



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİTKİ EKSTRAKTI İÇEREN KİTOSAN AGAR HİDROJELLERİN
SENTEZİ ve ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Bekir ASLAN

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
EYLÜL-2022



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİTKİ EKSTRAKTI İÇEREN KİTOSAN AGAR HİDROJELLERİN
SENTEZİ ve ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

BEKİR ASLAN
ORCID: 0000-0001-84766449

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doç. Dr. MAHİR TİMUR
ORCID:0000-0001-5914-607X

HATAY
EYLÜL-2022

09/09/2022

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Bekir ASLAN



ÖZET

BİTKİ EKSTRAKTI İÇEREN KITOSAN AGAR HİDROJELLERİN SENTEZİ ve ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Polisakkaritler, basit şekerlerden oluşmuş polimerlerdir. Biyopolimerlerden kitosan ve Agar-agar birer polisakkarittirler. Kitosan biyopolimeri biyo-uyumlu, biyo-bozunur, non-toksik ve de belli bir oranda antimikrobiyeldir. Agar, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan hidrofilik bir polisakkarittir. Her ikisi de yeni özellikler ve fonksiyonlar kazandırılmak adına kimyasal ve mekanik modifikasyona açıktır biyopolimerler, yenilenebilir kaynaklardan elde edilebilir, mikrobiyel olarak sentezlenebilir, film haline getirilebilir ve su tutarak jel haline getirilebilirler.

Yenilebilir filmlere eklenmiş, uçucu yağlar veya meyve özleri gibi antioksidan özellikler sunan çeşitli doğal bileşenler vardır

Bu çalışmada birer biyopolimer olan kitosan ve Agar-agarın değişik oranlarda blend olarak ve bisfenol A diglisidil eter ile çapraz bağlı yeni türevlerinin sentezi ve karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada hedeflenen çapraz bağlı türevler, kitosanda bulunan primer amin ve hidroksi gruplarının Agar-agardaki hidroksi gruplarıyla epoksi tepkimesi sonucu çapraz bağlanması sonucu çapraz bağlı ikili biyopolimer karışımından oluşan yeni biyopolimer türevleri sentezlenmiştir. Hazırlanan yeni blend ve çapraz bağlı kitosan/Agar-agar türevlerinin yapı tayin işlemleri elementel analiz (C,H,N), SEM, FT-IR, ve TG-DTA teknikleri ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızın diğer bir aşamasında ise, her bir türevin suda şişme davranışları takip edilmiş ve ilgili parametreler hesaplanmıştır. En son olarak tıbbi aromatik bir bitki olan kantaron bitkisinin metanol ekstraktı hidrojele eklenerek hidrojellerin toplam fenolik içerikleri Folin Ciocalteau (FC) yöntemi ile antioksidan madde tayini DPPH yöntemiyle belirlenmiştir.

Gerçekleştirilen analizlerin sonuçları değerlendirildiğinde çalışmada yeni blend ve çapraz bağlı kitosan/Agar-agar türevlerinin sentezlendiği, su tutma kapasitelerinin kitosana karşılaştırıldığında yüksek olduğu ve Sarı kantaron metanol ekstresi eklenmesiyle türevlere antioksidan özellik kazandırıldığı belirlenmiştir.

2022, 68 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kitosan, Agar-agar, Çapraz bağlama, Hidrojel, Antioksidan

ABSTRACT

SYNTHESIS of CHITOSAN AGAR HYDROGELS CONTAINING PLANT EXTRACT and INVESTIGATION of ANTIOXIDANT PROPERTIES

Polysaccharides are polymers made of simple sugars. Chitosan and Agar-agar biopolymers are polysaccharides. The chitosan biopolymer is biocompatible, biodegradable, non-toxic and, to a certain extent, antimicrobial. Agar is a hydrophilic polysaccharide widely used in the food industry. Both are open to chemical and mechanical modification to impart new properties and functions.

Biopolymers can be obtained from renewable resources, microbially synthesized, film formation, and gelled by retaining water.

There are a variety of natural ingredients added to edible films that offer antioxidant properties, such as essential oils or plant extracts.

In this study, the synthesis and characterization of new derivatives of chitosan and agar-agar, which are biopolymers, as blends at different ratios and cross-linked with bisphenol A diglycidyl ether were carried out.

In the study, the targeted cross-linked derivatives were synthesized by epoxy reaction between the primary amine and hydroxy groups of chitosan with the hydroxy groups of Agar-agar. As a result of cross-linking new biopolymer derivatives consisting of a cross-linked binary biopolymer mixture were synthesized.

The structure determination processes of the newly prepared blend and cross-linked chitosan/Agar-agar derivatives were carried out by elemental analysis (C,H,N), SEM, FT-IR, and TG-DTA techniques.

In another stage of our study, the swelling behavior of each derivative in water was followed and the relevant parameters were calculated. Finally, the methanol extract of Sarı kantaron, which is a medicinal aromatic plant, was added to the hydrogel and the total phenolic contents of the hydrogels were determined by the Folin Ciocalteu (FC) method, their antioxidant capacity was determined by the DPPH method.

When the results of the analyzes were evaluated, it was concluded that new blend and cross-linked chitosan/Agar-agar derivatives were synthesized, their water holding capacity was higher compared to chitosan, and it had antioxidant properties with the addition of Sarı Kantaron methanol extract.

2022, 68 pages

Key Words: Chitosan, Agar-Agar, Cross-Linking, Hydrogel, Antioxidant

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konusunun belirlenmesinde, araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmayı yönlendiren ve her türlü yardımı esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Mahir TİMUR'a katkılarından dolayı sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmaları sırasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan MKÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölüm Başkanlığı'na, MKÜ Altınözü Tarım Bilimleri Meslek Yüksekokulu'na ve maddi destek veren MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna, en içten minnet ve şükran duygularıyla sonsuz teşekkürler.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar.....	14
3.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	14
3.2. Yöntem.....	15
3.2.1. Bitkinin Hazırlanması.....	15
3.2.1.1. Nem Miktar Tayini.....	15
3.2.1.2. Uçucu Yağ Miktar Tayini.....	15
3.2.1.3. Sabit Yağ Tayini.....	16
3.2.1.4. Sarı Kantaron (<i>H. Perforatum</i>) Metanol Ekstraktının Hazırlanması.....	16
3.2.1.5. DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Tayini.....	17
3.2.1.6. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini (Folin Ciocalteu).....	17
3.2.2. Kitosan/Agar-agar Türevlerinin Hazırlanması.....	18
3.2.2.1. Blend Kitosan/Agar-Agar Sentezi.....	19
3.2.2.1.1. Blend %12 Kitosan/Agar-agar (B1).....	19
3.2.2.1.2. Blend %9 Kitosan/Agar-agar (B2)	20
3.2.2.1.3. Blend %6 Kitosan/Agar-agar (B3)	20
3.2.2.1.4. Blend %3 Kitosan/Agar-agar (B4)	21
3.2.2.2. Çapraz Bağlı Kitosan/Agar-agar Sentezi.....	21
3.2.2.2.1. Çapraz Bağlı %12 Kitosan/Agar-agar (C1).....	23
3.2.2.2.2. Çapraz Bağlı %9 Kitosan/Agar-agar (C2)	23
3.2.2.2.3. Çapraz Bağlı %6 Kitosan/Agar-agar (C3)	24
3.2.2.2.4. Çapraz Bağlı %3 Kitosan/Agar-agar (C4)	24
3.2.2.2.5. Metanol Ekstraktı İçeren Hidrojellerin Hazırlanması.....	25
3.2.3. Kitosan Türevlerinin Şişme Davranışları.....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	26
4.1. Sarı Kantaron Bitkisi Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi.....	26
4.2. Elementel Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi.....	29
4.3. FT-IR Spektrum Bulgularının Değerlendirilmesi.....	30
4.4. TGA-DTA Bulgularının Değerlendirilmesi.....	32
4.5. Sem Analizi.....	34
4.6. Şişme Karakterizasyonu.....	37
4.6.1. Çözünürlük Davranışları.....	37
4.6.2. Denge Şişme Değerleri.....	38
4.6.3. Dengede Su İçeriği.....	46
4.7. Antioksidan ve Toplam Fenolik Madde Tayini.....	47

5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	48
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	57
EKLER.....	58



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Sari Kantaron Uçucu Yağ Bileşim.....	28
Çizelge 4.2. Sari Kantaronda Belirlenen Yağ Asidi Bileşimi.....	29
Çizelge 4.3. Sentezlenen Bileşiklerin Elementel Analiz Sonuçları.....	30
Çizelge 4.4. Sentezlenen Bileşiklerin FT-IR Spektrum Sonuçları.....	32
Çizelge 4.5. Türevlerin Termal Bozunma Değerleri.....	34
Çizelge 4.6. Kitosan Türevlerinin 25°C 'de pH 4,0; 7,0 ve 10,0'daki DSI Değerleri.....	47



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kitosanın kimyasal yapısı.....	6
Şekil 1.2. Agarın kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2.1. Etilen glikol diglisidil eter ile çapraz bağlı kitosan.....	11
Şekil 2.2. Diizosiyanat ile çapraz bağlı Agar-agar.....	12
Şekil 2.3. Çapraz bağlı Kitosan-Xantahn.....	12
Şekil 2.4. Dekstran yapısı.....	13
Şekil 3.1. Gallik asit standart grafiği.....	19
Şekil 3.2. Blend kitosan/Agar-agar yapısı.....	20
Şekil 3.3. Glisidil eterlerin amin ve alkollerle reaksiyonu.....	22
Şekil 3.4. Bisfenol A diglisidil eter ile çapraz bağlı Kitosan/Agar-agar muhtemel Yapısı.....	23
Şekil 4.1. Sarı kantaron uçucu yağ spektrumu.....	23
Şekil 4.2. Kitosan ve Kitosan Türevlerinin SEM Görüntüleri.....	38
Şekil 4.3. Kitosan Türevlerinin 25°C'de pH 4,0; 7,0 ve 10,0'daki Çözünme Oranları.....	39
Şekil 4.4. Kitosan Türevlerinin 25°C'de pH 4,0; 7,0 ve 10,0'daki DSI Değerleri	40
Şekil 4.5. B1 türevinin 25 °C ve 37°C'de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri.....	41
Şekil 4.6. B2 türevinin 25 °C ve 37°C'de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri.....	42
Şekil 4.7. B3 türevinin 25 °C ve 37°C'de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri.....	42
Şekil 4.8. B4 türevinin 25°C ve 37°C'de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri.....	43
Şekil 4.9. C türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri.....	44
Şekil 4.10. C-C türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri.....	45
Şekil 4.11. C1 türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri.....	45
Şekil 4.12. C2 türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri.....	46
Şekil 4.13. C3 türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri.....	47
Şekil 4.14. C4 türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri.....	47

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

M	: Molar
g	: Gram
Dak	: Dakika
mg	: Miligram
°C	: Santigrat derece
m_t	: t(dak) anındaki hidrojelin kütlesi
m₀	: Başlangıçtaki kuru polimer kütlesi
ml	: Mililitre
mmol	: Milimol
t	: Süre (dakika)
m_d	: Dengedeki hidrojelin kütlesi
S_{mak}	: Hidrojelin denge anındaki (teorik) şişme değeri
%S	: t anındaki şişme değeri

KISALTMALAR

FT-IR	: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
TGA-DTA	: Termo Gravimetrik Analiz-Diferansiyel Termal Analiz
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
DSİ	: Dengede su içeriği
DPPH	: 1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil
FC	: Folin Ciocalteau
C	: Kitosan
C-C	: Çapraz bağlı kitosan
C1	: %12 Agar içeren çapraz bağlı Kitosan/Agar-agar türevi
C2	: %9 Agar içeren çapraz bağlı Kitosan/Agar-agar türevi
C3	: %6 Agar içeren çapraz bağlı Kitosan/Agar-agar türevi
C4	: %3 Agar içeren çapraz bağlı Kitosan/Agar-agar türevi
B1	: %12 Agar içeren blend Kitosan/Agar-agar türevi
B2	: %9 Agar içeren blend Kitosan/Agar-agar türevi
B3	: %6 Agar içeren blend Kitosan/Agar-agar türevi
B4	: %3 Agar içeren blend Kitosan/Agar-agar türevi

1.GİRİŞ

Tıbbi bitkiler, tarih öncesi çağlardan beri geleneksel tıp uygulamalarında keşfedilmiş ve kullanılmıştır. Dünya da 300.000'den fazla tohumlu bitki türü vardır (Jiao ve ark, 2011a,b). Bu bitkilerin yaklaşık %60'ı, tıbbi amaçla kullanılmaktadır (Chen ve ark, 2010). Tıbbi bitkiler aynı zamanda birçok kimyasal ilacın temel hammaddesini oluşturmaktadır. Mevcut klinik ilaçların üçte birinden fazlası bitki ekstrelerinden veya türevlerinden oluşmaktadır. Bitkiler, böceklerle, mantarlara, hastalıklara ve otçul memelilere karşı savunma, dahil olmak üzere işlevler için yüzlerce kimyasal bileşik sentezler. İlaç yapımında kullanılan bu bitkilerde bulunan bileşikler pek çok türdedir, ancak çoğu dört ana biyokimyasal sınıftadır: alkaloidler, glikozitler, polifenoller ve terpenler (Hayat ve ark., 2007; Bastida ve ark., 2006). Kolay temin edilebilir olması ve modern ilaçlardan daha ucuz olmasından dolayı uçucu yağ içeren bitkiler, halk arasında tedavi edici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Jiao ve ark., 2011a,b; Chen ve ark., 2010). Geleneksel Tıpta, bitkisel ilaçların hazırlanması için kaynatma, toz haline getirme ve alkol ile özütleme yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde her durumda bir madde karışımı elde edilir. Kaynatma, ağızdan alınabilen veya topikal olarak uygulanabilen sıvı bir ekstrakt (hidrosol) elde etmek için bitki materyalinin suda ezilmesini ve ardından kaynatılmasını içerir (Yang ve Ross, 2010). Toz haline getirme, bitki materyalinin kurutulmasını ve ardından tabletler halinde sıkıştırılabilen bir toz elde etmek için ezilmesini içerir. Alkol ekstraksiyonu, bir tentür oluşturmak için bitki materyalini soğuk alkolde bekletilmesiyle yapılır (Dharmananda, 1997).

Geleneksel tıpta iltihap kurutucu, balgam söktürücü, kan yapıcı ve antidepresan başta olmak üzere mide rahatsızlığında ve sarılıkta kullanılan Hypericaceae familyasından olan sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) bitkisi Türkiye’de yöresel olarak Binbirdelik otu, Sarı kantaron, Kan otu, Kılıç otu, Mayasılotu, Yaraotu, Koyunkıran, olarak bilinen çok yıllık otsu bir bitki olup genellikle doğal olarak yetişmektedir (Ersoy ve ark., 2020).

Hypericum perforatumun Türkiyenin bütün bölgelerinde doğal olarak yetişen, 30-80 cm yüksekliğinde parlak sarı renkli çiçekler açan, çiçeklenme dönemi Haziran-Ağustos ayları olan çok yıllık otsu bir bitkidir (Aksu ve ark., 2015). *Hypericum perforatum* bitkisinde farklı farmakolojik özellik gösteren çok sayıda kimyasal bileşik vardır (Jarzębski ve ark., 2020). Bu kimyasal bileşiklerden dolayı bitki tıbbi açıdan

önemli bir yere sahiptir (Sarrou ve ark., 2018). *Hypericum perforatum* içindeki etken maddeler antiviral, (Gulick ve ark., 1999) antioksidan, (Raduloviç ve ark., 2007) antimikrobiyal (Meral, 2003) antidepresan (Müller, 2005) özelliklere sahiptir. (Ersoy ve ark., 2020; Nürk ve ark., 2011). bitkilerin bütün kısımlarında bulunabilen polifenolik yapılu bileşikler birer doğal antioksidan olup bitkilerde 4000'den fazla fenolik ve polifenolik bileşik tanımlanmıştır (Simpson ve ark., 1987; Triantaphyllou ve ark., 2001).

H. Perforatum'un yapısında, naftodiantronlar (hiperisin, pseudohiperisin, protohiperisin); flavonoidler (kamferol, kuersetin, luteolin, hiperin, hiperosid); floroglusinoller (hiperforin, flurohiperforin) ve esansiyel yağlar olmak üzere birçok biyolojik aktif madde bulunmaktadır (Nahrstedt ve Butterveck, 1997).

Radikallerin zararlı etkilerine karşı hücrelerde çeşitli savunma sistemleri bulunmaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve peroksidaz gibi enzimler; askorbik asit, α -tokoferol (vitamin E), sistein, indirgenmiş glutatyon gibi maddelerin radikal temizleme yeteneği olduğu bilinmektedir (McCord ve ark., 1978).

Sarı kantaron (*Hypericum perforatum*)'un su ekstraktı, yağı ve uçucu yağı gerek geleneksel tıpta gerekse bilimsel çalışmalarda ilaç olarak yara, yanık ve lezyon tedavilerinde kullanılmaktadır (Nahrstedt ve Butterveck, 1997; Çoban ve ark., 2016; Gerard, 1957).

Sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) Yağı üretimi maserasyon yöntemiyle gerçekleştirilmekte olup bu amaçla zeytinyağından faydalanılmaktadır. Yapılmış çalışmalar: Farmakolojik araştırmalar sarı kantaron yağının küçük yaralar ve yanıklar, güneş yanıkları, sıyrıklar, ezilmeler ve ülser gibi durumlarda kullanımını desteklemektedir. İçeriğindeki naftodiantronlar (hiperisin gibi) ve fluroglisinoller antioksidan, antienflamatuar, antikanser ve antimikrobiyal aktiviteleri içermektedir.

