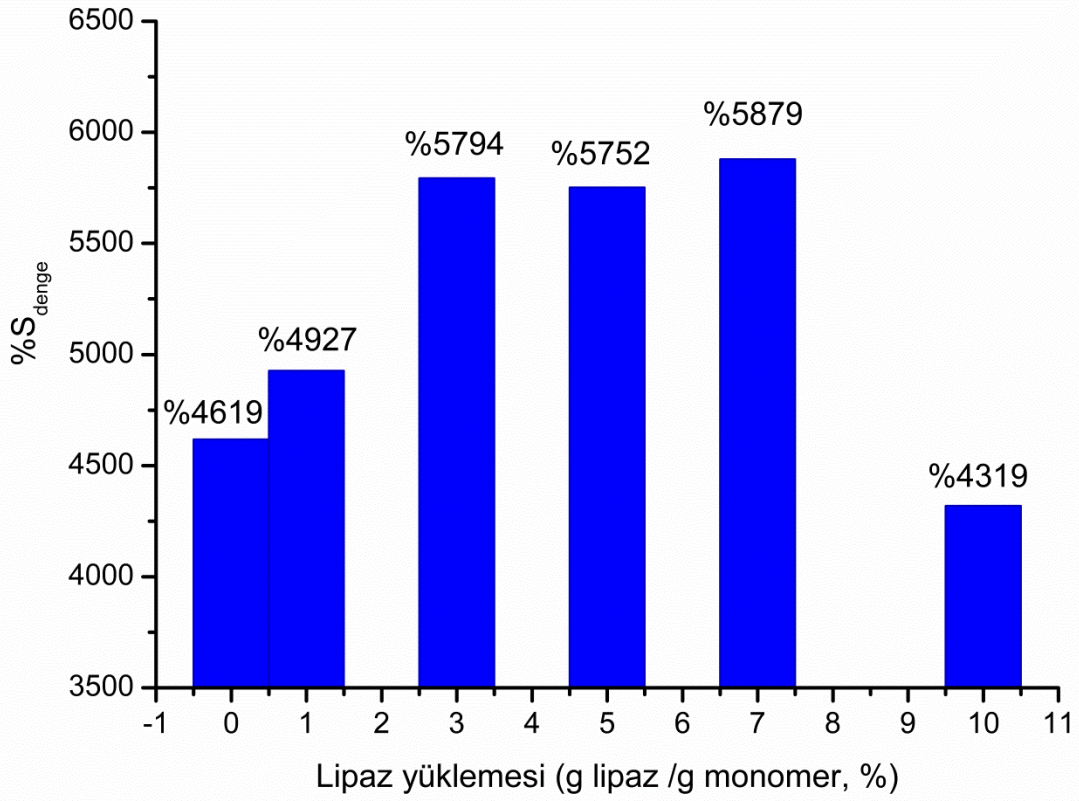
Tutuklama yöntemi ile lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojenlerinin şişme davranışı 25°C'de deiyonize su kullanılarak incelenmiş ve değişen oranlarda (% 1,0 g lipaz /g monomer - % 10,0 g lipaz /g monomer ) immobilize edilmiş lipazın

hidrojellerin şişme oranına etkisi araştırılmıştır. Şişme deneyleri denge durumuna erişinceye kadar sürdürülmüş ve değişik oranlarda lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin dinamik şişme davranışı Şekil 4.15'te gösterilmiştir.



**Şekil 4.15** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin dinamik şişme davranışı.

Yine Şekil 4.15 incelendiğinde; tutuklama yöntemi ile lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin şişme oranları 4320 dk içinde dengeye geldiği ve sonraki günlerde şişme oranlarında belli bir artış olmadığı belirlenmiştir. Bu hidrojellerin 4320 dk içindeki denge şişme oranları Şekil 4.16'da verilmiştir.



**Şekil 4.16** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojelilerinin 4320 dakikadaki denge şişme oranları.

Şekil 4.16 incelendiğinde, lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin denge şişme oranı, % 4619 iken, % 1,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojelinin denge şişme oranı % 4927 olduğu görülmektedir. Lipaz yüklemesi arttırıldığında ise; % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojellerinin denge şişme oranları, yaklaşık olarak % 5800 olarak belirlenmiştir. Modifiye edilmemiş PAAm hidrojeline kıyasla, lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin denge şişme oranlarında  $\approx$  % 1181'lik bir artış olduğu belirlenmiştir. Bu sonucun por sayısı ve boyutu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Hidrojellerin yüzey morfolojileri incelendiğinde (Şekil 4.10) lipaz ilavesi ile hidrojellerin por sayısı ve boyutunun arttığı görülmüştür. % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojellerde por sayısı ve boyutunun artması, sıvı absorplama kapasitesinde artışa neden olduğunu açıkça sergilemektedir. Böylece modifikasyon işleminin denge şişme oranları üzerine de önemli derecede etkisi olduğu saptanmıştır.

% 10,0 g lipaz /g monomer yüklenmiş PAAm hidrojelinin denge şişme oranı, % 4319 ile tüm hidrojellerin gerisinde kaldığı belirlenmiştir. Bu sonucun, aşırı miktarda lipaz yüklenmesinin PAAm hidrojelde çapraz bağlanmayı fazlasıyla azaltması ve böylece porlu yapının oluşumunun engellenmesi (Şekil 4.10) ile hidrojel denge şişme oranında ciddi bir azalma olduğu düşünülmüştür.

Şekil 4.16 incelendiğinde; iyi bir modifikasyonun gerçekleşmesi için en fazla denge şişme oranına ulaşan % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz/g monomer yüklemesi, optimum lipaz yükleme miktarı olarak belirlenmiştir.

#### **4.2.3.2 Lipaz İmmobilize Edilmiş Akrilamit Bazlı Hidrojellerin Şişme Kinetik Mekanizması**

Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin şişme kinetik mekanizması; hidrojellerin karakterizasyon, immobilizasyon verimi, salım verimi ve dinamik şişme davranışları göz önüne alınarak belirlenen optimum lipaz yükleme miktarı ile modifiye edilmiş örnekler ve lipaz immobilize edilmemiş örnek kullanılarak incelenmiştir. Bir başka deyişle; bütün bölümlerde optimum yükleme miktarı olarak belirlenen % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş hidrojeller ve lipaz yüklemesi yapılmadan, saf olarak elde edilmiş hidrojel için şişme kinetik mekanizması araştırılmıştır.