Sarı kantaron yağı (*Oleum Hyperici*) haricen antiseptik ve özellikle yanık yaraları başta olmak üzere yara iyi edici olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Antibakteriyel çalışmalarda gram-pozitif bakterilerde büyümeyi inhibe ettiği belirlenmiştir (Süntar ve ark., 2011). Sarı kantaronun zeytinyağlı maserasyonunu içeren bir merhemın yanıkların iyileşme süresini kısaltmasının yanı sıra antiseptik aktivite gösterdiği de rapor edilmiştir (Wölfle ve ark., 2014).

Yara bakımında yaranın bakteri ve yabancı maddelerden korunması, gaz alış verişine izin verilmesi, yara çevresindeki dokulara zarar verilmemesi ve yaranın nemli tutulması önemlidir (Zbigniew ve Schwartz, 2000; Maria ve ark., 1997; Robson ve ark., 2001). Nem tutma özelliğine sahip yara örtüleri yaradan su kaybını önleyerek deforme olmuş dokudaki hücrelerin çoğalma yeteneğini koruyarak yara iyileşmesinde aktif rol oynamaktadır (Kumar ve ark., 2004).

Biyoaktif yara örtüleri, hidrokolloidler, aljinatlar, kollajen ve kitosan gibi hidrojel oluşturabilen biyopolimerlerden elde edilirler. Bunlar taşıdıkları biyoaktif maddeleri yaraya salarken kendi özellikleri sayesinde de yara iyileşmesinde aktif rol oynarlar (Paul ve Sharma, 2004). Hidrojel örtüler, kurumuş olan yara yüzeyine uygulandıklarında, yarayı nemlendirerek yaranın iyileşmesi için gerekli nemli ortamı yaratmaktadır (Altay ve Başal, 2010). Hidrojellerin kolay şekil almaları, yara yüzeyinden kolayca temizlenmeleri su buharı geçirgenliğine sahip olmaları, yara yüzeyine lokal olarak ilaç uygulanabilmesi gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca jelin çapraz bağlanma derecesi kontrol edilerek ilacın yara bölgesine difüzyonu sağlanabilmektedir (Boateng ve ark., 2007).

Hidrojeller; ağ yapılı, ağ yapısı nedeniyle suda çözünmeyen, yapılarında $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$, $-COOR$ vb. gibi hidrofilik gruplar içeren, belli bir denge değerine kadar şişebilen çapraz bağlı üç boyutlu yapılardır. Şişme miktarını kontrol eden iki faktör; polimer zincirlerinin hidrofilitesi ve çapraz bağ yoğunluğudur (Taşdelen, 2002). Çapraz bağlı iki ayrı sentetik veya doğal polimerin fiziksel olarak birleşerek içiçe geçmesiyle oluşan ağ yapılı polimerler IPN (Interpenetrating Polymer Network) tipi hidrojeller olarak tanımlanırlar. Bu yapılardan en az biri diğerinin varlığında sentezlenir veya çapraz bağlanır (Zhang ve ark., 2000). Yarı-IPN tipi hidrojellerde ise polimerlerden biri çapraz bağ içerirken diğeri doğrusal yapıdadır (Park ve ark., 1993; Alvarez-Lorenzo ve ark., 2005). Bu tür hidrojellerde misafir polimer zincirleri, ev sahibi ağ yapının içinde kovalent bağlı veya kovalent bağısız olarak yer alabilirler.

Hidrojeller sahip oldukları çapraz bağlar nedeniyle su içine konulduklarında çözünmezler ancak hidrofilik karakterleri nedeniyle 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. Hidrojeller su içine konulduklarında sahip oldukları çapraz bağlar nedeniyle

çözünmezler ancak hidrofilik karakterleri nedeniyle 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. Hidrojeller kendi ağırlığının yüzlerce katı kadar su absorplayabilirler. Hidrojellerin bu yüksek derecede su absorplama kapasiteleri, onların tıptan gıdaya, tarımdan kozmetiğe kadar geniş bir yelpazede kullanımlarına olanak sunar.

Hidrojeller, yapılarında çok fazla miktarda su bulundurmaları, yumuşak ve esnek yapıları gibi taşıdıkları birçok fiziksel özellikler açısından canlı dokularla karşılaştırıldıklarında büyük bir benzerlik göstermektedirler (Taşdelen ve ark., 2005; Karadağ ve ark., 1996). Hidrojellerin yüksek oranda su tutup şişmesi ve biyouyumlu olmaları ile peçete çocuk bezi gibi temizlik ürünlerinin yapımında, (Wu ve ark., 1992) yara örtücü materyal, hijyenik ürünler, ilaç salınım sistemleri, yapay organlar ve dental materyallerin hazırlanması verilebilir (Taşdelen ve ark., 2005; Karadağ ve ark., 1996). Gübrelerin ve tarım ilaçlarının denetimli salımlarında (Roseman ve ark., 2001; Qui ve ark., 2001), endüstride yağ ve petrol içerikli sulu atıklardan saflaştırma ve suyun uzaklaştırılması işlemlerinde (Gümüşderelioğlu ve ark., 2001) ve hastane atıklarından suda çözülebilen ya da hidrojele uyumlu olarak soğurulabileceği bazı fizyolojik (kan ve üre vb.) sıvıların soğurulmasında da kullanılırlar (Shibana ve ark., 1987; Chmelir ve ark., 1983).

Hidrojellerin şişme derecelerinin ayarlanabilir olması ve farklı fiziksel şartlarda farklı değerler alması, onların kontrollü ilaç salınım uygulamalarında kullanılabilecek eşsiz bir malzeme olmalarını sağlamıştır (Zhang ve Peppas, 2000). Şişmiş hidrojeller yumuşak ve kauçuğumsu yapıları nedeniyle canlı dokulara benzetilirler (Taşdelen ve ark., 2005; Roseman ve ark., 2001). Bu nedenle yapay doku, yapay organ dahil olmak üzere, hidrojellerin biyomedikal alanda çok çeşitli uygulamaları söz konusudur. Bu uygulamaların önemli bir kısmını hidrojellerin ilaç salınım materyali olarak kullanımları oluşturmaktadır.

Hidrojeller genel olarak maksimum şişme oranları, şişme kinetikleri, ıslak (şişmiş durumdaki) mekanik özellikleri ve gözenek yapısı ile karakterize edilirler. Şişme özelliği Hidrojel için karakteristik bir özelliktir. hidrojel su içine konulduğunda polar hidrofilik gruplara (hidroksil, karboksil, amit, amin vb.) vasıtasıyla hidratize olarak

suyu bağlar. Büzülmüş durumda bulunan jelde polimer zincirleri birbirine enyakin konumda iken şişme ile birlikte bu zincirler arası mesafede artar.

İlaç salınım malzemesi, yapay organ vb. uygulamalarda geniş bir kullanım alanına sahip olan Hidrojellerin işlem boyunca fiziksel ve mekanik bütünlüğünün korunması istenir. Mekanik olarak zayıf olan hidrojel şıştiklerinde parçalanma ihtimalleri yüksektir. Bunun için mekanik açıdan kuvvetli olan, fiziksel muamelelere dayanıklı hidrojel sentezlenmesi için birçok yöntem üzerinde çalışılmıştır. Bunlar çapraz bağlayıcı eklenmesi, Çapraz bağlayıcının farklı oranlarda eklenmesi, jel yapısına komonomer eklenmesi, içiçe geçmiş ağ yapılar (IPN) ve nanokompozit hidrojel sentezi gibi örnekler verilebilir (Worsfold, 1995).

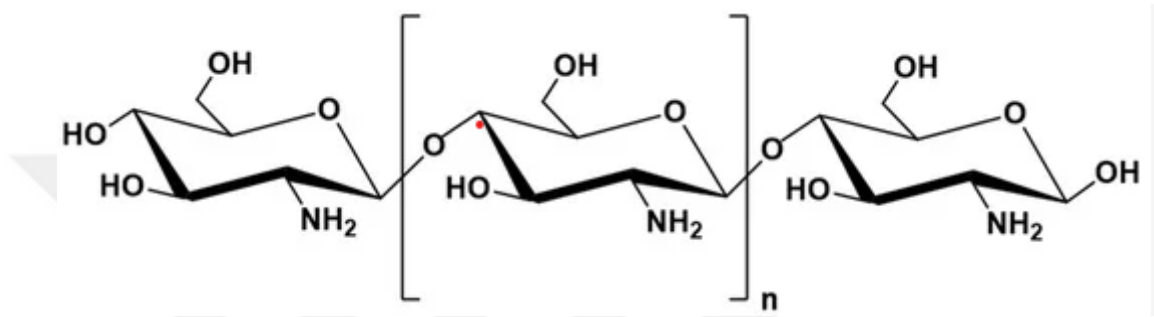
Biyopolimerler, yenilenebilir kaynaklardan elde edilebilir, mikrobiyel olarak sentezlenebilir ya da petrol temelli kimyasallar yoluyla sentezlenebilir. Bunun yanısıra iki ya da daha fazla biyopolimerin karıştırılması ile yeni biyopolimerler de üretilebilir (Mohanty ve ark., 2002).

Sentetik polimerlerin çok kullanışlı yapan sağlamlık ve dayanıklılık özellikleri doğada kalma sürelerini uzatmakta ve yok edilebilmelerini zorlaştırmaktadır bu da insan sağlığına ve çevreye yönelik parçalanamama ve yenilenebilmeme gibi bazı sorunlar ortaya çıkarmaktadır. Bu sorunlar, biyolojik hammaddelerden üretilen biyopolimerlere ilginin artmasına neden olmaktadır. biyopolimerler tüm canlı organizmaların temel yapı birimleri olarak kabul edilebilir. Genetik bilginin aktarılmasını sağlayan DNA, canlıların temel yapı taşları proteinler ve kas dokuları, bitki hücrelerinin çeperlerini oluşturan selüloz, insanların ve hayvanların besin kaynağı olan karbonhidratlar vs. birer biyopolimerdir. Biyopolimerler; kabuklu canlılar, mantarlar ve odun gibi doğal malzemelerden türevlendirilir. Doğal biyopolimer olan Polisakkaritler, basit şekerlerden oluşmuş polimerlerdir. biyobozunur ve biyoyumlu yapıları, düşük toksisiteleri ve enzimatik bozunmaya uğrayabilmeleri Geri dönüştürülebilir olmaları gibi özellikleri bakımın dan hidrojel sentezinde sıkça kullanılmaktadırlar. Proteinlerden sonra, polisakkaritler en ayrıntılı ve çeşitli yapıya sahip biyopolimer grubu olarak kabul edilebilir (Rinaudo ve ark.,2002). En yaygın kullanılan polisakkaritlere kitin, kitosan, nişasta, selüloz, agar agar örnek olarak verilebilir.

Kitin [β -(1-4)-poli-Nasetil-D-glukozamin], yengeç, karides, ıstakoz gibi eklembacaklıların iskeletlerinin esas maddesi olup bazı bakteri ve mantarların hücre

duvarında da yer almaktadır. Selülozda C-2 karbonundaki hidroksil grubu yerine kitinde asetamido grubu bulunmaktadır. Kitin, selülozdan sonra en fazla üretilen polisakkarit olmasına karşılık özellikle çözünme konusunda çok sıkıntı yaşanırken, kitinin alkali ortamda deasetilasyonu sonucu elde edilen, lif oluşturabilen kitosan hem saf hem de kompozit olarak geniş kullanım alanı bulmuştur (Struszczyk ve ark., 2001).

Kitosan, rastgele dağılmış $\beta(1-4)$ -bağlı D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin birimlerinden oluşmaktadır (Bhattarai ve ark., 2010) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Kitosanın kimyasal yapısı

Kitinin aksine kitosan sulu asidik ortamlarda çözünür. Kitosan C-2 pozisyonunda bulunan $-NH_2$ gruplarının protonlanması sonucu çözünür ve böylelikle asidik ortamlarda polielektrolite dönüşür. Kitosan, glutamik asit, hidroklorik asit, laktik asit ve asetik asit gibi inorganik ve organik asitlerle suda çözünebilen formlara dönüşür.

Biyobozunur bir polimer olan kitosan, non-toksik, antialerjik, kararlı, biyobozunur ve steril edilebilir yapısı ile mükemmel özelliklere sahiptir. Bu özellikleriyle kitosanın, farmasötik ve medikal açıdan önemli kullanım alanları mevcuttur (Kumar ve ark., 2004; Muzzarelli ve ark., 2005). Bunun yanı sıra veterinerlik, tarım, ziraat, tekstil, kozmetik, dişçilik, besin endüstrisi, fotoğrafçılık, ağır metal, protein ve yağ absorpsiyonu, gibi çeşitli alanlarda çok sayıda uygulamaları vardır. İlaçların kontrollü salımı, son derece önem taşımaktadır. Taşıyıcı tasarımıyla kullanılan kitosan; parçalanabilirliği, toksik özellikte olmaması ve biyolojik olarak uyumluluğu açısından avantaj sağlamaktadır. Kitosan, vücutta zararsız ürünlere (şekerler) dönüştüğü için herhangi bir olumsuzluk yaratmamaktadır. Kitosan primer amin grubunun ve primer ve sekonder hidroksil gruplarının reaktivitesi nedeniyle kolayca türevlendirilebilmektedir. Kitosan hidrojellerin oluşumunda sıklıkla kullanılan yöntem, değişik çapraz bağlayıcılar eklenerek oluşturulan kovalent ve iyonik olarak çapraz bağlama yöntemidir.

Kitosan hidrojel­leri çeşitli geometri ve şekillerde (toz, küre, tablet, film, mikroküre, sünger, fiber vb.) hazırlanabilir (Denkbaş ve Ottenbrite, 2006). Bunların her birinde fiziksel veya kimyasal yolla çapraz bağlanarak hidrojel oluşumu söz konusudur. Fiziksel çapraz bağlı hidrojel­ler elektrostatik, hidrofobik ve hidrojen bağı gibi etkileşimler ile oluşturulur (Bhattarai ve ark., 2010). Kitosa­n doğal bir polimer olması nedeniyle birçok üstün özelliğe sahiptir. Gıda teknolojisinde kitosa­n, antibakteriyal etkisi, renk ve yapı stabilizatörü olarak sentetik kimyasallara alternatif olarak kullanılabilir. Kitosa­n membranların mekanik dayanıklılıkları ve antimikrobiyal etkileri, kaplama ve paketlenme malzemeleri olarak kullanılmalarına olanak sağlamaktadır (Struszczyk ve ark., 2001).

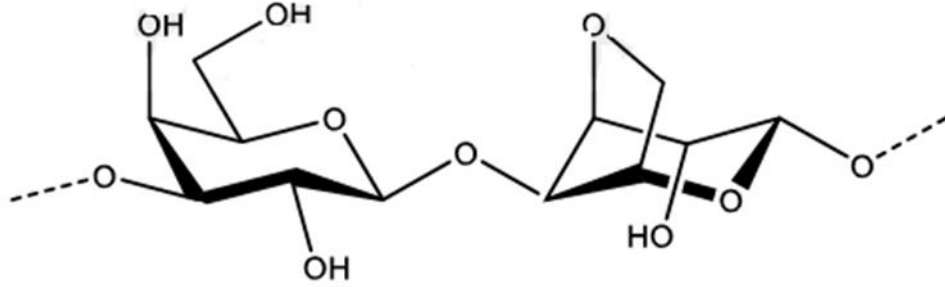
Kimyasal çapraz bağlı kitosa­n jel sentezinde ise glutaraldehit, diglisidiler, diizosiyanat, diakrilat gibi birçok difonksiyonel bileşik kullanılır (Bhattarai ve ark., 2010).

Kimyasal bağlı jeller başta mekanik dayanım olmak üzere birçok avantaja sahipken, biyoyumluluk açısından birçoğu uygun değildir.

Diğer bir polisakkarit olan Agar-agar, kırmızı alglerin veya deniz yosunlarının hücre duvarından elde edilen, β -1,3-D-galaktoz ve α -1,4-bağı 3,6-anhidro-L-galaktopiranoz birimlerinin bir araya gelerek düz zincir halinde dizilmesi ile oluşan hidrofilik bir polisakkarittir (Şekil 1.2). Farklı konformasyonları ve yan zincir süstitüsyonlarını içeren agaroz ve agaropektin kısımlarından oluşmaktadır. Agaroz nötral, yüksek şişme kapasitesine sahip bir polisakkaritken; agaropektin, sülfat ve pirüvat gibi asidik yan gruplar içeren düşük şişme kapasiteli bir polisakkarittir. Doğal polikasyonik bir polimer olan agar, 350 yıldan fazla süredir gıda alanında kullanılmaktadır (Imeson 2010; Lee ve ark., 2017).

Gıda sektöründe kullanımının yanı sıra ilaç, kozmetik, medikal, kimya, biyoteknoloji gibi çok sayıda endüstriyel alanda, jelleştirici, kıvam arttırıcı, su tutucu ve stabilize edici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, biyoyumlu ve biyobozunur olması, ucuz olması ve termotersinir olması agarı alternatifleri arasında avantajlı kılmaktadır (Ortiz ve ark., 2004; Boral ve ark., 2010; Blanco-Fernandez ve ark., 2011). Agar-agar ile yapılan kimyasal modifikasyonlar sonucu polisakkarit zincirlerinin kısalması (hidroliz) gibi moleküllerin yapısında değişiklikler olabilir. Bundan sonra agar daha önce olduğu gibi aynı jel kıvamını sağlayamaz. Agara reaktif eklenmesinde ortam

pH'sının 7.1-14 aralığında olması sağlandıktan sonra reaktif eklenmesi gerçekleştirilir (L'vovich 2015).



Şekil 1.2. Agar'ın kimyasal yapısı.

Kontrollü ilaç salınımı alanında hidrojellerden çokça yararlanılır. Özellikle çevreye duyarlı hidrojellerin ilaç salınımı, başta pH ve sıcaklık olmak üzere çevre şartlarının kontrolü ile kolayca ayarlanabilir (Ulusoy ve Dikmen, 2020).

Kitosanın biyoyumlu, biyobozunur olma vb. üstün özelliklerinden yararlanarak özellikle biyomedikal ve biyoteknolojik alanda çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu bağlamda en çok çalışılan alanlardan birini de ilaç salınım sistemleri oluşturmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları fiziksel çapraz bağlı kitosan ve kitosan türevlerinden oluşan hidrojeller ile ilgiliyken, bir kısmında da kimyasal çapraz bağlı kitosan hidrojelleri kullanılmıştır (Dai ve ark., 2008).

Hidrojeller, çok iyi su tutabilme sulu ortamda şişebilme yeteneklerinden dolayı; su saflaştırma, ağır metal, boyar madde uzaklaştırılması, gübre ve ilaçların çevreye denetimli salınımları, iyon değişim uygulamaları, kromatografik uygulamalar, çözücü ekstraksiyonu, petrol ve yağ içerikli endüstriyel atıklardan suyun uzaklaştırılması, telekomünikasyonda korozyonun önlenmesi gibi alanlarda adsorban olarak kullanılırlar (Rivas ve Geckeler, 1992; Rosso ve ark., 2003; Magnin ve ark., 2004).

Hidrojeller polimer ağına asılı olan grupların yapısına bağlı olarak anyonik ve katyonik olarak sınıflandırılabilir.

Anyonik hidrojeller genellikle karboksilik ya da sülfonik asit gruplarına sahiptir.

Katyonik pH duyarlı hidrojeller genellikle amin grupları içerir. $-NH_2$ grupları $-NH_3^+$ 'e dönüşerek hidrojinin şişme oranını arttıırırlar (Aguilar, 2007; Bajpai ve ark., 2011).

Anyonik ve katyonik hidrojelin asidik ve bazik çözelti içerisindeki davranış biçimi iyonik monomerlerin yüklerine, iyonlaşabilen grupların pKa değerlerine, iyonlaşma derecesine, ağ yapısındaki iyonlaşan grupların derişimine, çapraz bağ yoğunluğuna, polimer zincirlerinin yapısına, pH'ya, iyonik şiddete ve şişme ortamına bağlıdır.

Çapraz bağlı polimerlerin karakterizasyonu için birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler başlıca; spektroskopik, yapısal özellikler ve şişme özelliklerinden ibarettir. Çapraz bağlı polimerler uygun çözücü ortamına konulduğunda, çözücünün yapıya girmesi ile şişme başlar. Belirli bir süre sonra çözücünün jele girme hızı ile jelden salım hızı birbirine esit olur. Bu durum; en büyük şişme degerine ulaşıldığı denge durumudur (Peppas ve Mikos, 1986; Kim ve ark., 2004).

Şişme davranışı gösteren polimerlerin şişme özelliklerinin incelenmesi polimerin karakterizasyonu açısından önemlidir. Uygun bir çözücüye konulan polimerin kütleindeki ya da hacmindeki değişikliklerin zamanla değişimi izlenerek şişme eğrilerinin oluşturulur (Evmenenko ve ark.,1999; Dolbow ve ark., 2004).

% Şişme (% S); aşağıdaki eşitlik (1.1) ile hesaplanır.

$$\%S = \frac{mt-m_0}{m_0} \times 100 \quad (1.1)$$

Bu esitlikte m_0 ; başlangıçtaki kuru polimer kütlesi, mt ; t belirli bir süredeki şişmiş polimerin kütlesidir. Denge durumunda hidrojel en yüksek şişme değerine sahiptir (Üzüm ve Karadağ, 2011).

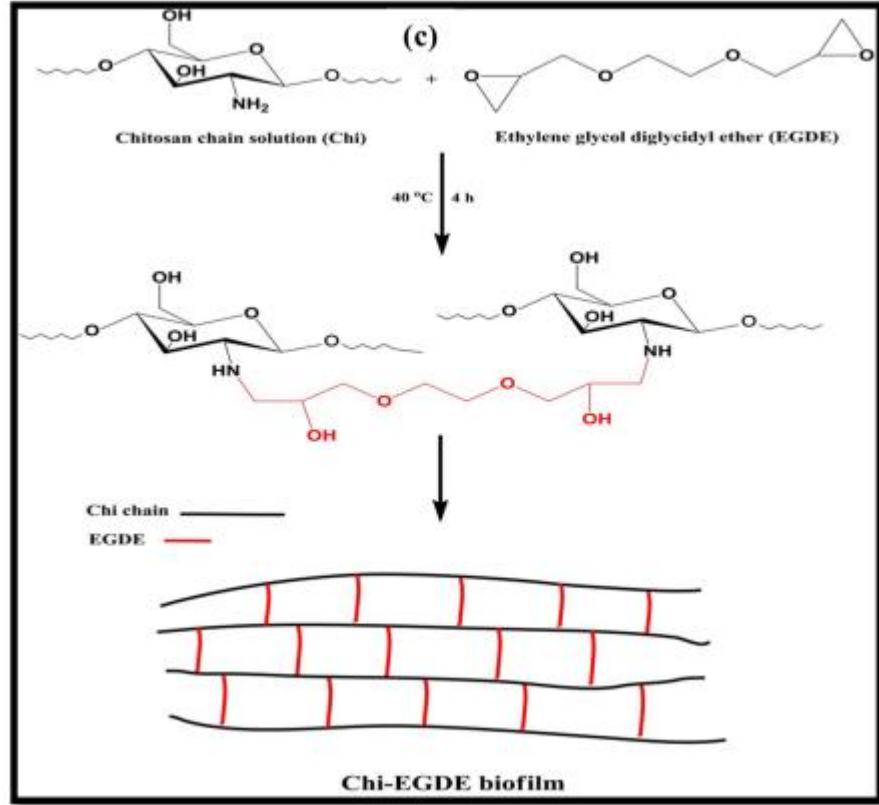
Çözücüyle dengede bulunan hidrojeller için dengede sıvı içeriği (DSI); (1.2) esitliği ile hesaplanır.

$$DSI = \frac{md-m_0}{md} \quad (1.2)$$

Esitlikte md ; dengedeki (şişmiş) polimerin kütlesini, m_0 ; kuru polimerin kütlesini göstermektedir (Saraydın ve ark., 2004).

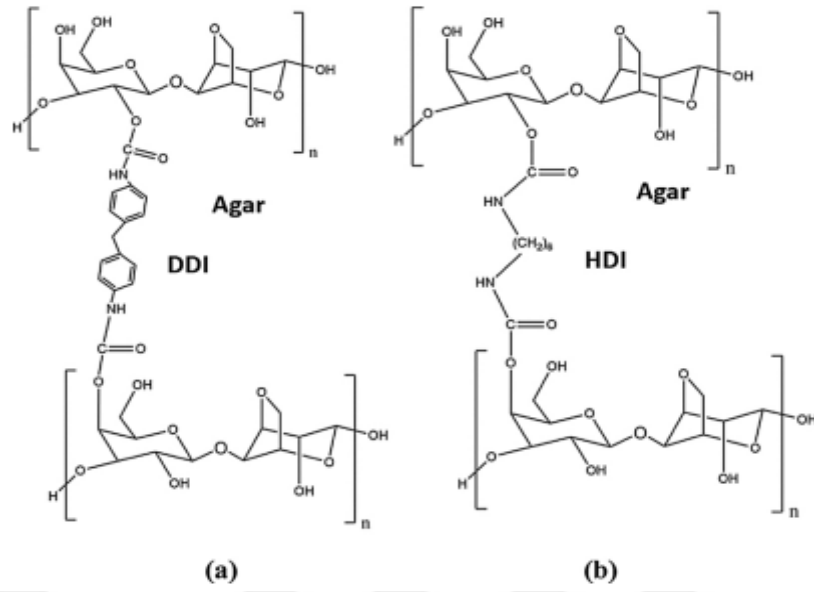
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Jawad ve ark., (2019) çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol diglisidil eter kullanarak çapraz bağlı kitosan biyofilm sentezlemişlerdir. Sentezlenen biyofilm red 120 ve metil oranj boyar maddelerinin uzaklaştırılması için kullanılmıştır. Sentezlenen biyopolimerler düşük şişme değerlerine sahip oldukları dolayısıyla atık sulardan boyar maddelerin uzaklaştırılmasında kullanılabileceği belirtilmiştir (Şekil 2.1.).



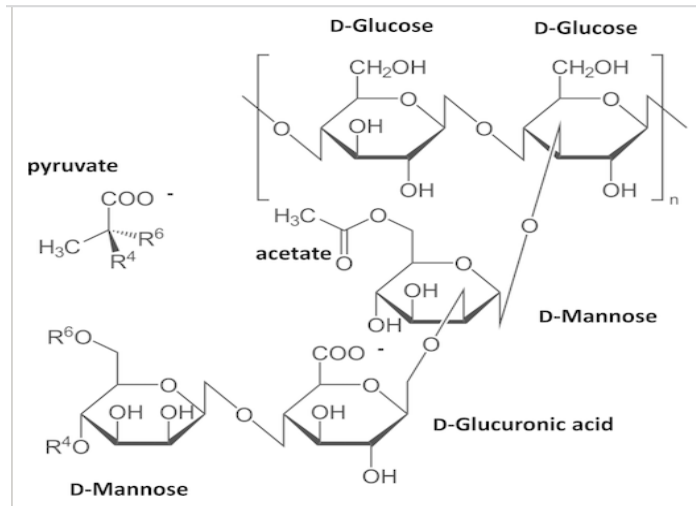
Şekil 2.1. Etilen glikol diglisidil eter ile çapraz bağlı kitosan

Sonker ve ark., (2018) agarın yüksek su emme özelliğini sınırlamak için diizosiyanat ile çapraz bağlı Agar türevlerini sentezlemişler. Bu çalışma sonucunda Agarın su tutma kapasitesinin çapraz bağlanma ile %206 dan %33.6 ve %43.6'lara kadar düştüğü belirtilmiştir. (Şekil 2.2.)



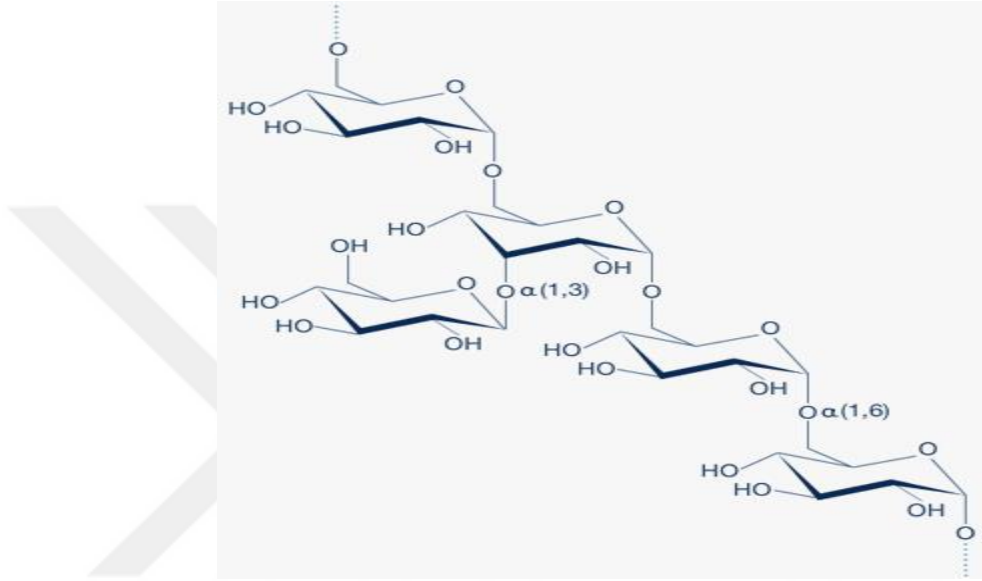
Şekil 2.2. Diizosiyanat ile çapraz bağlı Agar-agar

Argin ve ark., (2014) kitosanın xantahn ile fiziksel çapraz bağlı hirojellerini sentezlemiş bu hidrojel ile kaplı probiyotik bakterilerin hücrede salınım kinetikleri ve hidrojin şişme davranışları incelenmiştir. Bu çalışmada salınımın ilk iki saat çok yavaş olup ihmal edilebilecek seviyede olduğu, salınımın en az 5 saatte gerçekleştiği belirtilmiştir. Ksantan kitosan kapsüllerinin, deiyonize su içinde en az 3 gün boyunca stabil kaldığı belirtilmiştir (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Çapraz bağlı Kitosan-Xantahn

Cascone ve ark., (1999) kitosan ve dekstran hidrojellerini ilaç salınım sistemi olarak kullanmışlardır. Poli(vinil-alkol) (PVA), iki biyolojik polimer, sırasıyla dekstran ve kitosan ile farklı oranlarda harmanlanmıştır. Çalışmalarında insan büyüme hormonunun salınımını 3 haftaya kadar in vitro olarak çalışmış ve ölçmüşlerdir. Bu çalışmada, insan büyüme hormonunun hem dekstran/PVA hem de kitosan/PVA hidrojellerinden salınabileceğini belirtmişlerdir. (Şekil 2.4.)



Şekil 2.4. Dekstran yapısı

Altıok, (2018) Çörekotu yağı ile zenginleştirilmiş kitosan esaslı yenilebilir filmlerin gıda paketlenme uygulamasını çalışmıştır. Çalışmada asetik asit içinde hazırlanmış % 2'lik kitosan çözeltisine %0,5 ve %1 oranında film elde edilecek şekilde uçucu yağ eklenerek karıştırılmış ve petri kabı içinde kuruması için beklenerek film oluşumu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen filmlerin antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir.

Hernandez-ochoa ve ark., (2012) yenilebilir filmlerin hazırlanması için Kimyon karanfil ve Andızotu uçucu yağı ve ekstraktı içeren kitosan bileşikleri hazırlamışlardır. Bu hazırlanan türevlerin antimikrobiyal özellikleri incelenmiş ve bitki uçucu yağı ve özütlerinin kitosana eklenmesi ile gıda muhafazasında kullanılan filmlere alternatif olabilecek yenilebilir filmler ürettiklerini belirtmişlerdir.

Bajic ve ark., (2019) Meşe (*Quercus robur*), şerbetçiotu (*Humulus lupulus*) ve kahverengi alglerden (*Laminaria hyperborea*) elde edilen bitki özleri içeren kitosan bazlı

filmler hazırlamış ve bunları yapısal, fizikokimyasal ve antibakteriyel özellikler açısından birbirleriyle karşılaştırmışlardır.

Yusof ve ark., (2020). Gıda maddelerinin kaplanarak raf ömrünün uzatılmasında kullanılmak üzere Zerdeçal uçucu Yağı içeren kitosan-niştasta Yenilebilir Kaplama maddesini hazırlamışlardır.

Daldırma tekniği kullanılarak yenilebilir kaplamanın uygulanması, meyvelerin raf ömrünün uzatılmasındaki etkinlikleri için mikro yapı gözlemi, disk difüzyonu ve görünümü gibi çeşitli analizler yoluyla analiz edilmiş ve Mevcut çalışmaya dayanarak, zerdeçal ilaveli kitosan-niştastanın, meyvelerin raf ömrünü uzatmada büyük bir potansiyele sahip olduğuna belirtmişlerdir.

Şahiner ve ark., (2017) Potansiyel yara pansuman uygulamaları için Rosmarinik asit içeren Nutrient agar/kitosan ince hidrojel filmleri hazırlamışlardır. Hazırlanan filmlerin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda rosmarinik asit katılmasıyla Agar/kitosan hidrojel filmlerin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin arttığı ve açık yaralarda örtücü malzeme olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir.

Mahmoud Nasef ve ark., (2011) iyonik çapraz bağlı ve bağlı olmayan kitosan/agar blend hidrojelleri sentezlemiş ve bunları karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda çapraz bağlanmamış kitosan/agar filmlerin, saf kitosan filmlerinden daha düşük şişme oranına, erime sıcaklığına ve daha az elastik özelliklere sahip olduğunu, saf agar filmler ile karşılaştırıldığında ise bu değerlerin Agardan daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

CaCl_2 ile Çapraz bağlı filmlerin, hidrojel stabilitesini korurken, şişme ve erime sıcaklığında azalma gösterdiğini belirtmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

- kitosan (Aldrich) deasetilasyon derecesi: %75
- Agar-agar (Merck)
- Asetik asit (Sigma Aldrich)
- DMSO (Merck)
- Etanol (Merck)
- THF (tetrahidrofuran) (Merck)
- NaOH (Merck)
- Bis fenol A diglisidil eter
- Aseton (Sigma Aldrich)
- Etanol (Merck)
- Trietilamin (Sigma-Aldrich)
- THF (tetrahidrofuran) (Merck)
- NaOH (Merck)
- HCl (merck)
- Folin-Ciocalteau's phenol reagent (FC, Sigma-Aldrich),
- 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH,Aldrich),
- Gallic acid (GA, 97.5-102.5%, Aldrich)
-

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Isıtıcıli Magnetik Karıştırıcı: Are marka cihaz.
- Vakumlu Etüv: Nüve EV018 marka cihaz.
- İnfrared (IR) Spektrofotometresi: Perkin Elmer Spektrum Two (U-ATR).
- Elementel Analiz Cihazı: THERMO SCIENTIFIC Flash 2000
- TGA-DTA Cihazı: Setaram Labsys Termogravimetri Analiz ve Diferansiyel Termal Analiz Sistemi .
- Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM): JEOL 5500 / OXFORD Inca-X
- UV Spektrofotometre (PG instrument UVWin 5)

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkinin Hazırlanması

Sarı kantaron (*Hypericum perforatumun*) örnekleri Haziran ayında kayabaşı köyü İslahiye Gaziantep bölgesi 1002 rakımdan toplandı. Kapalı ortamda oda sıcaklığında kurutulduktan sonra Privileg (50502) öğütücü de öğütüldü. Daha sonra bu bitki örneklerini karakterize etmek için sırasıyla nem, uçucu yağ ve trigliserit miktar tayini yapıldı ayrıca fenolik madde miktar tayini ve antioksidan özelliğinin incelenmesi için metanol ektstraktları hazırlandı.