#### **Güç Kanunu Modeli**

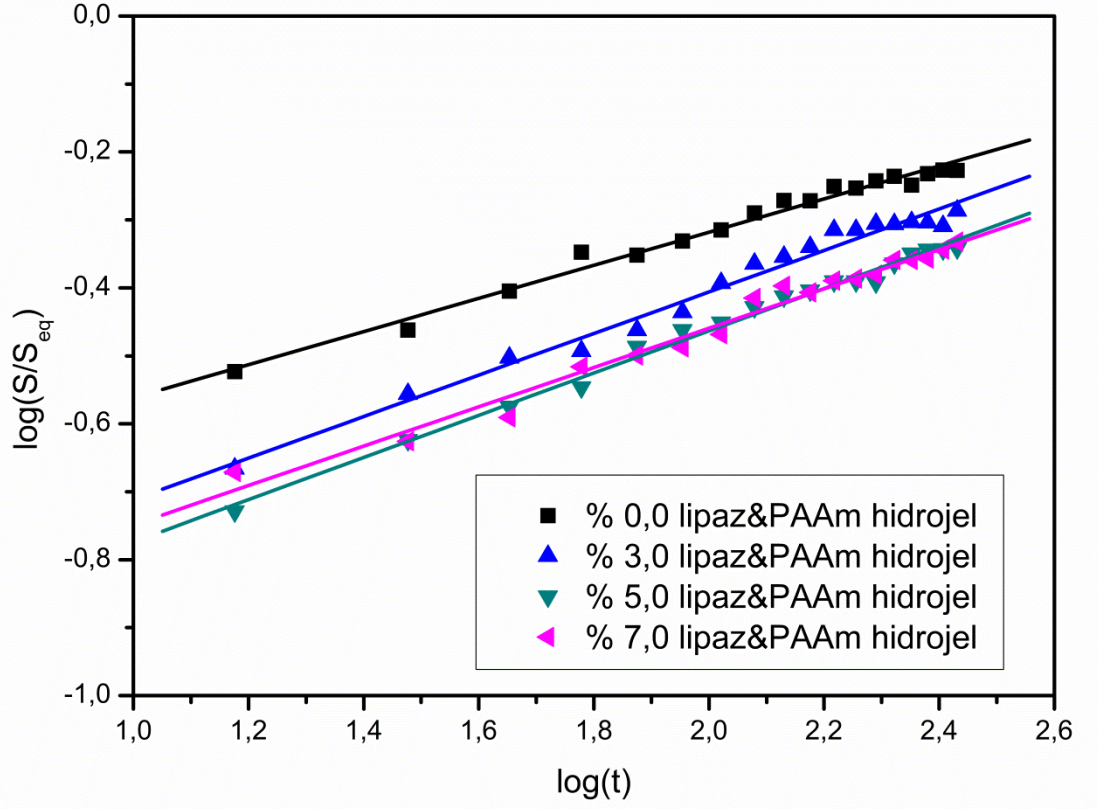
Farklı yöntemler ile kurutulmuş akrilamit bazlı hidrojeller için güç kanunu modelini açıklarken de belirttiğimiz gibi; Perpas (1985) tarafından tanımlanan güç kanunu modeli, bir polimerin şişmesinin zamana bağlılığını tanımlayan en etkili yöntemlerden biridir. Difüzyon ve gevşemenin birbirine göre önemini belirten taşınım mekanizması, güç kanunu modeli ile saptanmaktadır. Fakat bu modelin  $S/S_{eq} = 0,60$  üzerinde kesin bir analiz sonucu vermekte başarısız olduğu bilinmektedir (Bartil ve diğ, 2007). Bunun ışığında modelin optimum miktarda lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellere ve lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojele etkili bir şekilde uygulanabilmesi için Çizelge 4.8'den yararlanılmıştır.

**Çizelge 4.8** Lipaz immobilize edilmiş PAAM hidrojellerinin  $S/S_{eq}$  oranının zamanla değişimi.

t (dakika)	$S/S_{eq}$ (% 0,0 lipaz&PAAM hidrojel)	$S/S_{eq}$ (%3,0 lipaz&PAAM hidrojel)	$S/S_{eq}$ (% 5,0 lipaz&PAAM hidrojel)	$S/S_{eq}$ (% 7,0 lipaz&PAAM hidrojel)
0	0	0	0	0
60	0,4494	0,3213	0,2840	0,3046
120	0,5133	0,4320	0,3727	0,3846
180	0,5584	0,4841	0,4071	0,4105
240	0,5861	0,4970	0,4533	0,4393
270	0,5925	0,5117	0,4551	0,5655
1440	0,8383	0,8652	0,7933	0,8434
1680	0,8395	0,8789	0,8017	0,8624
2280	0,8882	0,9737	0,8963	0,9552
3120	0,9497	0,9807	0,9407	0,9600
4320	1	1	1	1

Çizelge 4.8 incelendiğinde; 270 dakikada lipaz immobilize edilmemiş PAAM hidrojelinin  $S/S_{eq}$  oranı, 0,5925 iken; % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAM hidrojellerinin  $S/S_{eq}$  oranları, sırasıyla 0,5117, 0,4551, 0,5655 olduğu görülmüştür. Dolayısıyla tüm hidrojeller için de ortak zaman aralığı 0-270 dakika olarak belirlenmiştir. Bu aralık dikkate alınarak tutuklama yöntemi ile lipaz immobilize edilmiş PAAM hidrojelleri için güç kanunu modelinin uygulaması Şekil 4.17’de gösterilmiştir.





**Şekil 4.17** Güç kanunu modelinin lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (0-270 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).

Güç kanunu modeli uygulamalarında difüzyon üstelini (n) ve orantı sabitini (k) elde etmek mümkündür. Şekil 4.17'den yararlanarak yapılan hesaplanmalar doğrultusunda, tutuklama yöntemi ile lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojel için difüzyon üsteli (n), orantı sabiti (k) ve güç kanunu modelinin etkinliğinin ifadesi olan hata değeri Çizelge 4.9'da gösterilmiştir.

**Çizelge 4.9** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojel için güç kanunu modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.

Örnek	N	k	Hata
% 0,0 lipaz&PAAm hidrojel	0,2438	0,1564	0,02535
% 3,0 lipaz&PAAm hidrojel	0,3056	0,0961	0,03475
% 5,0 lipaz&PAAm hidrojel	0,3106	0,0832	0,02298
% 7,0 lipaz&PAAm hidrojel	0,2892	0,0916	0,03396

Çizelge 4.9 incelendiğinde; lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin difüzyon üsteli,  $n$ , 0,2438 iken; % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin difüzyon üsteli,  $n$ , sırasıyla 0,3056, 0,3106, 0,2892 olduğu görülmektedir. Bütün hidrojellerinde taşınım mekanizması Fick difüzyonu olarak tespit edilmiştir. Böylece su; tüm hidrojellerin ağ yapılarına kolayca nüfus etmektedir. Ayrıca lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş ve lipaz immobilize edilmemiş bütün örneklerin difüzyon üstelleri birbirine çok yakın değerler olduğu belirlenmiştir. Bu sonucun 0-270 dakika aralığında tüm hidrojellerin difüzyon hızlarının birbirine çok yakın olduğundan kaynaklandığı düşünülmüştür.

Farklı maddelerin adsorpsiyon ve desorpsiyon hızlarını karşılaştırmada kullanılan güç kanunu modelinin kullanımındaki zorluk;  $k$  değerinin  $n$  değerine bağlı olmasıdır. Bundan dolayı, yalnızca aynı  $n$  değerine sahip maddeler için direkt olarak  $k$  değerlerinin karşılaştırılması mümkündür (Çapan, 1993).

Bu bilgiden yola çıkarak tutuklama yöntemi ile lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerinin orantı sabitleri ( $k$ ) için herhangi bir değerlendirme yapılamamıştır.

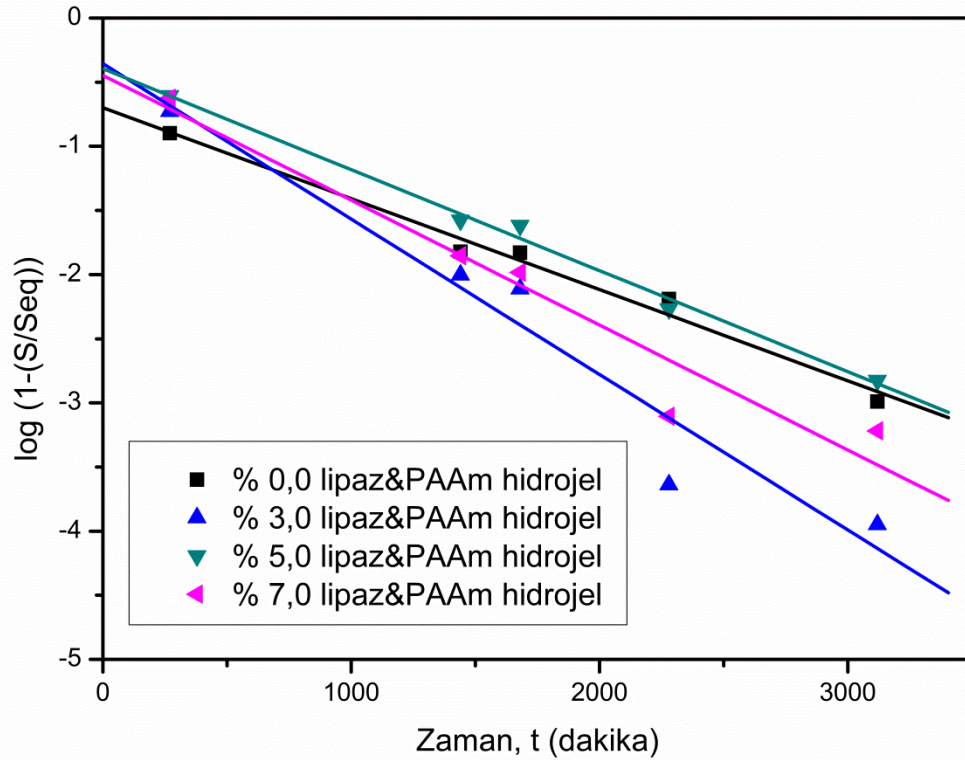
Çizelge 4.9'a göre lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin hata değeri, % 2,535 iken, % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin hata değerleri, sırasıyla % 3,475, 2,298 ve 3,396'dır. Hata değerinin bütün hidrojeller için ihmal edilecek kadar az olması, güç kanunu modelinin başarılı bir şekilde uygulandığının göstergesidir.