3.2.1.1. Nem Miktar Tayini

Toz haline getirilmiş sarı kantaron örnekleri Hassas bir şekilde tartılarak 6 saat süreyle 105 °C'lik etüvde bekletildi. İlk tartım ve son tartım arasındaki farktan nem miktarı hassas bir şekilde hesaplandı.

3.2.1.2. Uçucu Yağ Miktar Tayini

Hassas bir şekilde tartılmış olan sarı kantaron örneklerinin 5 saat süreyle cleverger cihazı kullanılarak uçucu yağları elde edildi. Ekstraksiyon sonunda elde edilen uçucu yağ tartılarak uçucu yağ analizi için saklandı.

Uçucu yağ bileşimi Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yaptırılmıştır (MEİTAM). Analizde Agilent GC-MS Model: 7890A cihaz kullanılmıştır. Dedektör olarak kütle spektroskopisi dedektörü (MSD) kullanılmıştır. Analiz sıcaklık programı, fırın sıcaklığı önce 45°C'de 5 dakika sabit sonra sıcaklığın 2°C/dk hızla 130°C'ye, ardından 3°C/dk hızla 170°C'ye, 10°C/dk hızla 220°C'de yükseltmesi ve en son 220°C'de 5 dakika bekletilerek sonlandırılması şeklinde yapılmıştır.

3.2.1.3. Sabit Yağ Tayini

Sarı kantaron örneklerinin sabit yağ tayini soxhlet ekstraksiyonu ile gerçekleştirildi. Bunun için hassas bir şekilde tartılmış olan örnekler soxhlet aparatına yerleştirildi ve çözücünün kaynama sıcaklığında 4 saat süreyle ekstrakte edildi. Ekstraksiyon için hekzan çözücüsü kullanıldı. Süre sonunda hekzan döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Hekzanda çözünen madde miktarı kuru madde üzerinden %6,36 olarak hesaplandı. Hekzanda çözünen kısımdaki sabit yağ bileşiminin tayini için GC-FID analizi için buzdolabında bekletildi.

Sabit yağ bileşimi Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında (HMKÜ-MARGEM) yaptırılmıştır. Kantaron bitkisinin yağ asitleri alev iyonizasyon dedektörü (FID) (Shimadzu GC-2025, Japonya), otomatik enjektör (Shimadzu AOC-20i, Japonya) ile donatılmış Gaz Kromatografisi ile Restek Rt-2560 kolonu (100 m uzunluk, 0.25 mm ID x 0.20 µm). kullanılarak analiz edilmiştir. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları 250 °C'de sabit tutulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılmış olup gaz akışı 1.20 ml/dk'dır. Enjeksiyon modu split olup split oranı 1:50 ve toplam enjeksiyon hacmi 1 µL'dir. Çalışma programı İlk fırın sıcaklığı 2 dakika 100 °C de sabit ve daha sonra 4 °C/dakika artırılarak 250 °C'ye (15 dakika sabit) kadar artırıldı. Yağ asitlerinin doğrulanması için, belirlenen numune piklerinin alıkonma süreleri dahili standart (FAME Mix, Restek, ABD) ile karşılaştırıldı.

3.2.1.4. Sarı Kantaron (*Hypericum perforatumun*) Metanol Ekstraktının Hazırlanması

Elde edilen sarı kantaron örneği metanol ile ekstrakte etmeden önce var olan apolar bileşenlerin ve yağının uzaklaştırılması için petrol eteri ile oda sıcaklığında yağı uzaklaştırıldı ve geri kalan kısımdan metanol çözücüsü kullanılarak metanol ekstraktı elde edildi.

Apolar bileşenlerin ve yağın uzaklaştırılması için 50g örnek üzerine oda sıcaklığında her defasında 100ml petrol eteri eklenerek çalkalandı ve petrol eteri süzülerek ayrıldı bu işlem üç defa tekrarlandı. Apolar bileşenleri ve yağı uzaklaştırılmış örneğin metanol ekstraktı yine aynı koşullarda oda sıcaklığında 50g örnek üzerine her

defasında 100 ml metanol kullanılarak üç defa tekrarlandı ve metanol ekstraktları birleştirildi. metanol döner buharlaştırıcıda vakum uygulanarak 40 °C’de uzaklaştırıldı ve kalıntı metanol ekstresi olarak etiketlendi.

3.2.1.5. DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Tayini

DPPH (1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil)Radikal Süpürücü Aktivite Tayini Brand–Williams ve ark., (1995)’e göre biraz değişiklik yapılarak yapıldı. Bu yöntemde DPPH serbest radikalın karakteristik mor renginin ortamdaki antioksidan etkiye sahip bileşikler tarafından meydana gelen renk değişiminin UV spektrofotometre ile ölçülmesi esasına dayanmaktadır. 0,06g hidrojel öğütülüp üzerine 2ml metanol eklendi ve ultrasonik banyoda 30s süre ile ayrıca oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra üzerine 6×10^{-5} M DPPH ın etanoldeki çözeltisinden 1,8 mL eklendi ve vorteks ile şiddetle çalkalandı. 30 dakika karanlıkta bekletilip 517 nm’de absorbans okundu. Ölçümler üç tekrarlı yapıldı ve sonuçların ortalaması alındı. Standart olarak BHT kullanıldı. Serbest radikal temizleyici etkisi DPPH absorpsiyonunun %inhibisyonu olarak belirtilmiştir.

Antioksidan aktivite absorbansla ters orantılı olup Absorbans ne kadar düşükse antioksidan aktivite o kadar yüksek demektir. Yüzde inhibisyon aşağıdaki (3.1) formül kullanılarak hesaplandı:

$$\%İnhibisyon = 100 \times \left(1 - \frac{\text{Örnek çözelti Absorbansı}}{\text{Kör çözelti Absorbansı}}\right) \quad (3.1)$$

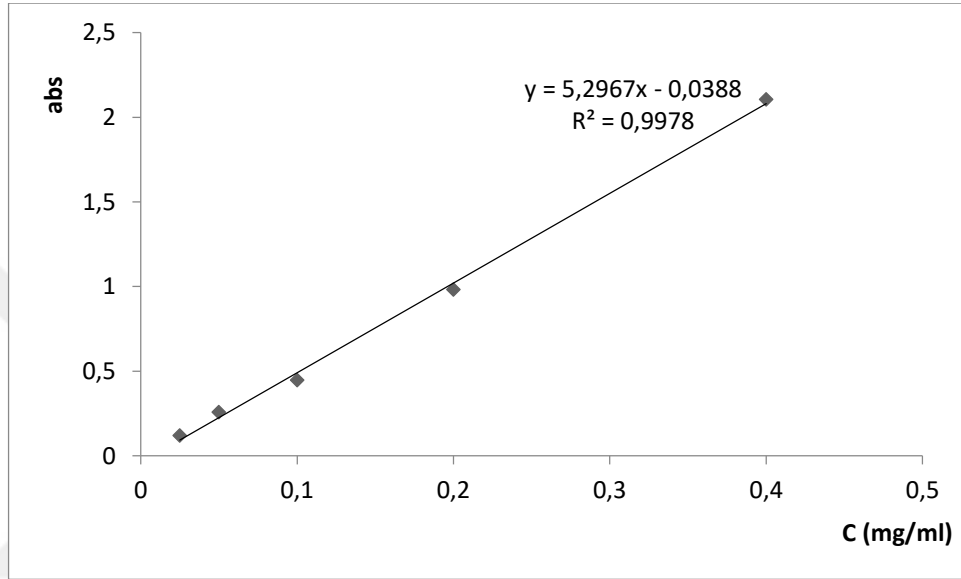
Aynı işlemler pozitif kontrol olarak kullanılan sentetik antioksidan olan bütillenmiş hidroksi tolueen (BHT) için tekrarlanmıştır.

3.2.1.6. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini (FOLIN CIOCALTEAU)

Toplam fenolik madde miktarı tayini, Singleton et al. (1999)’a göre biraz değişiklik yapılarak yapıldı. 0,008 g ağırlığındaki hidrojel öğütülerek üzerine 1ml metanol eklendi ve ultrasonik banyoda 30 saniye süre ile ayrıca oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra çözeltiden 0,25ml alınarak üzerine 1.25 ml %10’luk Folin Ciocalteu (FC) reaktif

çözeltisi eklendi ve vortekslendi. 4 dakika sonra bu karışıma 3,75 ml %10'luk Na_2CO_3 çözeltisi ilave edildi. 2 saat inkübasyondan sonra, absorbans UV-Vis spektrofotometre ile 665 nm'de kaydedildi. Bu tayinde fenolik bileşik olan gallik Gallik asit standart madde olarak kullanıldı.

Gallik asit standardı ile çizilen standart grafik (Şekil 3.1.) yardımı ile örneklerdeki toplam fenolik bileşik miktarı gallik aside eşdeğer (GAE) olarak hesaplandı.



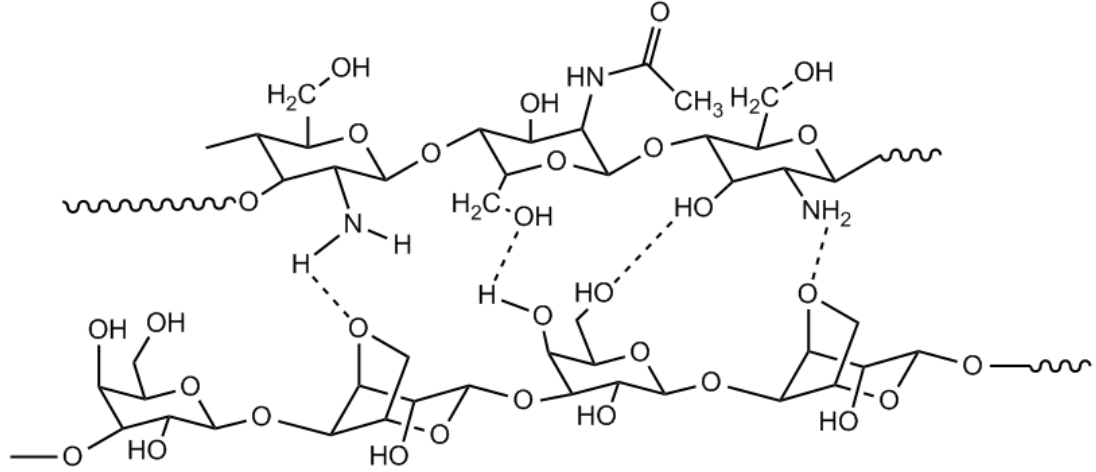
Şekil 3.1. Gallik asit standart grafiği

3.2.2. Kitosan/Agar-Agar Türevlerinin Hazırlanması

Kitosan/Agar-agar türevleri belli orandaki kitosan ve Agar-agar'ın blend ve çapraz bağlayıcı kullanılarak çapraz bağlı olmak üzere iki şekilde hazırlandılar. Bunun için kitosan ve Agar-agar'ın stok çözeltileri hazırlandı. Kitosan stok çözeltisi 10,0g Kitosan %1'lik 1000ml asetik asit çözeltisinde 60°C'de homojen bir karışım elde edilene kadar 4 saat süreyle karıştırıldı ve daha sonra kullanılmak üzere ağzı kapalı bir şekilde karanlık bir ortamda bekletildi. Agar agar stok çözeltisi için 2g Agar-agar 1N 500ml NaOH çözeltisinde çözülerek hazırlandı ve daha sonra kullanılmak üzere ağzı kapalı bir şekilde karanlık bir ortamda saklandı.

3.2.2.1. Blend Kitosan/Agar-Agar Sentezi

Çalışmamızın bu kısmında kitosan/Agar-agar oranı kütlece % 12, 9, 6 ve 3 olmak üzere dört farklı oran çalışılmıştır. Bunlar B1, B2, B3 ve B4 olarak kodlanmıştır.



Şekil 3.2. Blend kitosan/Agar-agar yapısı

3.2.2.1.1 Blend %12 Kitosan/Agar-agar (B1)

B1 için kütlece %12'lik kitosan/Agar-agar karışımı hazırlamak için 100ml %1lik kitosan çözeltisi geri soğutucu altında kaynatıldı daha sonra üzerine % 0,4'lük 34ml Agar çözeltisinden eklendi, karışım 4 saat süreyle yavaş yavaş kaynamasına izin verildi. Süre sonunda soğuması için beklendi. Soğuyan karışım petri kaplarına dökülerek 50 °C'deki etüvde kurutuldu. Kuruyan jeller saf su ile hızlıca üç defa yıkandı ve 50 °C'deki etüvde tekrar kurutuldu.

Kitosan türevi elementel analiz, FT-IR, TGA, ve SEM ile karakterize edildi.

IR(ATR), $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3100-3500 (geniş OH), 2800–3050 (C-H alifatik), 1653(primer NH), 1400-1550 (C-H alifatik), 1149 (eterC-O-C).

Elementel Analiz (kitosan) : C: 40,95; H: 6,96;N: 7,41; C/N: 5,53

Elementel Analiz (Agar Agar): C: 44,14; H: 6,33; N: -

Elementel Analiz (B1) : C: 40,80; H: 6,40;N: 5,94; C/N: 6,87

3.2.2.1.2. Blend %9 Kitosan/Agar-agar (B2)

B2 için kütlece %9'luk kitosan agar karışımı hazırlamak için 100ml %1lik kitosan çözeltisi geri soğutucu altında kaynatıldı daha sonra üzerine % 0,4'l k 25ml Agar çözeltisinden eklendi. Ortamdaki asetik asit sodyum hidroksit oranını sağlamak için karışım ortamına 9ml 1N NaOH   zeltisi eklenerek toplam hacim B1 'deki gibi 134ml olması sağlanmıştır. Karışım 4 saat süreyle yavaş yavaş kaynatıldı. Süre sonunda soğuması için beklendi. Soğuyan karışım petri kaplarına dökülerek 50 C'deki etüvde kurutuldu. Kuruyan jeller saf su ile hızlıca üç defa yıkandı ve 50  C'deki etüvde tekrar kurutuldu.

Kitosan türevi elementel analiz, FT-IR, TGA, ve SEM ile karakterize edildi.

IR(ATR), $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3100-3500 (geniş OH), 2800–3050 (C-H alifatik), 1644((primer NH)), 1400-1550 (C-H alifatik), 1144 (eterC-O-C).

Elementel Analiz (kitosan) : C: 40,95; H: 6,96;N: 7,41; C/N: 5,53

Elementel Analiz (Agar Agar): C: 44,14; H: 6,33; N: -

Elementel Analiz (B1) : C: 41,13; H: 6,72;N: 6,12; C/N: 6,72

3.2.2.1.3. Blend %6 Kitosan/Agar-agar (B3)

B3 için kütlece %6'luk kitosan agar karışımı hazırlamak için 100ml %1lik kitosan çözeltisi geri soğutucu altında kaynatıldı daha sonra üzerine % 0,4'l k 16ml Agar çözeltisinden eklendi. Ortamdaki asetik asit sodyum hidroksit oranını sağlamak için karışım ortamına 18ml 1N NaOH   zeltisi eklenerek toplam hacim B1 'deki gibi 134ml olması sağlanmıştır. Karışım 4 saat süreyle yavaş yavaş kaynatıldı. Süre sonunda soğuması için beklendi. Soğuyan karışım petri kaplarına dökülerek 50 C'deki etüvde kurutuldu. Kuruyan jeller saf su ile hızlıca üç defa yıkandı ve 50  C'deki etüvde tekrar kurutuldu.

Kitosan türevi elementel analiz, FT-IR, TGA, ve SEM ile karakterize edildi.

IR(ATR), $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3100-3500 (geniş OH), 2800–3050 (C-H alifatik), 1644 (primer NH)), 1400-1550 (C-H alifatik), 1144 (eterC-O-C).

Elementel Analiz (kitosan) : C: 40,95; H: 6,96;N: 7,41; C/N: 5,53

Elementel Analiz (Agar Agar): C: 44,14; H: 6,33; N: -

Elementel Analiz (B1) : C: 41,13; H: 6,70;N: 6,71; C/N: 6,13

3.2.2.1.4. Blend %3 Kitosan/Agar-agar (B4)

B4 için kütlece %3'lük kitosan agar karışımı hazırlamak için 100ml %1lik kitosan çözeltisi geri soğutucu altında kaynatıldı daha sonra üzerine % 0,4'lük 8ml Agar çözeltisinden eklendi. Ortamdaki asetik asit sodyum hidroksit oranını sağlamak için karışım ortamına 26ml 1N NaOH çözeltisi eklenerek toplam hacim B1 'deki gibi 134ml olması sağlanmıştır. Karışım 4 saat süreyle yavaş yavaş kaynatıldı. Süre sonunda soğuması için beklendi. Soğuyan karışım petri kaplarına dökülerek 50°C'deki etüvde kurutuldu. Kuruyan jeller saf su ile hızlıca üç defa yıkandı ve 50°C'deki etüvde tekrar kurutuldu.

Kitosan türevi elementel analiz, FT-IR, TGA, ve SEM ile karakterize edildi.

IR(ATR), $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3100-3500 (geniş OH), 2800–3050 (C-H alifatik), 1644 (primer NH), 1400-1550 (C-H alifatik), 1144 (eter C-O-C).

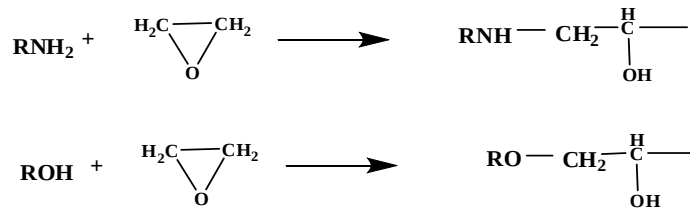
Elementel Analiz (kitosan) : C: 40,95; H: 6,96; N: 7,41; C/N: 5,53

Elementel Analiz (Agar Agar): C: 44,14; H: 6,33; N: -

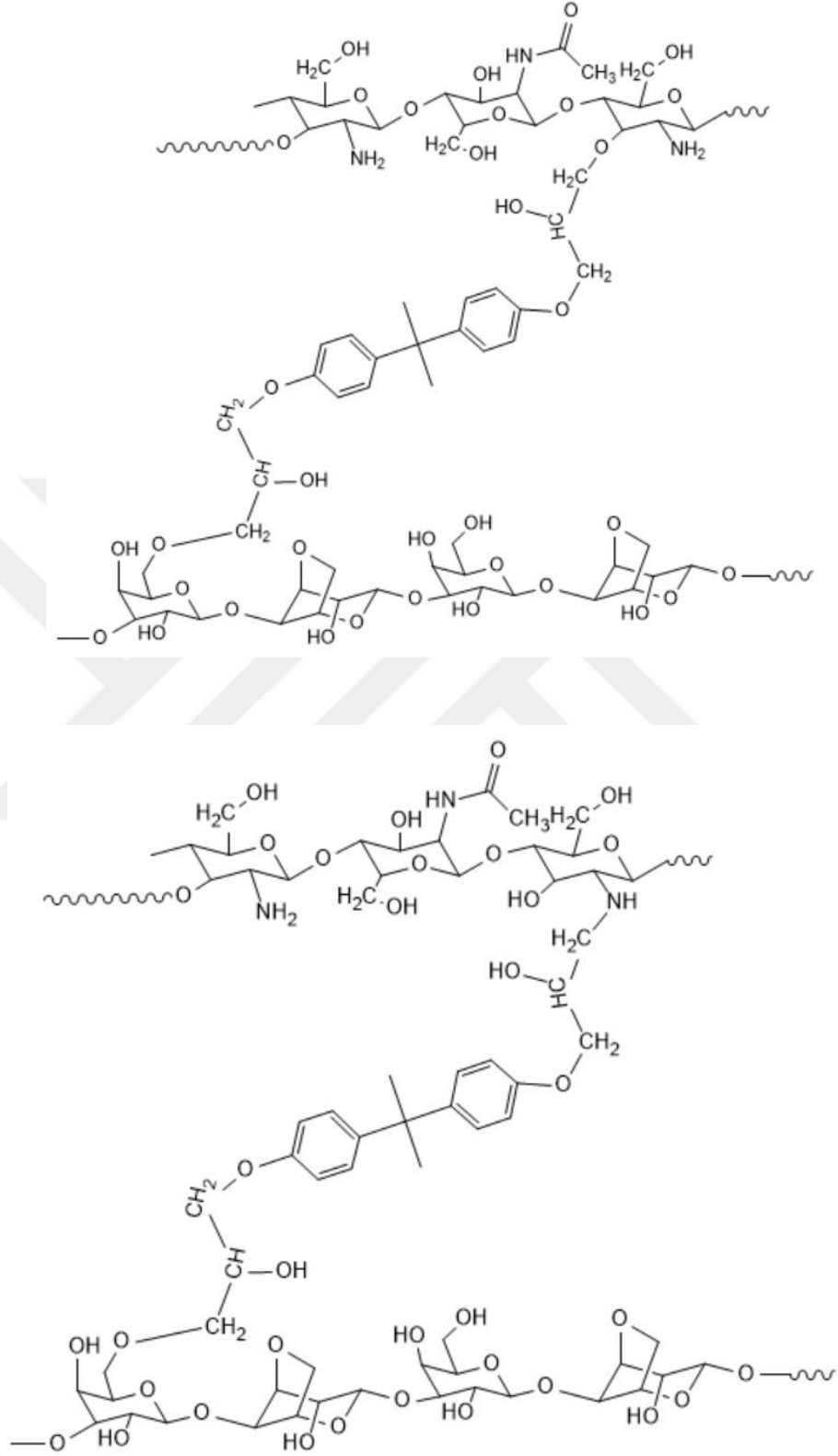
Elementel Analiz (B1) : C: 41,01; H: 6,81; N: 7,17; C/N: 5,72

3.2.2.2. Çapraz Bağlı Kitosan/Agar-agar Sentezi

Çapraz bağlı kitosan/Agar-agar hidrojel hazırlanmasında IPN hidrojel hazırlanmasında kullandığımız kütlece % 12, 9, 6, ve 3 oranları çalışılmıştır. Bunlar C1, C2, C3 ve C4 olarak kodlanmıştır. Çapraz bağlayıcı olarak %1 oranında Bisfenol A diglisidil eter kullanılmıştır. Çapraz bağlanma, Agar-agar hidroksi grupları ile kitosan'ın hidroksi ve amin grupları arasında gerçekleşmekte olup kitosanın hidroksi ve amin grupları sterik etkiye bağlı olarak bir yarış halinde reaksiyona girerler (Shechter ve ark., 1956).



Şekil 3.3. Glisidil eterlerin amin ve alkollerle reaksiyonu



Şekil 3.4. Bisfenol A diglisidil eter ile çapraz bağlı Kitosan/Agar-agar muhtemel yapısı

3.2.2.2.1. Çapraz Bağlı %12 Kitosan/Agar-agar (C1)

C1'i hazırlamak için 100ml %1lik kitosan çözeltisi geri soğutucu altında kaynatıldı daha sonra üzerine %0,4'lük 34ml Agar çözeltisi ve hemen arkasından çapraz bağlayıcı olarak bisfenol A diglisidil eter eklendi, karışım 4 saat süreyle kaynatıldı. Süre sonunda soğuması için beklendi. Soğuyan karışım petri kaplarına dökülerek 50°C'deki etüvde kurutuldu. Kuruyan jeller saf su ile hızlıca üç defa yıkandı ve vakum etüvünde 50°C'de tekrar kurutuldu.

Kitosan türevi elementel analiz, FT-IR, TGA, ve SEM ile karakterize edildi.

IR(ATR), $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3100-3500 (geniş OH), 2800–3050 (C-H aromatik ve alifatik), 1647 (primer NH), 1504 (Aromatik C=C), 1400-1550 (C-H alifatik), 1239 (eterC-O-aromatik) 1177 ve 1141 (eterC-O-C), 825 1,4 disubstitue benzen.

Elementel Analiz (kitosan)	: C: 40,95; H: 6,96;N: 7,41; C/N: 5,53
Elementel Analiz (çapraz bağlı kitosan)	: C: 40,34; H: 5,71;N: 3,97; C/N: 10,16
Elementel Analiz (Agar Agar)	: C: 44,14; H: 6,33; N: -
Elementel Analiz (çapraz bağlı Agar Agar)	: C: 56,80; H: 6,95; N: -
Elementel Analiz (C1)	 : C: 39,86; H: 6,48;N: 3,46; C/N: 11,53

3.2.2.2.2. Çapraz Bağlı %9 Kitosan/Agar-agar (C2)

C2 için kütlece %9'luk kitosan agar karışımı hazırlamak için 100ml %1lik kitosan çözeltisi geri soğutucu altında kaynatıldı daha sonra üzerine % 0,4'lük 25ml Agar çözeltisinden ve hemen arkasından bisfenol A diglisidil eter ve 9ml 1N Na OH çözeltisi eklendi, karışım 4 saat süreyle kaynatıldı. Süre sonunda soğuması için beklendi. Soğuyan karışım petri kaplarına dökülerek 50°C'deki etüvde kurutuldu. Kuruyan jeller saf su ile hızlıca üç defa yıkandı ve vakum etüvünde 50°C'de tekrar kurutuldu.

Kitosan türevi elementel analiz, FT-IR, TGA, ve SEM ile karakterize edildi.

IR(ATR), $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3100-3500 (geniş OH), 2800–3050 (C-H aromatik ve alifatik), 1650 (primer NH), 1507 (Aromatik C=C), 1400-1550 (C-H alifatik), 1241 (eterC-O-aromatik) 1180ve 1146 (eterC-O-C), 825 1,4 disubstitue benzen.

Elementel Analiz (kitosan)	: C: 40,95; H: 6,96;N: 7,41; C/N: 5,53
----------------------------	--

Elementel Analiz ( apraz bağlı kitosan) : C: 40,34; H: 5,71;N: 3,97; C/N: 10,16
Elementel Analiz (Agar Agar) : C: 44,14; H: 6,33; N: -
Elementel Analiz ( apraz bağlı Agar Agar): C: 56,80; H: 6,95; N: -
Elementel Analiz (C2) : C: 39,70; H: 5,77;N: 3,66; C/N: 10,83

3.2.2.2.3. Çapraz Bağlı %6 Kitosan/Agar-agar (C3)

C3 için kütlece %6'luk kitosan agar karışımı hazırlamak için 100ml %1lik kitosan çözeltisi geri soğutucu altında kaynatıldı daha sonra üzerine % 0,4'l k 16ml Agar çözeltisinden, ardından 18ml 1N Na OH   zeltisi ve bisfenol A diglisidil eter eklendi, karışım 4 saat süreyle kaynatıldı. Süre sonunda soğuması için beklendi. Soğuyan karışım petri kaplarına dökülerek 50 C'deki etüvde kurutuldu. Kuruyan jeller saf su ile hızlıca üç defa yıkandı ve vakum etüvünde 5 C'de tekrar kurutuldu.

Kitosan türevi elementel analiz, FT-IR, TGA ve SEM ile karakterize edildi.

IR(ATR), $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3100-3500 (geniş OH), 2800–3050 (C-H aromatik ve alifatik), 1650(primer NH), 1504 (Aromatik C=C), 1400-1550 (C-H alifatik), 1241 (eterC-O-aromatik) 1180 ve 1142 (eterC-O-C), 825 1,4 disubstitue benzen.

Elementel Analiz (kitosan) : C: 40,95; H: 6,96;N: 7,41; C/N: 5,53
Elementel Analiz ( apraz bağlı kitosan) : C: 40,34; H: 5,71;N: 3,97; C/N: 10,16
Elementel Analiz (Agar Agar) : C: 44,14; H: 6,33; N: -
Elementel Analiz ( apraz bağlı Agar Agar): C: 56,80; H: 6,95; N: -
Elementel Analiz (C3) : C: 41,04; H: 5,86;N: 3,94; C/N: 10,42

3.2.2.2.4. Çapraz Bağlı %3 Kitosan/Agar-agar (C4)

C4 için kütlece %3'luk kitosan agar karışımı hazırlamak için 100ml %1lik kitosan çözeltisi geri soğutucu altında kaynatıldı daha sonra üzerine % 0,4'l k 8ml Agar   zeltisi, 26ml 1N Na OH   zeltisi ve arkasından çapraz bağlayıcı eklendi, karışım 4 saat süreyle kaynatıldı. Süre sonunda soğuması için beklendi. Soğuyan karışım petri kaplarına dökülerek 50 C'deki etüvde kurutuldu. Kuruyan jeller saf su ile hızlıca üç defa yıkandı ve vakum etüvünde 50 C'de tekrar kurutuldu.

Kitosan türevi elementel analiz, FT-IR, TGA, ve SEM ile karakterize edildi.

IR(ATR), $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3100-3500 (geniş OH), 2800–3050 (C-H aromatik ve alifatik), 1650 (primer NH), 1496 (Aromatik C=C), 1400-1550 (C-H alifatik), 1241 (eterC-O-aromatik) 1177 ve 1144 (eterC-O-C), 822 1,4 disubstitue benzen.

Elementel Analiz (kitosan)	: C: 40,95; H: 6,96; N: 7,41; C/N: 5,53
Elementel Analiz (çapraz bağlı kitosan)	: C: 40,34; H: 5,71; N: 3,97; C/N: 10,16
Elementel Analiz (Agar Agar)	: C: 44,14; H: 6,33; N: -
Elementel Analiz (çapraz bağlı Agar Agar)	: C: 56,80; H: 6,95; N: -
Elementel Analiz (C4)	: C: 41,27; H: 5,72; N: 4,07; C/N: 10,19

3.2.2.2.5. Metanol Ekstraktı İçeren Hidrojellerin Hazırlanması:

Metanol ekstraktı içeren hidrojellerin sentezinde B1, B3, C1 ve C3 hidrojelleri kullanılmıştır. Hidrojellerin hazırlanması sırasında kurutma aşamasından önce çözelti ortamına hidrojelin %5'i oranında metanol ekstraktı eklendi ve 50°C'deki etüvde kurutuldu

3.2.3. Kitosan Türevlerinin Şişme Davranışları:

Blend ve çapraz bağlı olarak hazırlamış olduğumuz hidrojellerin 25 ve 37°C'de 0,1 molarlık pH 4,0; 7,0 ve 10,0' tampon çözeltilerindeki şişme davranışları çalışılmıştır. Tampon çözeltilerinin hazırlanmasında pH4 için $\text{CH}_3\text{COONa}/\text{CH}_3\text{COOH}$, pH7 için $\text{H}_2\text{PO}_4/\text{HPO}_4^-$ ve pH10 için $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ ikili karışımları kullanılmıştır. Türevlerden 0,0001 g duyarlılıkla örnekler tartılarak $\pm 0,1^\circ\text{C}$ hassasiyetteki su banyosunda, içerisinde uygun tampon çözeltisi ortamına bırakılmıştır. Hidrojelin bırakıldığı an $t=0$ olarak alınmış ve belirli zaman aralıklarında çözeltilerden çıkarılan hidrojel dış yüzeyindeki fazla sıvı kurularak tartılmıştır. Hidrojelin çözelti içindeki davranışına bağlı olarak bu işlem belli bir süre sonra sonlandırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu çalışmada Gaziantep ili İslahiye ilçesine bağlı 1002 rakımlı Kayabaşı bölgesinden kantaron örneği toplanmış toplanan örnek açık havada, oda sıcaklığında kurutulmuş daha sonra sırasıyla nem miktar tayini, uçucu yağ tayini, sabit yağ tayini yapılmış ayrıca antioksidan özelliklerinin belirlenmesi için metanol ekstraktı elde edilmiştir.

Bu çalışmamızın amacına uygun olarak kitosan/Agar-agar hidrojelleri blend ve çapraz bağlı olarak farklı oranlarda çalışılmış ve Sentezlenen bileşiklerin yapıları; elementel analiz (C, H, N), FT-IR, SEM, TGA-DTA analiz teknikleri ile aydınlatılmaya çalışılmıştır

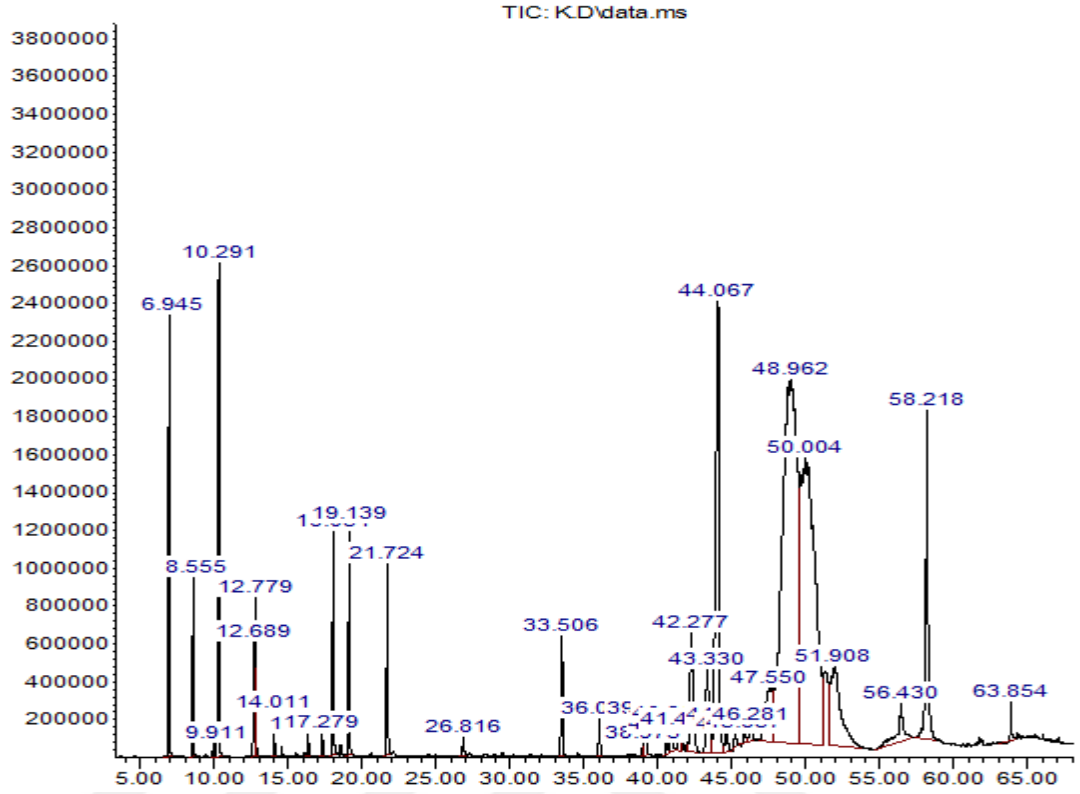
Jel özelliğine sahip kitosan türevlerinin su tutma kapasitelerinin belirlenmesi için şişme deneyleri farklı sıcaklık ve pH ortamında gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen çapraz bağlı kitosan türevlerine belli oranda kantaron bitkisinin metanol ekstraktı eklenerek, kantaron metanol ekstraktı ile hidrojele tutturulmuş kantaronun antioksidan özellikleri karşılaştırılmıştır.