### **Voight Tabanlı Denklem Modeli**

Voight tabanlı denklem modeli;  $S/S_{eq}$  oranının % 60'ın ötesindeki kısım, yani güç kanunu modeli ile etkin bir şekilde tanımlanamayan kısım için daha başarılı bir analiz vermek adına geliştirilmiştir (Gudeman ve Peppas, 1995). Bunun ışığında modelin lipaz immobilizasyonu ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellere etkili bir şekilde uygulanabilmesi için bir önceki modelde yer alan Çizelge 4.8'den yararlanılmıştır.

Çizelge 4.8 incelendiğinde; 270 dakikada lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin  $S/S_{eq}$  oranı, 0,5925 iken; % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin  $S/S_{eq}$  oranları, sırasıyla 0,5117, 0,4551, 0,5655 olduğu görülmüştür. Dolayısıyla tüm hidrojeller için  $S/S_{eq}$  oranının % 60'ın

üzerinde olduğu ortak zaman aralığı 270-4320 dakika olarak belirlenmiştir. Bu aralık dikkate alınarak farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojelleri için Voight tabanlı denklem modelinin uygulaması Şekil 4.18’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.18** Voight tabanlı denklem modelinin lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (270- 4320 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).

Şekil 4.18’den yararlanarak yapılan hesaplanmalar doğrultusunda, lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojeller için çözücü penetrasyon hızı ( $\tau$ ) ve Voight tabanlı denklem modelinin etkinliğinin ifadesi olan hata değeri Çizelge 4.10’da gösterilmiştir.

**Çizelge 4.10** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojelleri için Voight tabanlı denklem modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.

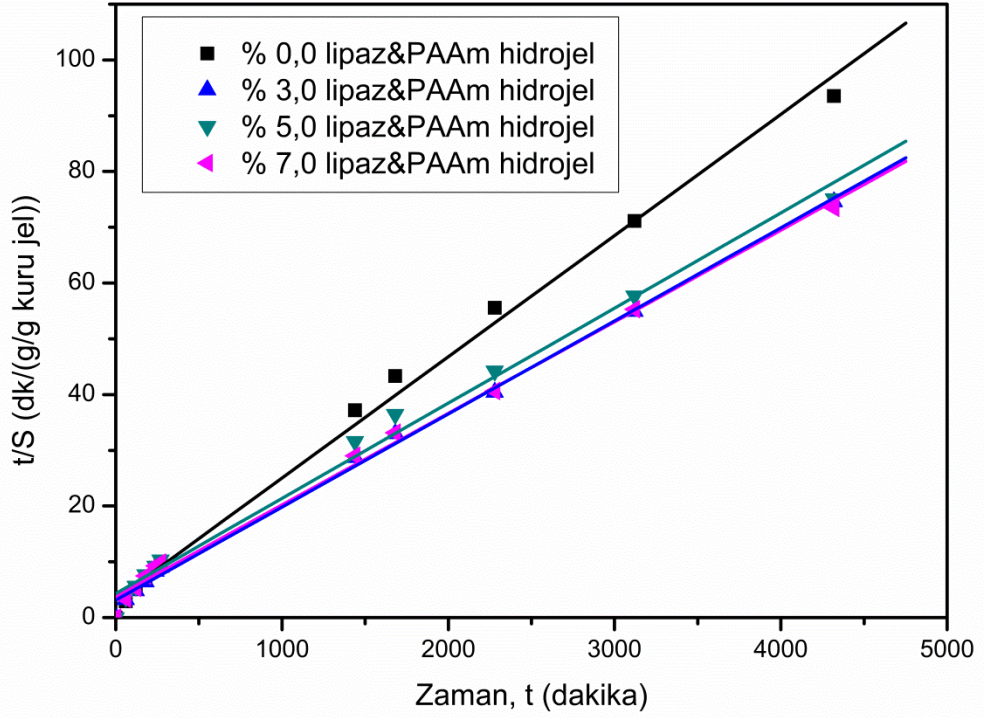
Örnek	$\tau$ (dakika)	Hata
% 0,0 lipaz&PAAm hidrojel	1447,65	0,01556
% 3,0 lipaz&PAAm hidrojel	886,32	13,9679
% 5,0 lipaz&PAAm hidrojel	1365,71	3,63757
% 7,0 lipaz&PAAm hidrojel	1113,58	6,53761

Çizelge 4.10 incelendiğinde; lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin çözücü penetrasyon hızı,  $\tau$ , 1447,65 iken; % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin penetrasyon hızı,  $\tau$ , sırasıyla 886,32, 1365,71, 1113,58 olduğu görülmektedir. Lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin çözücü penetrasyon hızı, lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerin çözücü penetrasyon hızlarından daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç; modifiye edilmemiş PAAm hidrojeline çözücünün daha kolay nüfus ettiğini göstermektedir. Fakat Şekil 4.16'da belirlenen denge şişme oranları çözücünün modifiye edilmiş PAAm hidrojellerine daha çok nüfus ettiğini göstermektedir. Bu çelişki, Çizelge 4.10' da gösterilen Voight tabanlı denklem modeli için hesaplanmış hata değerleri ile açıklanmaktadır.

Çizelge 4.10 incelendiğinde; lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin hata değeri, % 1,556 iken; % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin hata değerleri, sırasıyla % 1396,79, 363,757, 653,761 olduğu görülmektedir. Lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin hata değeri ihmal edilecek kadar azdır. Fakat lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojelleri için tam tersi durum mevcuttur. Bu hidrojellerin hata değerleri ihmal edilemeyecek kadar fazladır. Şekil 4.18 incelendiğinde; modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin şişme oranları göz önüne alınarak model için hesaplanan verilerinin doğrusal olmadıkları görülmüştür. Dolayısıyla Voight tabanlı denklem modeli için bu verilere göre belirlenen eğim çizgisi denklemleri, modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinde hatalı analize neden olmuştur. Böylece; 270-4320 dakika'da lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin şişme oranlarının Voight tabanlı denklem modeline uygun olmadığı belirlenmiştir.

### **İkinci Mertebeden Şişme Kinetiği Modeli**

Bu model; şişme davranışında başlangıç anından denge anına kadar tüm zaman aralıklarını etkin bir şekilde analiz edebildiğinden, lipaz yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinde zaman aralığı 0-4320 dakika olarak kullanılmıştır. Belirtilen süre dikkate alınarak lipaz yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojeller için ikinci mertebeden şişme kinetiği modelinin uygulaması Şekil 4.19'da gösterilmiştir.



**Şekil 4.19** İkinci mertebeden şişme kinetiği modelinin lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (0-4320 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).