4.1. Sarı Kantaron (*H. Perforatum*) Bitkisinin Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi

Oda sıcaklığında ve kapalı ortamda kurutulup öğütülen sarı kantaron bitkisi nem miktar tayininde %nem miktarı %55 olarak hesaplandı. Bundan sonraki yapılan işlemlerdeki hesaplamalar kuru madde miktarı üzerinden yapılmıştır. Clevenger aparatı kullanılarak yapılan uçucu yağ miktar tayini işlemi sonucunda uçucu yağ miktarı kuru madde üzerinden %0,26 olarak hesaplandı. Uçucu yağın GC-MS analizi sonucunda elde edilen spektrumu (Şekil 4.1.) ve bileşimi (Çizelge 4.1.) aşağıdaki gibidir.

Abundance



Şekil 4.1. Sarı kantaron uçucu yağ spektrumu

Uçucu yağ bileşiminde en fazla (%3,29) 2-Methyloctane, (%3,51) Alpha.-Pinene, (%2,25) Beta- Elemene, (%8,29) Beta-Caryophyllene, (%2,46) Trans-Beta-Farnesene, (%32,17) Alpha-Amorphen, (%23,24) Alpha-Selinene, (%4,68) Delta-Cadinene, (%4,44) 2-Tetradecene olmak üzere 34 uçucu yağ bileşeni belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Sarı kantaron uçucu yağ bileşimi

Pik no:	Alıkonma zamanı	% oranı	Bileşimi	Cas. No
1	6.947	3.29	2-Methyloctane	003221-61-2
2	8.555	0.97	n-Nonane	000111-84-2
3	9.908	0.08	Alpha-Phellandrene	001529-99-3
4	10.288	3.51	Alpha.-Pinene	007785-26-4
5	12.686	0.80	2,6-Dimethyloctane; Myrcane	002051-30-1
6	12.781	0.89	Beta.-Pinene	000127-91-3
7	14.010	0.28	Beta.-Myrcene	000123-35-3
8	16.318	0.16	Beta-Phellandrene	000000-00-0
9	17.280	0.17	Cis-Ocimene	006874-10-8
10	18.034	1.75	Beta. Ocimene	003338-55-4
11	19.138	2.06	2-Methyl-Decane	006975-98-0
12	21.726	1.67	Undecane	001120-21-4
13	26.818	0.17	Decanal; Capraldehyde	000112-31-2
14	33.507	1.01	2-Methyl-6-Propyldodecane	055045-08-4
15	36.030	0.31	Tridecane	000629-50-5
16	38.974	0.10	Alpha.-Longipinene	005989-08-2
17	39.152	0.37	Alpha-Cubebene	017699-14-8
18	40.570	0.20	Alpha-Ylangene	014912-44-8
19	40.903	0.34	Alpha-Copaene	003856-25-5
20	41.466	0.26	Beta-Bourbonene	005208-59-3
21	42.279	2.25	Beta- Elemene	000515-13-9
22	43.330	1.52	Beta-Funebrene	079120-98-2
23	44.066	8.29	Beta-Caryophyllene	000087-44-5
24	44.606	0.43	Germacrene-D	023986-74-5
25	45.206	0.19	(+)-Aromadendrene	000489-39-4
26	45.835	0.14	Longicyclene	001137-12-8
27	46.280	0.33	Alpha-Humulene	006753-98-6
28	47.550	2.46	Trans-Beta-Farnesene	000502-60-3
29	48.963	32.17	Alpha-Amorphene	030021-74-0
30	50.007	23.24	Alpha-Selinene	000473-13-2
31	51.907	4.68	Delta-Cadinene	000483-76-1
32	56.429	1.24	3-Methylbutyl)-Cyclopentane	001005-68-1
33	58.216	4.44	2-Tetradecene	035953-53-8
34	63.854	0.23	6,10,14-Trimethyl-2-Pentadecanone	000502-69-2

Soxhlet aparatı ile hekzan çözücüsü ile ekstrakte edilen sarı kantarondan elde edilen hekzan çözeltisindeki sabit yağ GC-FID ile analiz edildi ve analiz sonucunda beş çoklu doymamış, beş tekli doymamış ve altı tane doymuş yağ asidi olmak üzere 16 yağ asiti bileşeni belirlenmiştir. (Çizelge 4.2.)

Çizelge 4.2. Sarı kantaronda belirlenen yağ asidi bileşimi

Doymuş yağ asitleri		%
C10:0	Kaprikasit	0,4372
C12:0	Laurik asit	0,3738
C14:0	Myristik	1,4627
C16:0	Palmitik	11,5207
C18:0	Stearik	22,0212
C20:0	Araşidik	0,7395
Tekli doymamış yağ asitleri		
C14:1	Miristoleik asit	0,0790
C16:1	Palmitoleik asit	0,2830
C18:1n7c	Vaccenik asit	
C18:1n9c	Oleik asit	6,4412
C20:1n9	Eikosenoik	7,7243
Çoklu doymamış yağ asitleri		
C18:2n6	Linoleik asit	2,7583
C20:3n6	Homo- γ -Linolenik asit	11,9480
C18:3n3	α -Linolenik	3,1948
C18:1n9t	Elaidik asit	16,1729
C18:2n6t	Linolelaidik asit	8,0228

4.2. Elementel Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi

Elementel analiz, bileşiklerin karakterizasyonunda kullanılan en önemli analiz tekniklerinden biridir. Analiz sonuçları yapılara ait önemli bilgiler verdiği gibi C/N oranında bileşiklerin sentezlendiğine dair önemli bir veri olacağı düşünülmektedir.

Sentezlenen çapraz bağlı ve blend biyopolimerlerinin C, H ve N elementel analiz sonuçları Çizelge 4.3.'de verilmiş olup ayrıca C/N oranı değerleri de hesaplanıp çizelgeye eklenmiştir.

Blend olarak hazırlanan B1 %12, B2 %9, B3 %6 ve B4 %3 örneklerinde kitosan artışından dolayı kitosandan gelen azot oranı artarken, Agar-agar oranının azalmasıyla C ve H olarak Agar-agar yapısının kitosan yapısına benzemesinden dolayı yeni bileşiklerin % C ve % H oranlarında gözle görülür bir değişiklik gözlenmezken % N oranı belirgin bir şekilde artmıştır. Bu değişiklik C/N oranlarının hesaplanmasıyla daha

kolay göze çarpmaktadır.

Çapraz bağlı kitosan türevlerinin C/N oranları incelendiğinde saf kitosanın C/N oranı 5,53 iken çapraz bağlayıcı olarak kullanılan Bis fenol A diglisidil eterin yapıya katılmasıyla C ve H oranındaki artışla C/N oranlarında artış göstermiştir. Bu da türevlerde çapraz bağlanmanın gerçekleştiğini göstermektedir. Kitosan/Agar-agar çapraz bağlanmada Agar-agar ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan bisfenol A diglisidil eterde azot olmadığından ortamdaki karbon oranı artacağından sırasıyla en yüksek C/N değerinin C1(%12 Agar)> C2(%9 Agar)> C3(%6 Agar)> C4(%3 Agar)> çapraz bağlı kitosan> kitosan şeklinde olması beklenmelidir nitekim yapılan hesaplamalarda beklenen sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmanın hedefi olan bileşiklerin elementel analiz sonuçları çapraz bağlı kitosan türevlerinin sentezlendiğine dair önemli bir veri oluşturmuştur

Çizelge 4.3. Sentezlenen bileşiklerin elementel analiz sonuçları

Örnek adı	% Azot	% Karbon	% Hidrojen	C/N
Ag	0	44.14	6.33	-
Ag-C	0	56.8	6.95	-
Kit	7,41	40.95	6.96	5.53
Kit -C	3,97	40,34	5,71	10.16
C1	3.46	39,86	6,48	11.53
C2	3,66	39,70	5,77	10.83
C3	3,94	41,04	5,86	10.42
C4	4,07	41,27	5,72	10.19
B1	5,94	40,80	6,40	6.87
B2	6,12	41,13	6,72	6.72
B3	6,71	41,13	6,70	6.13
B4	7,17	41,01	6,81	5.72

4.3. FT-IR Spektrum Bulgularının Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan ve sentezlenen bileşiklere ait karakteristik FT-IR pikleri Çizelge 4.4.'te verilmiştir. Çizelgede bileşiklerin (C-O-C, NH₂, C-H, -OH) gruplarına ait titreşim bantlarının spektral değerleri verilmiştir. Kitosan ve Agar-agar her ikisi birer

polisakkarit olup yapıları birbirine çok benzemektedir. Hem kitosan hemde Agar-agar FT-IR spektrumlarında ortak olarak 3100-3600 cm^{-1} aralığında -OH ve N-H gerilme pikleri, 2928, 2956 cm^{-1} C-H gerilme pikleri, 1570 cm^{-1} bölgesinde N-H ve C-C eğilme pikleri, 1415 cm^{-1} 'de -OH ve C-H eğilme pikleri, 1180 cm^{-1} alifatik C-O-C, 1144 cm^{-1} sek-OH, 1100-1000 cm^{-1} bölgesinde primer alkol OH pikleri gözlenmektedir. Kitosanın FT-IR spektrumunda Agar-agardan farklı olarak 1644 cm^{-1} amid C=O ve amin N-H piklerinin örtüşmesi, 1258 cm^{-1} Amin C-N, 1373 cm^{-1} 'te -OH ve C-H eğilme pikleri, 1314 cm^{-1} amin C-N pikleri gözlemlenmiştir. Çapraz bağlayıcı kullanılarak elde edilen çapraz bağlı kitosan /Agar-agar örneklerinde aromatik C-H gerilme ve eğilme titreşimleri yanısıra eterik Ar-O-C pikleri gözlenmiştir. Bu değişiklikler sırasıyla 1507 cm^{-1} benzen C=C piki, 1236 cm^{-1} bölgesinde Ar-O-C eter piki, 1180 cm^{-1} alifatik C-O-C piki, 822 cm^{-1} 'de 1,4-disubstitue benzen pikleridir.

Blendlerde hem agar hemde kitosandan gelen 1240 bandında yeni alifatik-aromatik C-O-C pikinin oluşması çapraz bağlanmanın gerçekleştiğini doğrular niteliktedir. (Inukai ve ark., 1998; Sun ve Wang, 2006). 1140 cm^{-1} sekonder OH, 910 - 1063 cm^{-1} aralığındaki pikler polisakkarit yapısı için karakteristik piklerdir (Yin ve ark., 1999; Traravel ve Domard, 1993).

Kitosanın Agar ile reaksiyonu sonucu elde edilen bileşiklerin FTIR spektrumları incelendiğinde kitosanın ve agarın karakteristik pikleri yanında çapraz bağlanma sonucu yeni oluşan Ar-O-C eter bağınının mevcut olduğu gözlenmiştir. Yeni kitosan türevlerinin FTIR spektrumları kitosan ile çapraz bağlayıcıların karakteristik piklerinin bir bileşimi olarak elde edilmiştir. Bu da reaksiyonların başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir.

Çizelge 4.4.Sentezlenen bileşiklerin FT-IR spektrum sonuçları

Bileşik	O-H (cm ⁻¹)	Primer NH (cm ⁻¹)	Aromatik C=C (cm ⁻¹)	Ar-O-C (cm ⁻¹)	Alifatik C-O-C (cm ⁻¹)	1,4 disubstitue (cm ⁻¹)
Agar-agar	3100-3500	-	-		1174,1146	-
Çapraz bağlı Agar-agar	3100-3500	-	örtülmüş	1247	1180	örtülmüş
kitosan	3100-3500	1653	-	-	1200,1149	-
Çapraz bağlı kitosan	3100-3500	1653	1504	1236	1183	822
B1	3100-3500	1644	-	-	1149	-
B2	3100-3500	1644	-	-	1144	-
B3	3100-3500	1644	-	-	1144	-
B4	3100-3500	1644	-	-	1144	-
C1	3100-3500	1647	1504	1239	1177,1141	825
C2	3100-3500	1650	1507	1241	1180,1146	825
C3	3100-3500	1650	1504	1241	1180,1142	825
C4	3100-3500	1650	1496	1241	1177,1144	822

4.4. TGA-DTA Bulgularının Değerlendirilmesi

Hazırlanan örneklerin termal kararlılık ve bozunma davranışları TGA-DTA ile azot atmosferinde çalışıldı. Literatürde de belirtildiği gibi kitosan azot ortamında tek basamaklı bozunma reaksiyonu gösterir (Hong ve ark., 2007).

Türevlerin TGA-DTA eğrileri incelendiğinde saf kitosanda üç, saf agar ve blendlerde dörter, çapraz bağlı türevlerde ise beşer kütle kaybının olduğu görülmektedir. Bunlardan 50-200°C aralığındaki kayıp biyopolimere adsorbe olan bağlı suyun ayrılması, 200-400°C aralığındakiler polisakarit halkalarının dehidrasyonuna, depolimerizasyona ve polimerin parçalanmasından kaynaklı kayıp, 600-800°C aralığındaki ise çalışma ortamının azottan çıkarak hava ortamında gerçekleşmesinden dolayı karbon atıklarının oksitlenerek yanmasından kaynaklı kütle kayıplarıdır.

Saf Kitosanda ilk aşamada 140°C’de % 2,84’lük bağlı su ve bozunmadan dolayı 293 ve 360°C’de toplam % 60,45’lik kütle kaybı gözlenirken; çapraz bağlı kitosanda 137°C’de %1,75’lik bağlı su ve 260,310,450°C’de %61 ve 747°C de %9,5lik kütle kaybı olmak üzere toplam kayıp %72,25 olarak bulunmuştur. Saf Agar-agar’ın TGA-DTA termogramında 130°C’de %1,6lık su kaybı, 258°C ve 440°C’de %25,62 ve 734°C’de %7,63 lük kütle kaybı ile toplam kayıp %36 iken çapraz bağlı Agar-agarda

120°C’de %1,25lik bağı su kaybı, 260 ve 359°C’de %14,17, 713°C’de %4,99’luk olmak üzere toplam %20’lik kayıp oluşmuştur.

Blend örneklerde sırasıyla B1’de toplam kütle kaybının %69 civarında olduğu, bu kayıpların %4,46’lık kısmı 144°C’de bağı su kaybı ve %51,32’lik kısmı 271 ve 458°C’de bozunmadan kaynaklı olduğu görülmektedir.

B3’de toplam kütle kaybı %67 civarında olup, bu kayıpların %3,73’lük kısmı 155°C’de bağı su kaybı, %57,25’lik kısımlarının 277 ve 444°C’de bozunmadan kaynaklı olduğu görülmektedir.

C1’de toplam kütle kaybı %65 civarında olup, bu kayıpların %2,34’lük kısmı 140°C’de bağı su kaybı, %52,62’lik kısımlarının 260, 327, 470°C’deki bozunmalardan kaynaklı olduğu görülmektedir.

C3’de toplam kütle kaybı %69 civarında olup, bu kayıpların %0,4’lük kısmı 150°C’de bağı su kaybı, %57,41’lik kısımlarının 260, 327, 470°C’de bozunmadan kaynaklı olduğu görülmektedir.

Agar-agar 258 ve 440°C’de bozunurken çapraz bağı Agar-agarın çapraz bağlanmadan dolayı 260 ve 359°C gibi daha düşük sıcaklıklarda bozunduğu yine aynı şekilde Kitosan ile çapraz bağı kitosanı karşılaştırdığımızda kitosan 293 ve 360°C’de bozunurken çapraz bağı kitosan 260 ve 310°C’de daha düşük sıcaklıkta bozunmuştur. Ayrıca 450°C’de diğer bir bozunma gerçekleşmiştir. Kitosan ve Agar-agar’ın bir karışımı olan blend ve çapraz bağı türevlere baktığımızda gerek kitosanın gerekse Agar-agar’ın kristal yapısının bozulmasından dolayı yeni biyopolimerlerin bozunma sıcaklıkları kitosan ve Agar-agar’ın bozunma sıcaklıklarından daha düşüktür. Bu da yeni biyopolimerlerin başlangıç maddelerine göre daha az kararlı yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5. Türevlerin termal bozunma değerleri

Bileşik	1. bozunma °C (% ağırlık kaybı)	2.bozunma °C (% ağırlık kaybı)	3.bozunma °C (% ağırlık kaybı)	2.bozunma sıcaklığı°C	3.bozunma sıcaklığı°C	% karbon kalıntısı (650°C'de)
Agar-agar	75-170(~1,60)	170-370(~20) 370-600 (~6)	600-800 (~8)	258 440	734	64
Çapraz bağlı Agar-agar	75-190(~1,25)	190-320 320-410 410-600(~14)	600-800(~5)	260 359	713	80
kitosan	50-200(~2,85)	200-600(~60)		293 360		37
Çapraz bağlı kitosan	50-200(~1,75)	200-300, 300-400, 400-600(~61)	600- 800(~9,5)	260 310 450	747	27
B1	50-200(~4,5)	200-350 (~40), 350-600(~11,5)	600-800 (~13)	271 458	748	31
B3	50-200(~3,7)	200-350 (~44), 350-600(~13)	600-800 (~6,2)	277 444	728	33
C1	50-200(~2,3)	200-300 300-400(~38), 400-600 (~14)	600-800 (~11)	260 327 470	744	35
C3	50-200(~0,4)	200-400 (~50), 400-600 (~7)	600-800 (~12)	255 493	713	31

Blendler ile çapraz bağlilar karşılaştırıldığında çapraz bağliların daha düşük sıcaklıkta bozunduğu görülmektedir. Literatürde çapraz bağlanma arttıkça Tg değerinin azaldığı belirtilmektedir (Demetgül, 2008). Elde edilen sonuçlar çapraz bağlanmanın gerçekleştiğini göstermektedir.

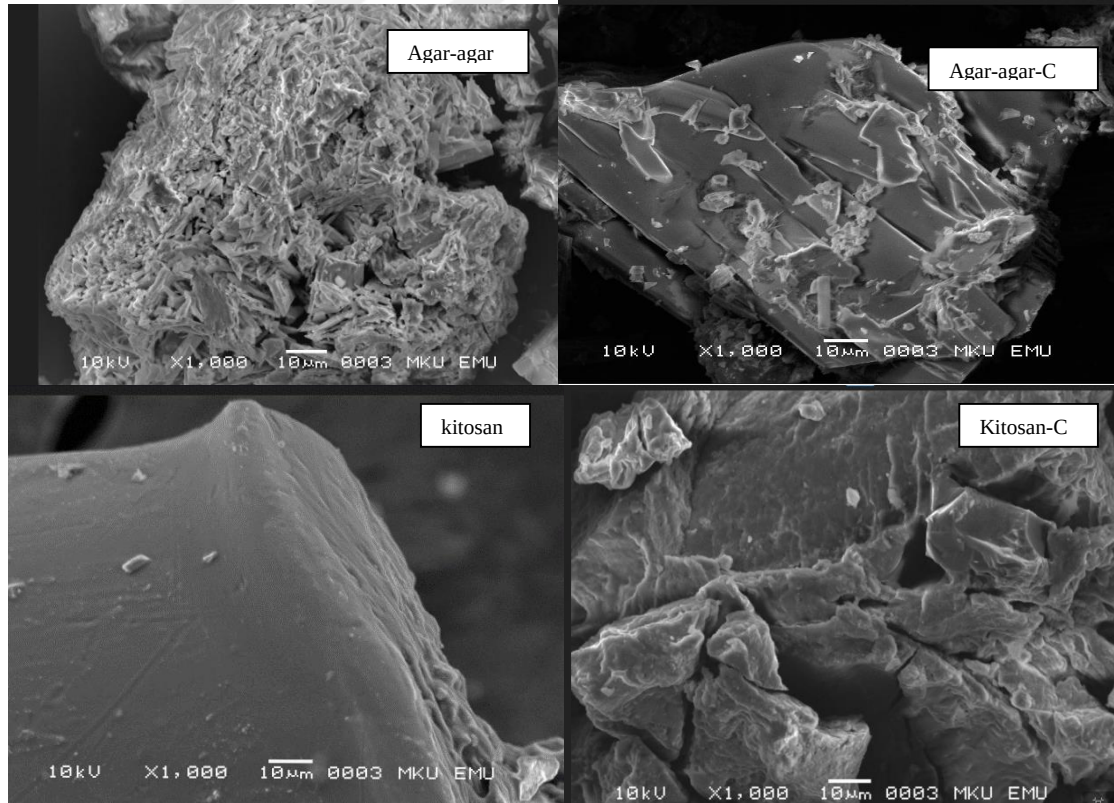
4.5. SEM Analizi

Sentezi gerçekleştirilen biyopolimerin yüzey özelliklerinin incelenmesi, polimerlerin karakterizasyonu açısından oldukça önemlidir. Polimerik örneklerin yüzey özellikleri ve gözenekliliği hakkında fikir edinebilmek amacı ile en sık kullanılan yöntemlerden biri taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscopy, SEM) yöntemidir (Koul ve ark., 2011).

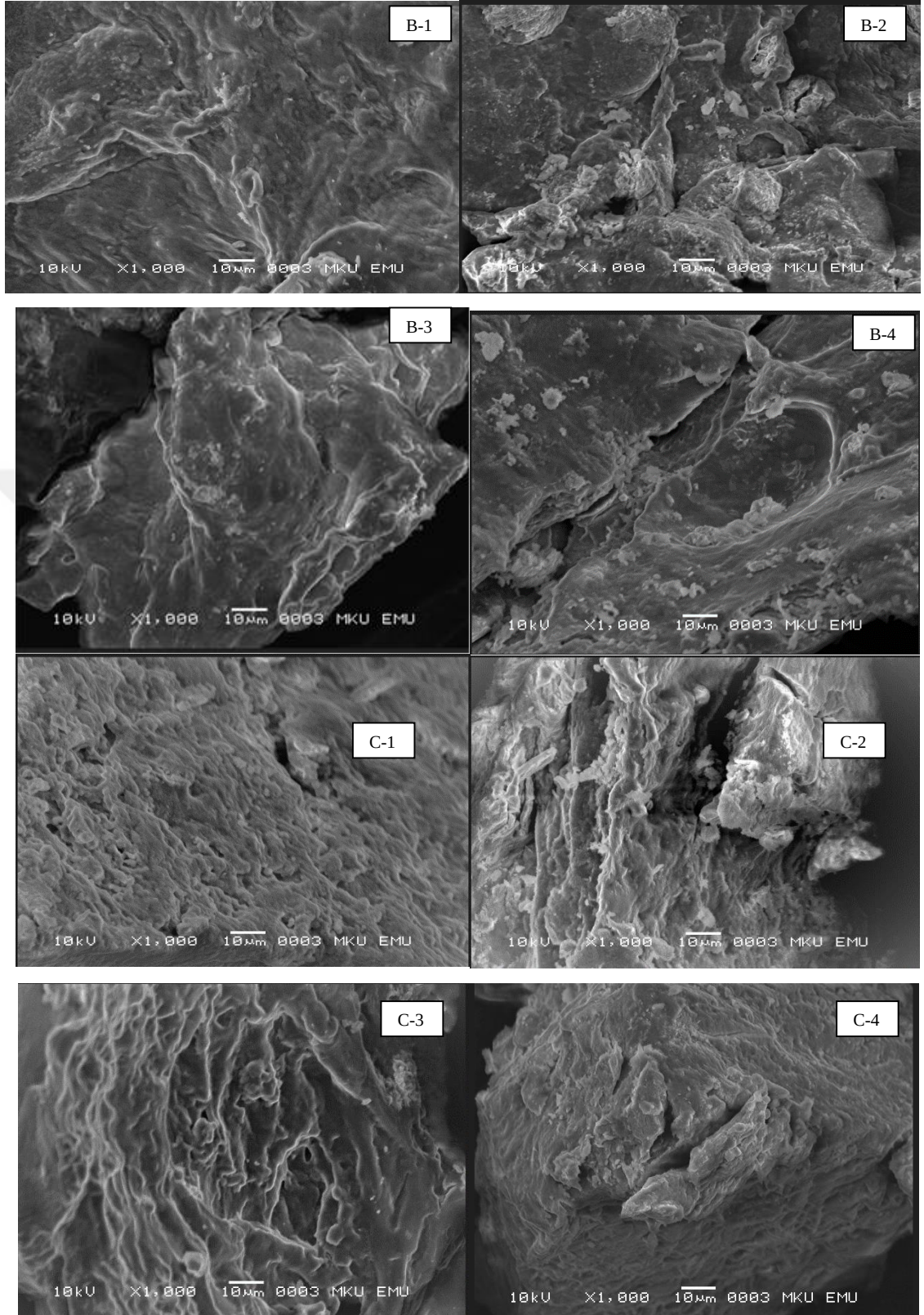
Taramalı elektron mikroskobu (SEM-Jeol Jsm 6335F) yardımı ile kitosan türevlerinin morfolojik yapısı incelendi. İncelemede, standart modda çapraz bağlı biyopolimerin 1000 kat büyütme görüntüsü alındı.

Sem görüntüleri incelendiğinde Agar agar'ın gözenekli ve pürüzlü yapısının çapraz bağlanma sonrasında pürüzsüz ve homojen olduğu gözlenmiştir. Yine aynı şekilde kitosan ile çapraz bağlı kitosan karşılaştırıldığında pürüzsüz ve homojen yapının korunduğu gözlenmiştir. Blend yapılarda kitosan oranı arttıkça yapının daha homojen ve pürüzsüz olduğu ve ağarın ortamda heterojen bir şekilde dağıldığı gözlenmektedir. Çapraz bağlı Kitosan-Agar yapılarında ise kitosan ve ağarın çapraz bağlanmasından dolayı yapıların homojen olduğu blend yapılara göre daha gözenekli olduğu görülmektedir. Yapılar arasındaki yapısal morfolojideki farklılık, SEM görüntülerindeki farkla da desteklenmektedir.

Kitosan, Agar, blend kitosan-Agar ve çapraz bağlı Kitosan-Agar türevlerinin SEM görüntüleri Şekil 4.2'de görülmektedir. Kitosan türevleri, kitosanın pürüzsüz yüzeyine ve Agar-agar'ın gözenekli yapısına kıyasla daha geniş bir üç boyutlu pürüzlü yapı sergilemektedirler. Blend ve çapraz bağlı türevler arasındaki görsel farklılıklar çapraz bağlı yapıların sentezlendiğine yorumlanabilir.



Şekil 4.2. Kitosan ve Kitosan Türevlerinin SEM Görüntüleri.



Şekil 4.2. (Devamı) Kitosan ve Kitosan Türevlerinin SEM Görüntüleri.

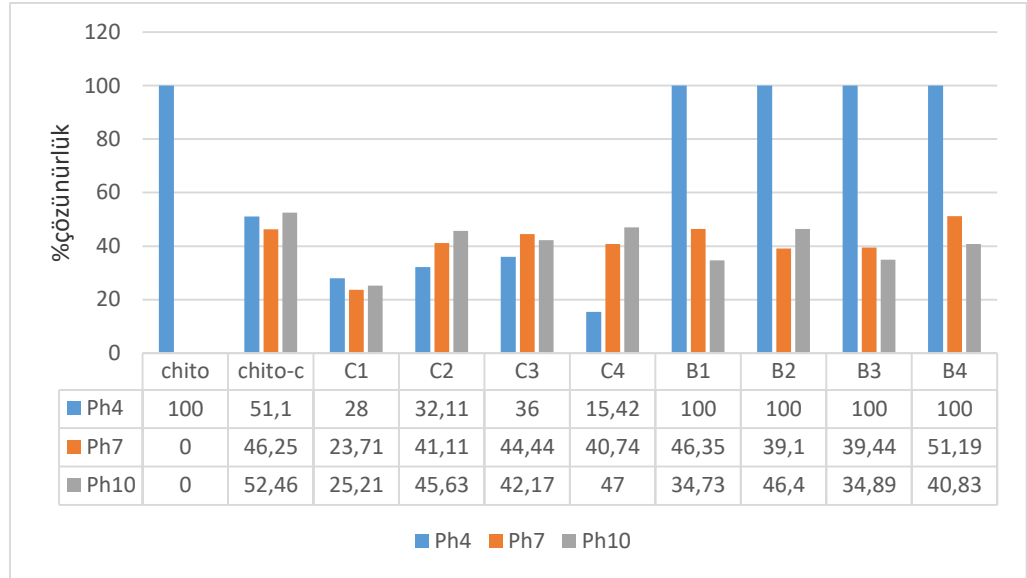
4.6. Şişme Karakterizasyonu

Bir çözücü varlığında şişen çapraz bağlı ağların tasarımı için kullanılır. Bunun iyi bir örneği, tasarlandıkları uygulama için önemli miktarda su emme kapasitesine dayanan hidrojellerdir.

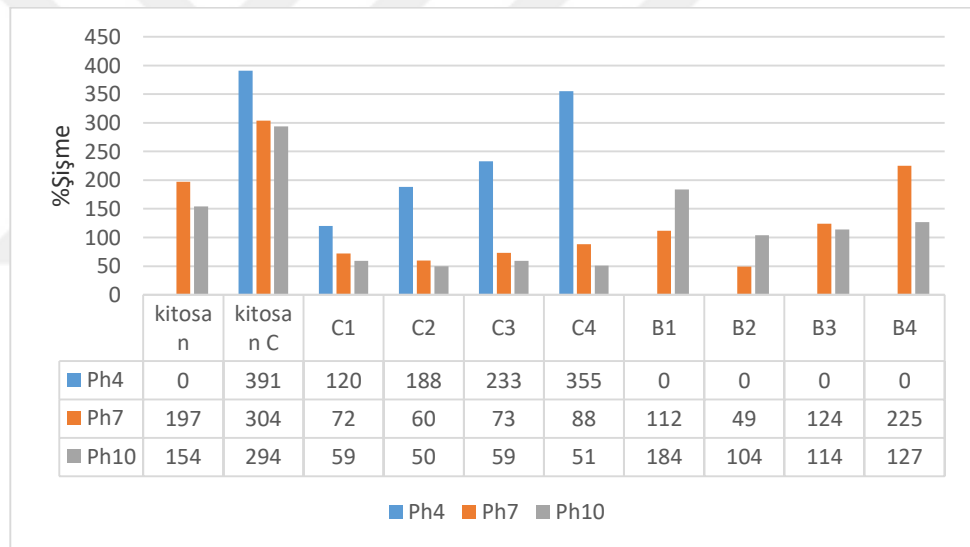
Hidrojel malzemeleri, yüksek hidrofiliklikleri, düşük toksisiteleri ve biyouyumlulukları nedeniyle önemli araştırmaların odak noktası olmuştur [Kim ve ark., 2013; Ahmed 2015). Hidrojellerin uygulama uygunluğunu, şişme performansı (özellikle şişme oranı), denge şişme oranı ve kurudan yüksek derecede şişmiş duruma mekanik mukavemet dahil olmak üzere çeşitli faktörler belirlemektedir. Hidrojinin şişebilirliği, pH, ve sıcaklık gibi dış uyaranlara ve kimyasal yapıya bağlıdır (Feil ve ark., 1992; Feil ve ark.,1993). Hidrojellerdeki en önemli dez avantaj düşük mekanik dayanıklılıktır. Bu dezavantajın önüne çapraz bağlı polimer sentezi ile geçilebilmektedir.

4.6.1. Çözünürlük Davranışları.

Kitosanın seyreltik asitlerde, primer aminlerin protonlanması sonucu çözünmektedir. Agar-agar ise soğuk suda çözünmez, ancak önemli ölçüde şişerek heterojen olarak dağılır. Agar-agar kendi ağırlığının yirmi katı kadar suyu emme özelliğine sahiptir. Blend karışımlarda her iki biyopolimerin kristal yapısının bozulmasıyla belli oranda şişmesi beklenirken çapraz bağlı karışımlarda primer amin sayısının azalması ve çapraz bağlanmanın kitosan-Agar türevlerinde çözünürlüğünün azalması ve aynı zamanda hidrojel gibi davranması beklenmektedir. Kitosan türevlerinin çözünürlüğün düşmüş olması kitosan zincirindeki primer amin sayısının azaldığını göstermektedir. Sentezlenen çapraz bağlı kitosan/Agar-agar türevlerindeki gözlenen çözünürlük düşüşü çapraz bağlanmanın gerçekleştiğinin önemli bir göstergesidir. Türevlerin çözünürlüğü oda sıcaklığında 24 saat bekletilerek değişik pH değerlerinde gerçekleştirilmiştir. pH4 ortamında kitosan ve blend örneklerin tamamı çözünürken kitosan pH7 ve pH10 ortamında hiç çözünmemiştir. Bunların dışında kalan bütün türevler ortalama %50 oranında çözünmüştür.



Şekil 4.3. Kitosan Türevlerinin 25°C ‘de pH 4,0; 7,0 ve 10,0’deki Çözünme oranları



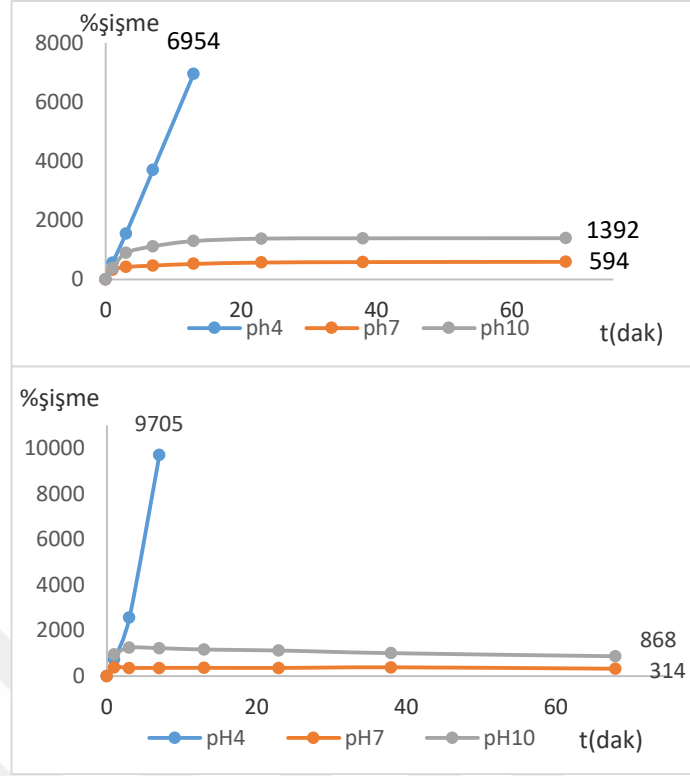
Şekil 4.4. Kitosan Türevlerinin 25°C ‘de pH 4,0; 7,0 ve 10,0’deki DSI Değerleri

4.6.2. Denge Şişme Değerleri

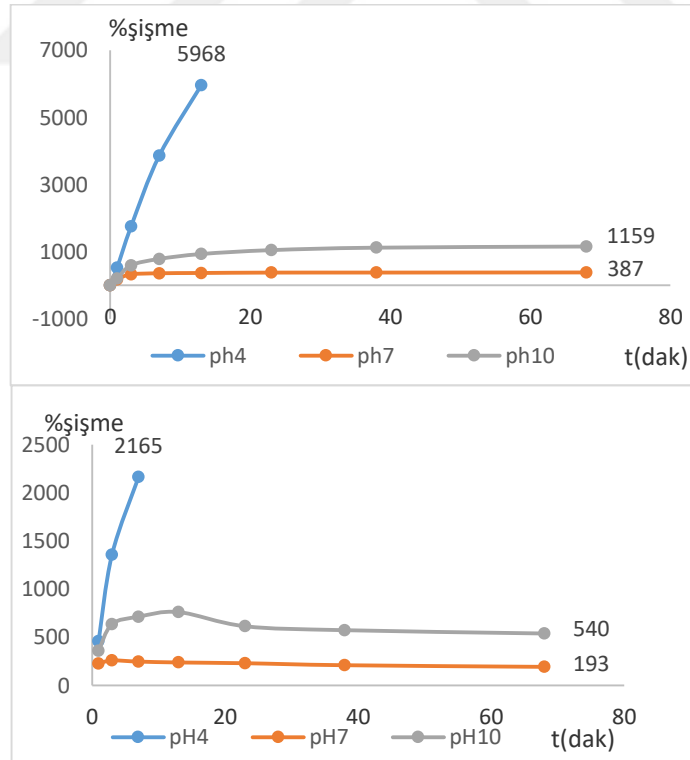
Şişme çalışmaları sonunda türevler için belli bir yüzde şişme (%S) değerleri elde edilmiştir. Türevlerin şişme izotermi hesaplanan veriler yardımıyla zamana karşı % şişme oranları (%S – t) grafikleri çizilerek oluşturulmuştur. Türevlerin farklı sıcaklık ve pH'larda çizilen şişme izotermi aşağıda verilmiştir.