İkinci mertebeden şişme kinetiği modeli; hidrojelin başlangıç anındaki şişme oranının  $((dS / dt)_0)$  ve hidrojelin modele göre hesaplanan denge anındaki şişme değerinin ( $S_{maksimum}$ ) hesaplanmasında kullanılmaktadır. Şekil 4.19'dan yararlanarak yapılan hesaplanmalar doğrultusunda, lipaz yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojelleri için başlangıç anında şişme oranı  $((dS / dt)_0)$ , denge anında şişme değeri ( $S_{maksimum}$ ) ve ikinci mertebeden şişme kinetiği modelinin etkinliğinin ifadesi olan hata değeri Çizelge 4.11'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.11** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojel için ikinci mertebeden şişme kinetiği modeli ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.

Örnek	$S_{eq(deneysel)}$	$S_{maksimum}$	Hata	$(dS / dt)_0$
% 0,0 lipaz&PAAm hidrojel	46,19	46,51	0,00693	0,2524
% 3,0 lipaz&PAAm hidrojel	57,94	60,61	0,04597	0,2674
% 5,0 lipaz&PAAm hidrojel	57,52	59,52	0,03491	0,1938
% 7,0 lipaz&PAAm hidrojel	58,79	61,73	0,04991	0,2214

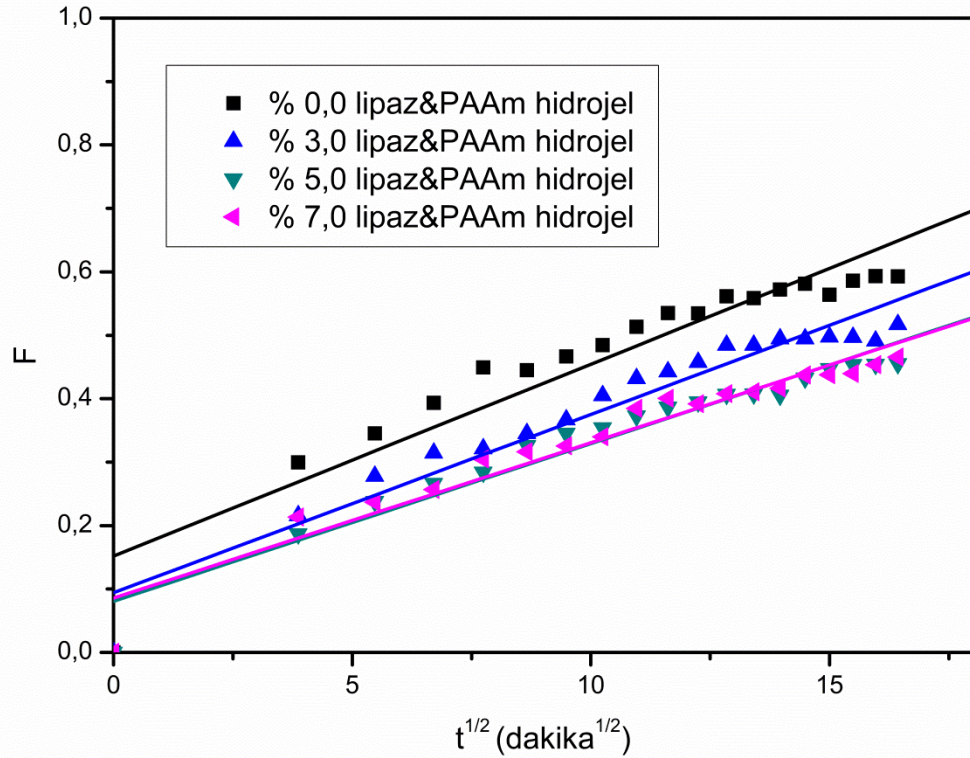
Çizelge 4.11 incelendiğinde; lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin başlangıç anında şişme oranı,  $(dS / dt)_0 = 0,2524$  iken; % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin başlangıç anında şişme oranları, sırasıyla  $(dS / dt)_0 = 0,2674, 0,1938, 0,2214$  olduğu saptanmıştır. Lipaz yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojel için ikinci mertebeden şişme kinetiği modeli ile belirlenen bu değerleri birbirine çok yakın olduğu belirlenmiştir. Az bir fark ile ; % 3,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojel başlangıç anında şişme oranının daha yüksek olduğu, % 5,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojel başlangıç anında şişme oranı ise tüm hidrojellerin gerisinde olduğu saptanmıştır. Bu iki hidrojel kıyaslandığında, başlangıç anında % 3,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojelinde gerçekleşen şişme olayının, 5,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojelinde gerçekleşen şişme olayından  $\approx 1,34$  kat daha hızlı olduğu görülmüştür. Bütün hidrojel için bu değerlerin birbirine çok yakın olması, PAAm hidrojellerine lipaz yüklemesi ile modifiye etme işleminin başlangıç anında şişme oranına fazla etki etmediğini göstermiştir.

İkinci mertebeden şişme kinetiği modeli ile hesaplanan denge şişme değerleri ( $S_{maksimum}$ ); lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojel için 46,51 iken, % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojel için sırasıyla 60,61, 59,52, 61,73'tür. Deneysel olarak ölçülen denge şişme değerleri ( $S_{eq(deneysel)}$ ) ile bu model uygulanarak hesaplanan denge şişme değerlerinin ( $S_{maksimum}$ ) karşılaştırılması sonucu belirlenen hata değerleri bu modelin başarısının

göstergesidir. Çizelge 4.11'e göre lipaz immobilize edilmemiş PAAm hidrojelinin hata değeri, % 0,693 iken, % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin hata değeri, sırasıyla % 4,597, 3,491, 4,991'dir. Hata değerlerinin tüm hidrojeller için ihmal edilecek kadar az olması, ikinci mertebeden şişme kinetiği modelinin başarılı bir şekilde uygulandığının göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

### Kısa Zamanlı Yaklaşım Metodu

Hidrojel karakterizasyonu için, difüzyon katsayısının ( $D$ ) hesaplanmasında kısa zamanlı yaklaşım metodu kullanılmaktadır. Bu metodun lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerindeki uygulaması Şekil 4.20'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.20** Kısa zamanlı yaklaşım metodunun lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerdeki uygulaması (0-270 dakika ve 25°C çalışma sıcaklığı).

Şekil 4.20'den yararlanarak yapılan hesaplanmalar doğrultusunda, modifiye edilmiş PAAm hidrojelleri için difüzyon katsayısı ( $D$ ) Çizelge 4.12'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.12** Lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojeller için kısa zamanlı yaklaşım metodu ile hesaplanan şişme kinetik parametreleri.

<b>Örnek</b>	<b><math>D</math> (<math>10^{-5}</math> cm<sup>2</sup> /dakika)</b>
% 0,0 lipaz&PAAm hidrojel	11,461
% 3,0 lipaz&PAAm hidrojel	12,558
% 5,0 lipaz&PAAm hidrojel	7,729
% 7,0 lipaz&PAAm hidrojel	7,543

Çizelge 4.12 incelendiğinde; bütün hidrojellerin difüzyon katsayılarının ( $D$ ) birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Bu metodun lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş ve modifiye edilmemiş hidrojeller için etkin kullanım aralığı 0-270 dakika arasındır. Bu zaman aralığı için Şekil 4.15 incelendiğinde; % 0,0, 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklenmiş hidrojellerin şişme oranlarının yaklaşık olarak eşit olduğu belirlenmiştir. Hidrojellerin difüzyon katsayılarının birbirine çok yakın olmasının nedeni, 0-270 dakika arasında şişme oranlarının yaklaşık olarak eşit olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.



## 5. SONUÇLAR

- 1) İlk aşamada poliakrilamit hidrojel, amonyum persülfat(APS)/sodyum metabisülfid (SMBS) redoks başlatıcı çifti ve N,N'-metilenbisakrilamit (MBAAm) çapraz bağlayıcı kullanılarak serbest radikalleşme polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Sentezlenen poliakrilamit hidrojel farklı kurutma yöntemleri ile kurutulmuş; jellerin yüzey morfolojisi, dinamik ve kinetik şişme davranışları incelenmiştir.
- 2) Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin SEM görüntülerinde; freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelde 200-300 mikrometre boyutunda açık gözenekler belirlenirken, kötü çözücü yöntemiyle kurutulmuş PAAm hidrojelde porlu yapıya rastlanılmamıştır. Bu sonuç ile kötü çözücü yöntemine kıyasla freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş hidrojelde por miktarı ve boyutunun fazlasıyla arttığı belirlenmiştir.
- 3) Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin dinamik şişme oranlarında; kötü çözücü yöntemine kıyasla freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin  $\approx$  % 1854 daha fazla su adsorpladığı belirlenmiştir. Bu sonuç; hidrojellerde por sayısı ve boyutunun artması ile sıvı adsorplama kapasitesinin de arttığını göstermiştir. Ayrıca literatüre kıyasla, freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş hidrojel şişme oranının diğer yöntemlerden çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
- 4) Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojelleri için şişme kinetik mekanizması incelenmiştir ve bu hidrojel için kinetik parametreler belirlenmiştir.
- 5) Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin kinetik şişme mekanizması incelenirken uygulanan güç kanunu modeli ile her iki hidrojelinde taşınım mekanizması Fick difüzyonu olarak tespit edilmiştir. Böylece suyun her iki hidrojel ağ yapısına kolayca nüfus ettiği belirlenmiştir. Ayrıca literatürde yer alan çalışmalarda hidrojellerin taşınım mekanizmasının fick olmayan difüzyon mekanizması olmasından dolayı, sunulan bu çalışmadaki hidrojel literatüre üstünlük sağlamıştır. Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm

hidrojellerinin güç kanunu modeli uygulamasında belirlenen hata değerlerin ihmal edilecek kadar az olması ( $\approx$  %2-4), bu modelin etkili bir şekilde uygulandığını göstermiştir.

- 6) Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin kinetik şişme mekanizması incelenirken uygulanan Voight tabanlı denklem modeli ile hidrojellerin çözücü penetrasyon hızları ( $\tau$ ) belirlenmiştir ve belirlenen bu oranlar ile çözücünün freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojeline, kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinde  $\approx$  1,35 kat daha kolay nüfus ettiği görülmüştür. Ayrıca farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin Voight tabanlı denklem modeli uygulamasında belirlenen hata değerlerin ihmal edilecek kadar az olması ( $\approx$  % 1-5), bu modelin etkili bir şekilde uygulandığını göstermiştir.
- 7) Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin kinetik şişme mekanizması incelenirken uygulanan ikinci mertebeden şişme kinetiği modeli ile hidrojellerin başlangıç anında şişme oranları ve denge anında şişme oranları belirlenmiştir. Başlangıç anında freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinde gerçekleşen şişme olayının, kötü çözücü yöntemiyle kurutulmuş PAAm hidrojelinde gerçekleşen şişme olayından  $\approx$  1,62 kat daha hızlı olduğu görülmüştür. Ayrıca model ile belirlenen denge şişme oranının ( $S_{maksimum}$ ) deneysel olarak ölçülen denge şişme oranına ( $S_{eq(deneysel)}$ ) çok yakın olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç modelin etkili bir şekilde (hata % 0,6-2,5) uygulandığını göstermiştir.
- 8) Farklı yöntemler ile kurutulmuş PAAm hidrojellerinin kinetik şişme mekanizması incelenirken uygulanan kısa zamanlı yaklaşım metodu ile hidrojellerin difüzyon katsayıları ( $D$ ) belirlenmiştir. Kötü çözücü yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin difüzyon katsayısı,  $D = 4,5603 \text{ cm}^2 / \text{dakika}$  iken; freeze dryer ile kurutulmuş PAAm hidrojelinin difüzyon katsayısı,  $D = 11,461 \text{ cm}^2 / \text{dakika}$  olduğu hesaplanmıştır. Freeze dryer yöntemi ile kurutulmuş PAAm hidrojelin difüzyon katsayısının, kötü çözücü yöntemiyle kurutulmuş PAAm hidrojelin difüzyon katsayısından  $\approx$  2,52 kat daha fazla olduğu görülmüştür.
- 9) İlk aşamada incelenen tüm kriterler dikkate alındığında; freeze dryer ile kurutma yönteminin, kötü çözücü ile kurutma yönteminden çok daha iyi bir yöntem olduğu belirlenmiştir ve tezin ikinci aşamasında hidrojellerin kurutulmasında freeze dryer ile kurutma yöntemi kullanılmıştır.

- 10) Sunulan tez çalışmasının ikinci aşamasında, ilk aşamada sentezlenen PAAm hidrojellere tutuklama yöntemi ile değişen oranlarda (% 0,0, 1,0, 3,0, 5,0, 7,0, 10,0 g lipaz/g monomer) lipaz immobilize edilmiştir ve bu hidrojellerin ısı, yapısal, yüzey morfolojileri, aktivite ve salım davranışları, dinamik ve kinetik şişme davranışları incelenmiştir.
- 11) Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm TGA termogramlarında, 400°C'den sonraki sıcaklıklarda, % 1,0 ve % 7,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojellerinin ısı bozunma yüzdelerinde yavaşlama olduğu ve lipaz yüklenmemiş PAAm hidrojele kıyasla kütle kaybının daha az olduğu gözlenmiştir. Bu yüksek ısı kararlılığın enzim ve PAAm ağ arasındaki etkileşimden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.
- 12) Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin XRD desenlerinde, modifiye edilmemiş PAAm hidrojelin  $2\theta=10-70^\circ$  arasında amorf yapı sergilediği belirlenmiştir. % 3,0 g lipaz /g monomer immobilize edilmiş PAAm hidrojelde ise  $2\theta = 28^\circ$ 'de belirgin bir kırınım piki saptanmıştır. Bu kristal pik, lipazın kristal ve/veya üç boyutlu kompleks yapısını temsil ettiği ve hidrojellerin polimerik yapısı içine bağlanan lipazın yapısındaki amino asitlerden kaynaklandığı düşünülmüştür.
- 13) Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin SEM görüntülerinde, modifiye edilmemiş PAAm hidrojeline kıyasla % 3,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojelinin por miktarı ve boyutunun arttığı belirlenmiştir. Özellikle % 7,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojelde, geniş gözeneklere ek olarak bu porlarda küçük ve çok miktarda alt-porlar gözlenmiştir. Bu sonuç, optimum miktarda lipaz yüklemesinin, hidrojelin hem por boyutunda hem de por miktarında artışa neden olduğunu göstermektedir.
- 14) Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin aktivite ve immobilizasyon verimlerinde, lipaz immobilize edilmiş PAAm hidrojellerin çoğunda yüksek derecede immobilizasyon verimi elde edildiği görülmüştür. % 3,0 g lipaz /g monomer ve % 5,0 g lipaz /g monomer yüklemesi ile modifiye edilmiş hidrojeller,  $\approx$  % 78 immobilizasyon verimleri ile immobilizasyon açısından optimum lipaz yüklemesi olarak belirlenmiştir.
- 15) % 3,0, 5,0 ve 7,0 g lipaz /g monomer yüklenen hidrojellerin salım verimleri birbirine çok yakın ve maksimum miktarda olduğu için bu yükleme miktarları salım verimi açısından optimum yükleme miktarları olarak belirlenmiştir.

Optimum miktarda lipaz immobilize edilerek hidrojellerin por boyutunda sağlanan artış, yüklü enzimin hidrojelin ağ yapısından dışarı salımına ve su moleküllerinin ağ yapı içerisine daha kolay difüzyonuna katkı sağlamasından dolayı, hidrojelin adsorpsiyon ve desorpsiyon özelliklerinin geliştiği belirlenmiştir.

- 16) Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin dinamik şişme oranlarında, modifiye edilmemiş PAAm hidrojeline kıyasla, lipaz immobilize edilmiş (% 3,0, 5,0 ve 7,0 g lipaz /g monomer) PAAm hidrojellerinin denge şişme oranlarının  $\approx$  % 1181'lik bir artış gösterdiği belirlenmiştir. % 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz/g monomer yüklenmiş PAAm hidrojellerde por sayısı ve boyutunun artması, sıvı absorplama kapasitesinde artışa neden olduğunu açıkça sergilemektedir. Böylece modifikasyon işleminin denge şişme oranları üzerine de önemli derecede etkisi olduğu saptanmıştır.
- 17) Optimum miktarda lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojelleri için şişme kinetik mekanizması incelenmiştir ve bu hidrojeller için kinetik parametreler belirlenmiştir.
- 18) Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin kinetik şişme mekanizması incelenirken uygulanan güç kanunu modeli ile bütün hidrojellerin taşınım mekanizması Fick difüzyonu olarak tespit edilmiştir. Böylece suyun her iki hidrojelin ağ yapısına kolayca nüfus ettiği belirlenmiştir Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin güç kanunu modeli uygulamasında belirlenen hata değerlerin ihmal edilecek kadar az olması ( $\approx$  %2-3,5), bu modelin etkili bir şekilde uygulandığını göstermiştir.
- 19) Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin kinetik şişme mekanizması incelenirken uygulanan Voight tabanlı denklem modeli ile hidrojellerin çözücü penetrasyon hızları ( $\tau$ ) belirlenmiştir. Fakat modifiye edilmiş hidrojellerin hata oranlarının fazlalığı (% 360-1400) nedeniyle bu modele uyum sağlamadığı saptanmıştır.
- 20) Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin kinetik şişme mekanizması incelenirken uygulanan ikinci mertebeden şişme kinetiği modeli ile hidrojellerin başlangıç anında şişme oranları ve denge anında şişme oranları belirlenmiştir. Model ile belirlenen denge şişme oranının ( $S_{maksimum}$ ) deneysel olarak ölçülen denge şişme oranına ( $S_{eq(deneysel)}$ ) çok yakın olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç modelin etkili bir şekilde (hata % 0,6-5) uygulandığını göstermiştir.

- 21)** Lipaz immobilize edilerek modifiye edilmiş PAAm hidrojellerinin kinetik şişme mekanizması incelenirken uygulanan kısa zamanlı yaklaşım metodu ile hidrojellerin difüzyon katsayıları ( $D$ ) belirlenmiştir. 270 dakikada ( metodun etkin kullanım alanı) % 0,0, 3,0, 5,0, 7,0 g lipaz /g monomer yüklenmiş hidrojellerin şişme oranlarının yaklaşık olarak eşit olmasından dolayı, hidrojellerin difüzyon katsayılarının da birbirine çok yakın olduğu saptanmıştır.
- 22)** İkinci aşamada incelenen tüm kriterler dikkate alındığında; modifikasyon ile hidrojellerin ısı, yapısal, yüzeysel özelliklerinin ve dinamik şişme davranışlarının geliştiği belirlenmiştir. Bu sonuç; optimum miktarda lipaz yüklemesi ile çapraz bağlı PAAm hidrojellerinin başarılı bir şekilde modifiye edildiğini göstermiştir.



## KAYNAKLAR

- Aehle, W.**, 2004: Enzymes in Industry Production and Applications, Wiley, Weinheim.
- Almdal, K., Dyre, J., Hvid, S., Kramer, O.**, 1993: What is a gel?, Makromol. Chem. Macromol. Symp., 76:49–51.
- Akay, P., Omay, D.**, 2014: Synthesis and characterization of chitosan&aminoacid superabsorbent hydrogels, International Polymer Processing, 29: 287-294.
- Akçakaya, İ.**, 2005: İyonik poli(N,N dimetilakrilamit-ko-akrilamit) hidrojellerinin sentezi ve şişme davranışları , Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3-5, 13-17.
- Akoh, C.C., Min, D.B.**, 1998: Microbial Lipases and Enzymatic Interesterification, Food Lipids-Chemistry, Nutrition and Biotechnology, Marel Deccer, Inc., 641- 698.
- Alvarez-lorenzo, C., Concheiro, A.**, 2002: Reversible adsorption by a pH and temperature-sensitive acrylic hydrogel, Journal of Controlled Release, 80: 247-257.
- Arı, A.**, 1998: Sıcaklık ve pH duyarlı poli(vinil eter) hidrojellerinin sentezi ve biyolojik karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4-12, 19-22.
- Bag, D.S., Alam, S., Mathur, G.N.**, 2004: Terpolymer smart gels: synthesis and characterizations, Smart Mater. Struct., 13: 1258-1262.
- Bajpai, A.K., Shukla, S.K., Bhanu, S., Kankane, S.**, 2008: Responsive polymers in controlled drug delivery, Prog. Polym. Sci., 33: 1088-1118.
- Balcao V.M., Malcata F.X.**, 1998: Lipase catalyzed modification of milkfat, Biotechnology advances, 16: 309-341.
- Bartil, T., Bounekhel, M., Cedric, C., Jerome. R.**, 2007: Swelling behavior and release properties of pH-sensitive hydrogels based on methacrylic derivatives, Acta Pharm, 57:301-314.
- Basan, S.**, 2001: Polimer kimyası, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, Sivas, 60-128.
- Betigeri, S.S., Neau, S.H.**, 2002: Immobilization of lipase using hydrophilic polymer in the form of hydrogel beads, Biomaterials, 23: 3627-3636.
- Brazel, C.S., Peppas, N.A.**, 1999: Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers , Polymer, 40: 3383-3398.
- Brazel, C.S., Peppas, N.A.**, 2000: Modelling of drug release from swellable polymers, Europ. J. Pharm. Biopharm., 49:47-58.
- Brown, H.R.**, 2007: A model of the fracture of double network gels, Macromolecules, 40:3815–3818.
- Boztepe, C.**, 2010: Çapraz bağlı anyonik poliakrilamit hidrojellerinin sentezi, karakterizasyonu ve boyar madde ile etkileşimlerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 17.
- Calvert, P.**, 2009: Hydrogels for soft machines, Adv. Mater., 21:743–756.

- Chaplin, M.F., Bucke, C.,** 1990: Enzyme Technology, Cambridge University Press, Cambridge.
- Chmelir, M., Dahmen, K., Hoffman, G., Werner, G.,** 1983: Absorbents for blood and serous body fluids , Chemical Abstract, 98: 11379r, 391.
- Cohen, Y., Ramon, O., Kopelman, I.J., Mizrahi, S.,** 1992: Characterization of inhomogeneous polyacrylamide hydrogels, Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 30: 1055–1067.
- Coşkun, G.,** 2007: Glutatiyon-s-transferaz enziminin farklı taşıyıcılarda immobilizasyonu ve bazı özelliklerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 21.
- Çapan, Y.,** 1993: Sürekli salım sağlayan tabletlerin özellikleri ve değerlendirilmesi, FABAD Farm. Bil. Der., 18:27-39.
- Çiçek, H.,** 1998: Poliakrilat bazlı hidrojel matrislerin sentezi ve enzim immobilizasyonunda kullanımı , Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 26-30.
- De, S.K., Aluru, N.R., Johnson, B., Crone, W.C., Beebe, D.J., Moore, J.,** 2002: Equilibrium swelling and kinetics of pH responsive hydrogels: models experiments, and simulations, J. Microelectromechanical Syst, 11: 544-555.
- Demirkol, N.,** 2006: Kitosan-poliakrilamit-polisitrakonik asit içeren yarı-IPN tipi hidrojellerin şişme özellikleri ve lipaz salım davranışları, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 36-37.
- Drury, J.L., Mooney, D.J.,** 2003: Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications, Biomaterials, 24: 4337–4351.
- Dumitriu, S., Popa, M., Dumitriu, M.,** 1988: “Polymeric biomaterials as enzyme and drug carriers” , J. Bioact. Compat. Pol., 3: 243-312.
- Duran, S.,** 2000: Synthesis and characterization of acrylamide-acrylic acid hydrogels and adsorption of some textile dyes , Yüksek Lisans Tezi , Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 6-8.
- Ende, M.T. am, Hariharan, D., Peppas, N.A.,** 1995: Factors influencing drug and protein transport and release from ionic hydrogels , React. Polym. , 25: 127-137.
- Ende, M.T. am, Peppas, N.A.,** 1997: Transport of ionizable drugs and proteins in crosslinked poly(acrylic acid) and poly(acrylic acid-co-2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels 2. diffusion and release studies, J. Control. Release, 48: 47-56.
- Erarslan, A.,** 2002: Enzimler: Harika moleküller, Bilim ve Teknik, 35:16-18.
- Erce, D.,** 2006: Protein salımı için süper gözenekli IPN/yarı-IPN hidrojellerin sentezi ve salım kinetiğinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 33.
- Fadıloğlu, S.,** 1996: Kinetics of olive oil hidrolisis by free and immobilized *Candida Rugosa* lipase, Doktora Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 24-56.
- Gin. H., Dupuy. B., Baquey, A., Baquey, C., Ducassou, D.,** 1990: Lack of responsiveness to glucose of microencapsulated Islets of Langerhans after three weeks implantation in the rat-Influence of complement, J. Microencapsul., 7: 341–346.
- Gudeman, L. F., Peppas, N. A.,** 1995: pH-sensitive membranes from poly(vinyl alcohol)/poly(acrylic acid) interpenetrating networks, J. Appl. Polym. Sci., 55: 239-248.



- Gupta, P., Vermani, K., Garg, S.,** 2002: Hydrogels from controlled release to pH-responsive drug delivery , *Drug Discov. Today*, 7: 569-579.
- Gümüşderelioğlu, M., Kesgin, D.,** 2001: Akıllı polimerler, *Bilim ve Teknik*, 52-55.
- Gümüşderelioğlu, M.,** 2002: Hidrojeller, *Bilim ve Teknik*, 8.
- Güven, O., şen, M.,** 1991: Preparation and characterization of poly(N-vinyl-2-prolidone) hydrogels , *Polymer*, 32: 2491-2495.
- Hamidi, M., Azadi, A., Rafiei, P.,** 2008: Hydrogel nanoparticles in drug delivery, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, 60:1638-1649.
- Haraguchi, K., Takehisa, T.,** 2002: Nanocomposite hydrogels: a unique organic–inorganic network structure with extraordinary mechanical, optical, and swelling/de- swelling properties, *Adv. Mater.*, 14: 1120–1124.
- Harland, R.S., Prud'homme, R.K.,** 1992: Poly(N-vinyl-2-prolidone) hydrogels, ACS, Washington.
- Hennik, W.E., ve Van Nostrum, C.F.,** 2002., Novel crosslinking methods to desing hydrogels, *Adv. Drug Deliv.* 54:13-36.
- Hoffman, A.S.,** 2002: Hydrogels for biomedical applications , *Adv. Drug Deliver. Rev.*, 54: 3-12.
- Huang, T., Xu, H.G., Jiao, K.X., Zhu, L.P., Brown, H.R., Wang, H.L.,** 2007: A novel hydrogel with high mechanical strength: a macromolecular microsphere composite hydrogel, *Advanced Materials*, 19: 1622–1626.
- Huglin, M.B., Zakarai, M.B.,** 1986: Swelling properties of copolymeric hydrogels prepared by gama irradiation , *J. Appl. Polym. Sci.*, 31: 457-475.
- Hynd, M.R., Turner, J.N., Shain, W.,** 2007: Applications of hydrogels for neural cell engineering, *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 18:1223–1244.
- Işık, B.,** 2000: Swelling behavior of acrylamide-2-hydroxyethyl methacrylate hydrogels, *Turk J. Chem.*, 24: 147 – 156.
- Karaca, N.,** 2006: Poli(N,N-dimetilakrilamit-ko-akrilamit) ve Poli(N-izopropilakrilamit-ko-akrilamit)/κ-karragenan polimerleri kullanılarak lipaz enziminin immobilizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 18.
- Karadağ, E., Saraydın, D., Guven, O.,** 1997: Cationic dye adsorption by acrylamide/itanconic acid hydrogels in aqueous solutions, *Polym. Adv. Techn.*, 8:574-578.
- Kaşgöz, H.,** 1999: Modifiye poliakrilamitler ve uygulamaları, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 1-2.
- Kazanskii, K.S., Dubrovskii, S.A.,** 1992: Chemistry and physics of agricultural hydrogels, *Adv. Polym. Sci.*, 104: 97–133.
- Koç, L.,** 1994: Katı yağların serbest ve immobilize lipazla hidrolizi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 17-19.
- Kundakçı, S., Üzüm Ö.B., Karadağ, E.,** 2009: A new composite sorbent for water and dye uptake: Highly swollen acrylamide/2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid/clay hydrogels crosslinked by 1,4-butanediol dimethacrylate, *Poly. Comp.*, 30:29-37.
- Latha, A.G., George, B.K., Kannan, K.N.,** 1991: Synthesis of a polyacrilamide chelating resin and application in metal ion extractions, *J. App. Polym.Sci.*, 43:1159-1163.

- Lee, W.F., Chen, Y.J.**, 2001: Studies on preparation and swelling properties of the Nisopropylacrylamide/ chitosan semi-IPN and IPN hydrogels, *Journal of Applied Polymer Science*, 82:2487–2496.
- Li, H., Ng, T.Y., Yew, Y.K., Lam, K.Y.**, 2005: Modeling and simulation of the swelling behavior of pHstimulus- responsive hydrogels, *Biomacromolecules*, 6, 109-120.
- Lim, F., Sun, A.M.**, 1980: Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas, *Science*, 210: 908–910.
- Lin, D.C., Yurke, B., Langrana, N.A.**, 2004: Mechanical properties of a reversible, DNA crosslinked polyacrylamide hydrogel, *Journal of Biomechanical Engineering: Transactions of the ASME*, 126: 104–110.
- Mahdavinia, G.R., Pourjavadi, A., Hosseinzadeh, H., Zohuriaan, M.J.**, 2004: Modified chitosan 4. Superabsorbent hydrogels from poly(acrylic acid-co- acrylamide) grafted chitosan with salt- and pH-responsiveness properties , *European Polymer Journal*, 40: 1399-1407.
- Maitland, G.C.**, 2000: Oil and gas production, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 5:301–311.
- Myung, D., Koh, W.U., Ko, J.M, Hu, Y., Carrasco, M., Noolandi, J., Ta, C.N., Frank, C.W.**, 2007: Biomimetic strain hardening in interpenetrating polymer network hydrogels, *Polymer*, 48: 5376–5387.
- Ohara, N., Sakai, N.**, 1985: Water-solvent polymer gels as controlled release agrochemical carriers, *Chemical Abstract*, 103: 214P26q, 801.
- Ohya, S., Nakayama, Y., Matsuda, T.**, 2000: Molecular design of artificial extracellular matrix: preparation of thermoresponsive hyaluronic acid, *Trans. Soc. Biomater.*, 1297.
- Özgömlekçi, E.**, 2006: Proteaz enziminin glutaraldehit kullanarak kovalent bağlanma ile immobilizasyonunda optimum şartların belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul*, 3.
- Öztürk, B.**, 2002: Lipaz enzimi: Yapısal özellikleri ve uygulama alanları, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 20-23.
- Paiva, A.L., Balcao, V.M., Malcata, F.X.**, 2000: Kinetics and mechanisms of reactions catalyzed by immobilized lipases, *Enzyme and Microbial Techn.*, 27:187-204.
- Park, G.S.**, 1968: The glassy state and slow process anomalies, In: *Diffusion Polymers*, Crank J., Park GS (Eds), Academic, London,.
- Park, H.**, 2002: Superporous hydrogels for pharmaceutical & other applications, *Drug Deliv. Technol.*, 2:38-44.
- Peppas, N.A.**, 1985: Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers, *Pharm. Acta Helv.*, 60: 110-111.
- Peppas, N.A., Khare, A.R.**, 1993: Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release , *Adv. Drug Deliver. Rev.*, 11: 1-35.
- Peppas, N.A., Bures, P., eobandung, W., Ichikawa, H.**, 2000: Hydrogels in pharmaceutical formulations” , *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50: 27-46.
- Qui, Y., Park, K.**, 2001: Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, *Adv. Drug Delive. Rev.*, 53: 321-339.

- Ramani, K., Karthikeyan, S., Boopathy, R., John Kennedy, L., Mandal, A.B., Sekaran, G.,** 2012: Surface functionalized mesoporous activated carbon for the immobilization of acidic lipase and their application to hydrolysis of waste cooked oil: Isotherm and kinetic studies, *Process Biochemistry*, 47: 435-445.
- Roseman, T.J., Carderelli, N.F.,** 2001: Monolithic polymer devices , *Control. Release Tech.*, 11: 46-49.
- Rossi, G., Mazich, K.A.,** 1991: Kinetics of swelling for a cross-linked elastomer or gel in the presence of a good solvent, *Phys. Rev. A*, 44: 4793-4796.
- Sadeghi, M., Hosseinzadeh, H.,** 2010: Synthesis and super-swelling behavior of a novel low salt-sensitive protein-based superabsorbent hydrogel: collagen-g poly(AMPS), *Turk J. Chem.* 34: 739 – 752.
- Sefton, M.V., May, M.H., Lahooti, S., Babensee, J.E.,** 2000: Making microencapsulation work: conformal coating immobilization gels and in vivo performance, *J. Control Release*, 65: 173–186.
- Shibana, T., Ho, K., Toyama, S.,** 1987: Highly water-absorbing polymer, *Chemical Abstract*, 106: 33625t, 11.
- Shibayama, M., Tanaka, T.,** 1993: Volume phase transition and related phenomena of polymer gels, *Adv. Polym. Sci.*, 109:1–62.
- Stefanescu, E.A., Stefanescu, C., Daly, W.H., Schmidt, G., Negulescu, L.I.,** 2008: Hybrid polymer–clay nanocomposites: a mechanical study on gels and multilayered films, *Polymer*, 49:3785–3794.
- Sungur, Ö.,** 2011: Ünye-bentonit/poliakrilamit (PAAmm) hidrojel kompozitlerin sentezi ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, 1-4.
- Swami, S.N.,** 2004: Radiation synthesis of polymeric hydrogels for swelling controlled drug release studies , Doctora Tezi, University of Western Sydney New South Wales, Australia.
- Tanaka, T.,** 1981: Gels, *Sci. Am.*, 244:110–123.
- Taşdelen, B., Kayaman, N., Güven, O., Baysal, B.M.,** 2005: Anticancer drug release poli(N-isopropylacrylamide/itaconic acid) copolymeric hydrogels , *Radiat. Phys. Chem.*, 73: 340-345.
- Telefoncu, A.,** 1997: Enzimoloji, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, İzmir, 1-305.
- Thakur, A., Wanchoo, R.K., Singh, P.,** 2011: Structural parameters and swelling behavior of pHsensitive poly(acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels, *Chem. Biochem. Eng.* 25: 181–194.
- Uysal, İ.,** 2001: Poli(vinil eter) bazlı ampifilik hidrojellerin sentezi ve kontrollü ilaç salım uygulamaları , Yüksek Mühendislik Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 5-7.
- Vakkalanka, S.K., Brazel, C.S., Peppas, N.A.,** 1996: Temperature and pHsensitive terpolymers for modulated delivery of streptokinase , *J. Biomater Sci. Polym. Ed.*, 8: 119-129.
- Villeneuve, P., Muderhwa, J.M., Graille, J., Haas, M.J.,** 2000: Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 9: 113-148.
- Wichterle O., Lim D.,** 1960: Hydrophilic gels in biologic use, *Nature*, 185:117-118.
- Woerly, S.,** 1997: Porous hydrogels for neural tissue engineering, *Mater. Sci Forum*, 250: 53–68.

- Worsfold, P.J.**, 1995: Classifications and chemical characteristics of immobilized enzymes, *Pure & Appl. Chem.*, 67: 597-600.
- Wu, X.S., Hoffman, A.S., Yager, P.**, 1992: Synthesis and characterization of thermally reversible macroporous poly(N-isopropyl acrylamide) hydrogels, *J. Polym. Sci. Part A, Pol. Chem.*, 30: 2121-2129.
- Yannas, I.V., Lee, E., Orgill, D.P., Skrabut, E.M., Murphy, G.F.**, 1989: Synthesis and characterization of a model extracellular matrix that induces partial regeneration of adult mammalian skin, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86:933-937.
- Yin, Y., Yang, Y., Xu, H.**, 2002: Swelling behavior of hydrogels for colon-site drug delivery, *J Appl Polym Sci*, 83: 2835-2842.
- Zhou, C., Wu, Q., Yue, Y., Zhang, Q.**, 2011: Application of rod-shaped cellulose nanocrystals in polyacrylamide hydrogels, *Journal of Colloid and Interface Science*, 353: 116-123.



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad:** Nazlı Özcan

**Doğum Tarihi ve Yeri:** 26.07.1989 Orhangazi/BURSA

**E-Posta:** nazliaoacan\_kmy@windowlive.com

**Yüksek Lisans:** Yalova Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya ve Süreç Mühendisliği Bölümü(Tezli) (2012-2014)

**Lisans:** Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü (2008-2012).

### Uluslararası dergilerdeki yayınlar:

- 1) **Özcan, N.**, Temel, G., Omay, D., Synthesis, Characterization and Swelling Kinetics of Lipase Immobilized PAAm Hydrogels, incelemede.

### Uluslararası bildiriler:

- 1) **Ozcan, N.**, Omay, D., 2013: Swelling and immobilization properties of poly(acrylamide)-lipase hydrogels, EPF 2013, European Polymer Congress, İtalya.
- 2) Akay, P., **Ozcan, N.**, Omay, D., 2013: Immobilization of lipase onto photocrosslinked polymer network: Characterization and Polymerization applications, IUPAC 2013, International Union of Pure and Applied Chemistry, İstanbul.
- 3) Kilic, B., **Ozcan, N.**, Akay, P., Omay, D., 2013: ZnO Nanostructures onto Chitosan Hydrogels, EUROMAT 2013, European Congress and Exhibition on Advanced Materials and Processes, İspanya.

### Ulusal Bildiriler:

- 1) **Özcan, N.**, Akay, P., Omay, D., 2013: Lipaz İmmobilize Edilmiş Poliakrilamit Hidrojellerin Aktivite, Şişme ve Salım Davranışlarının İncelenmesi, UKMÖK 2013, Ulusal Kimya Mühendisliği Öğrenci Kongresi, Ankara.
- 2) **Özcan, N.**, Akay, P., Omay, D., 2013: Bir boyutlu (1D) ZnO nanoyarıiletken tabanlı fotovoltatik hücrelerin üretilmesi, UKMÖK 2013, Ulusal Kimya Mühendisliği Öğrenci Kongresi, Ankara.
- 3) **Özcan, N.**, Omay, D., 2014: Lipaz&poliakrilamit süper absorbant hidrojellerinin şişme kinetik modeli ve difüzyon katsayısı, IV. Fiziksel Kimya Kongresi 2014, Pamukkale.

**Projeler:**

- 1) Didem Omay, **Nazlı Özcan**, Lipaz immobilize edilmiş poliakrilamid hidrojellerinin aktivite, şişme ve salım davranışlarının incelenmesi, Yalova Üniversitesi BAP YL 017 PROJESİ 2013, devam.