Şişme oranlarına bakıldığında bütün örnekler için en yüksek şişme değerleri pH4 ortamında gerçekleşmiştir. Blend örneklerde kitosa-NH₂ gruplarının serbest olması ve

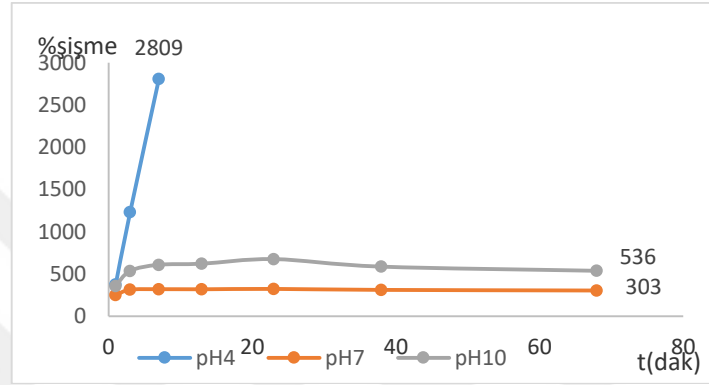
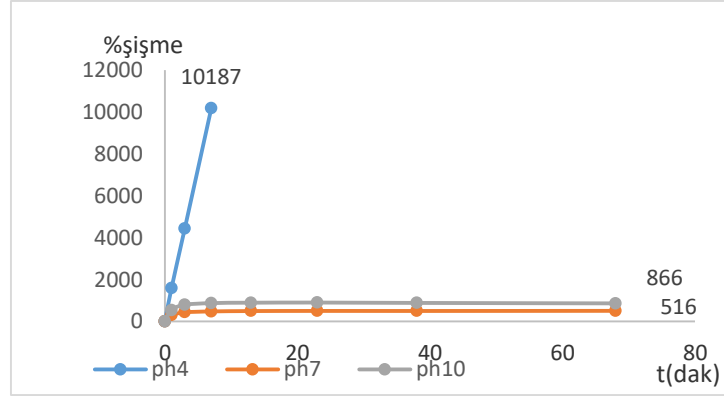
asitli ortamda iyonik halde olması, ortamdaki OH gruplarının fazlalığı, agar-agar'ın su ortamında şişerek çözünmesi ve kitosan yapısının eklenen Agar-agardan dolayı bozunmasından dolayı blend örnekler en yüksek şişme değerlerini vermiştir. Yapılan çalışmalarda süre ilerledikçe hem çözünme hem şişme bir yarış halinde gerçekleşmiştir. Belli bir süreden sonra çözünme hızı şişme hızından fazla olduğundan kütlede azalmalar gözlenmiştir. Blend örneklerin pH4 ortamında ilk 7 dakikada maksimum şişme değerlerine vardığı ve daha sonraki zaman zarfında dağıldığı gözlenmiştir. pH10 değerinde ortamın bazik olmasından dolayı şişme sadece varolan OH gruplarının iyonik hale gelmesiyle gerçekleştiğinden pH10 ortamında pH7 ortamından daha fazla şişme gerçekleşmiştir. Bu pH ortamlarında da belli bir süreden sonra çözünme gerçekleştiğinden türevler bir yandan su tutarak şişerken diğer yandan çözünmüştür. SEM görüntülerine bakıldığında blend örneklerin gözenekli bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Gözenekli yapıya sahip türevler daha fazla su tutma kabiliyetine sahiptirler. Su tutma en fazla pH4>pH10>pH7 ortamında gerçekleşmiştir. Isı arttıkça hidrojeline çözünürlüğü arttığından su tutma oranı düşük sıcaklığa oranla daha az olmuştur. B1 de Agar-agar oranı en fazla olduğundan kitosan zincirleri arasındaki mesafe arttığından gerek 25°C gerekse 37 °C'de en yüksek şişme değerleri gözlenmiştir. Agar-agar oranı azaldıkça kitosan zincirleri arasındaki etkileşim daha fazla olacağından şişme değerlerindeki azaldığı gözlenmiştir. Diğer yandan herhangi bir kimyasal bağla bağlı olmayan agar ağarın çözünmesinden dolayı şişme ve çözünme yarış halinde olduğundan farklı sıcaklık ve pH aralıklarında farklı şişme özellikleri göstermişlerdir. Bu şişme çalışmalarının ortak yanı bütün örnekler için en yüksek şişme oranlarını pH4 ortamında ikinci en yüksek şişme oranlarının pH10 ortamında ve en düşük şişme değerlerinin pH7 ortamında gerçekleşmesidir.



Şekil 4.5. B1 türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri

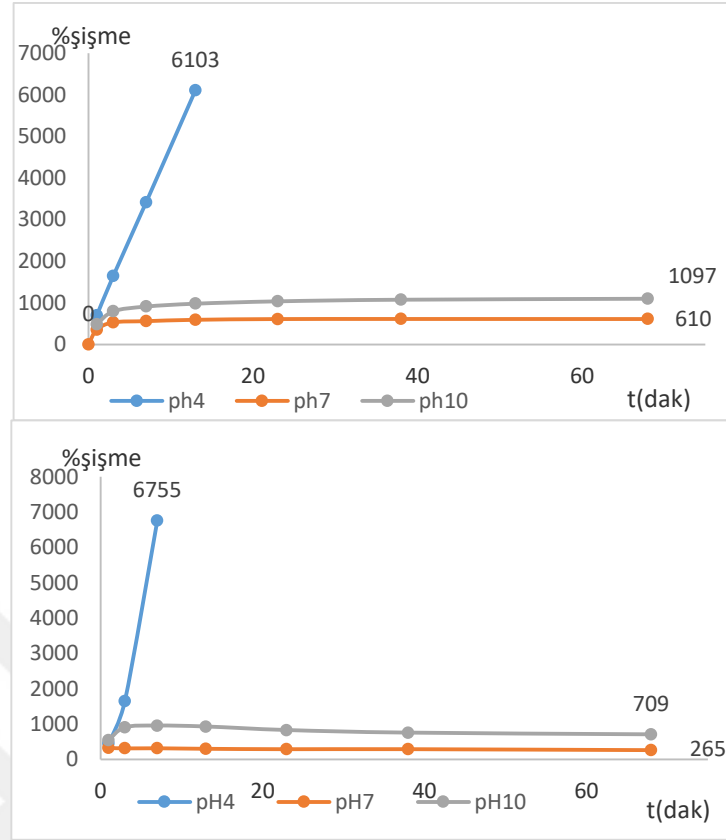


Şekil 4.6. B2 türevinin 25 °C ve 37°C' de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri



Şekil 4.7. B3 türevinin 25 °C ve 37°C’de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri

B2’nin SEM görüntülerine bakıldığında diğer blend örneklerinden daha pürüzsüz bir yapıya sahip olmasına karşın pH4 ortamında en yüksek şişme değerine sahip iken diğer pH aralıklarında en düşük şişme oranına sahip olduğu görülmüştür.

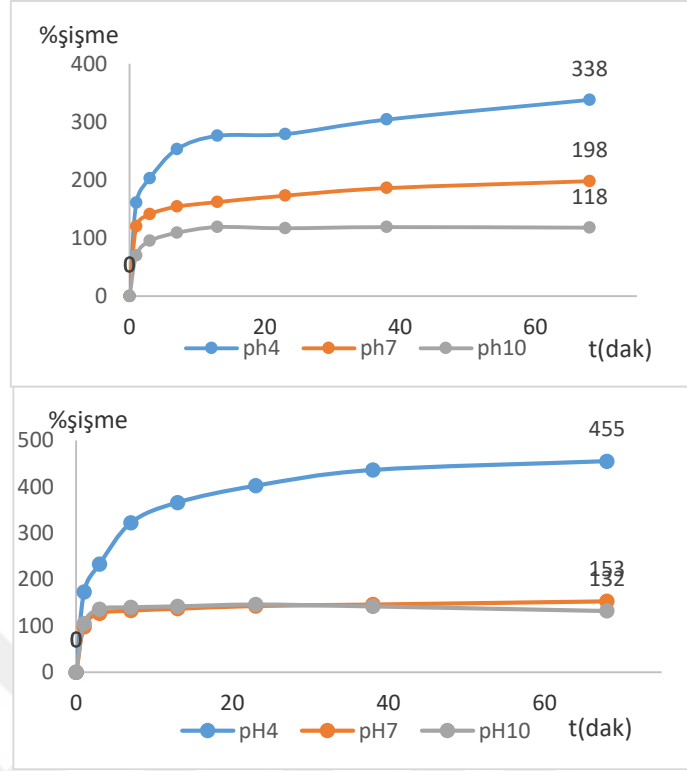


Şekil 4.8. B4 türevinin 25°C ve 37°C’de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri

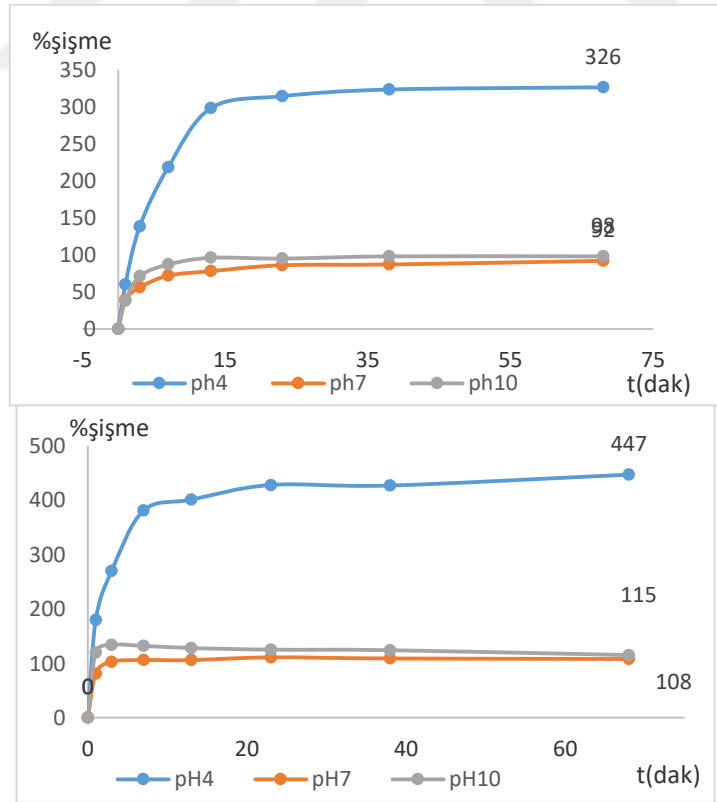
Farklı sıcaklıklardaki şişme çalışmalarına bakıldığında 37 °C’de çözünme daha fazla olduğundan çözünme hızının şişme hızından fazla olduğunu söyleyebiliriz. Bunun sonucunda örneklerin 25C’de daha fazla şiştiği, 37C’de çözünmeden dolayı daha az su tutarak şiştiği grafiklerdede açıkça görülmektedir.

Çapraz bağlı türevlere bakıldığında blendlere göre daha az su tutarak şiştikleri görülmektedir. Çapraz bağlı hidrojellerde şişme, çapraz bağlanma ile daha az ve yavaş gerçekleşir

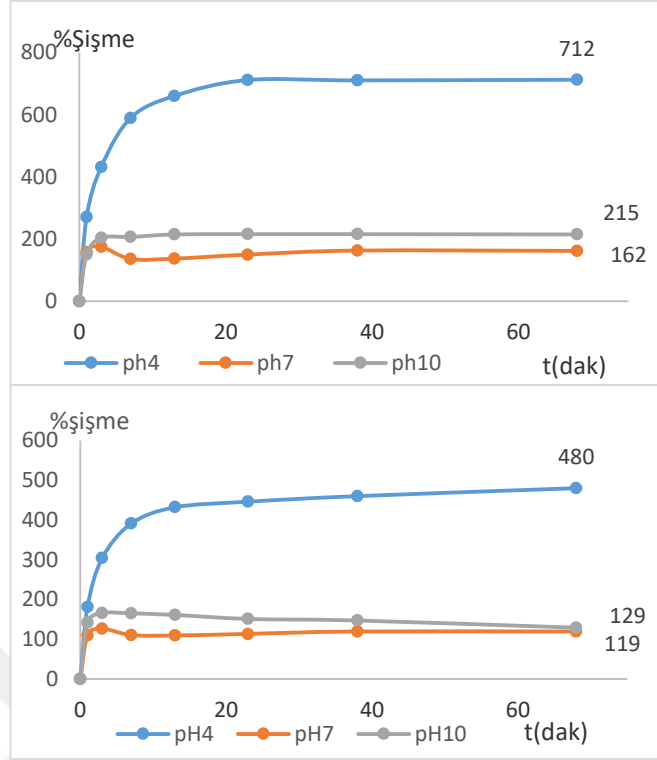
Aynı oranlarda çalışılmış blend ve çapraz bağlı türevlerin şişme eğrilerinde bu sonucu çıkarabiliriz. SEM görüntülerinde çapraz bağlı türevler daha gözenekli bir yapıya sahip olmalarına karşın çapraz bağlanmadan dolayı daha kırılğan ve sert yapıya sahip olduklarından suda daha az su tutarak şiştikleri gözlenmiştir. Aynı koşullarda hazırlanmış olan kitosan ve çapraz bağlı kitosan örneklerine bakıldığında kitosan ve çapraz bağlı kitosanın her iki sıcaklık ve farklı pH ortamlarında aynı davranışları sergilemekle beraber kitosanın çapraz bağlı kitosana kıyasla her iki sıcaklık ve farklı pH ortamlarında daha fazla su tuttuğu gözlenmiştir.



Şekil 4.9. C türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri

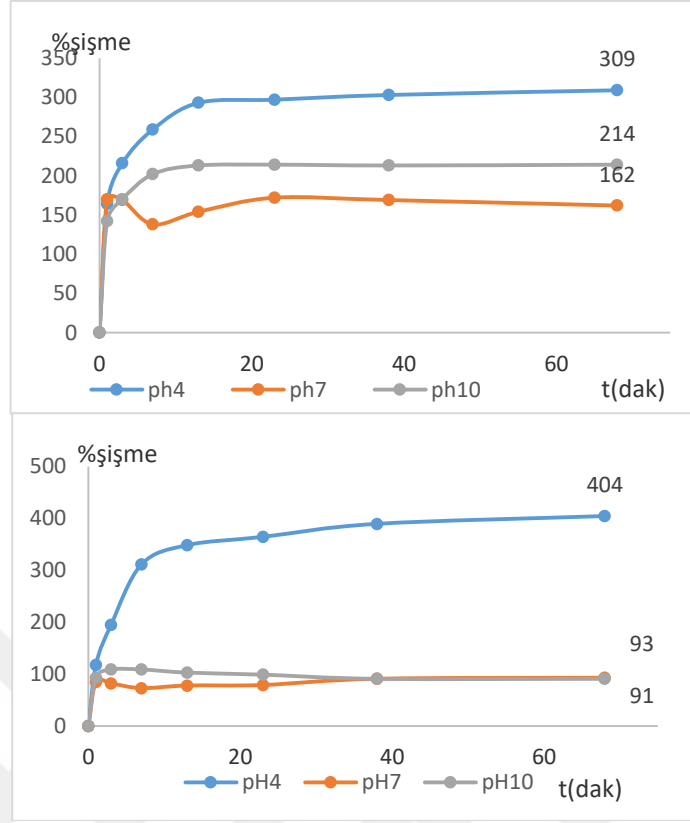


Şekil 4.10. C-C türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri

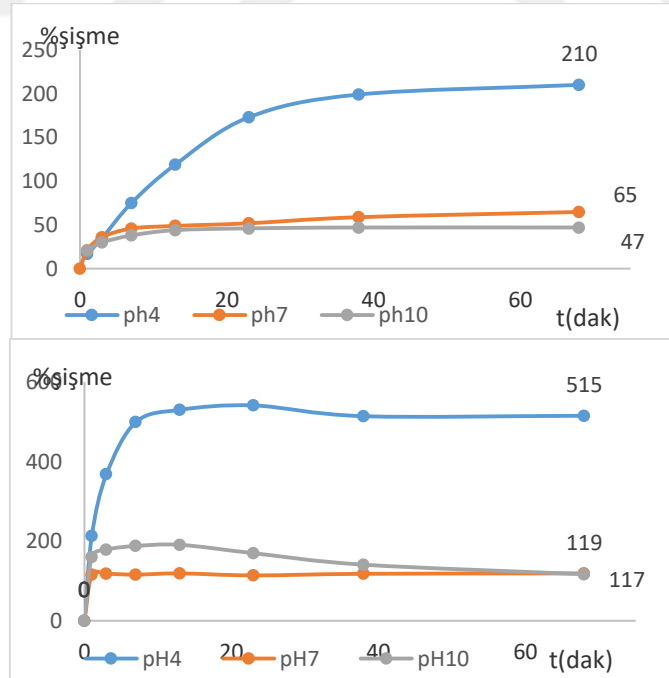


Şekil 4.11. C1 türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri

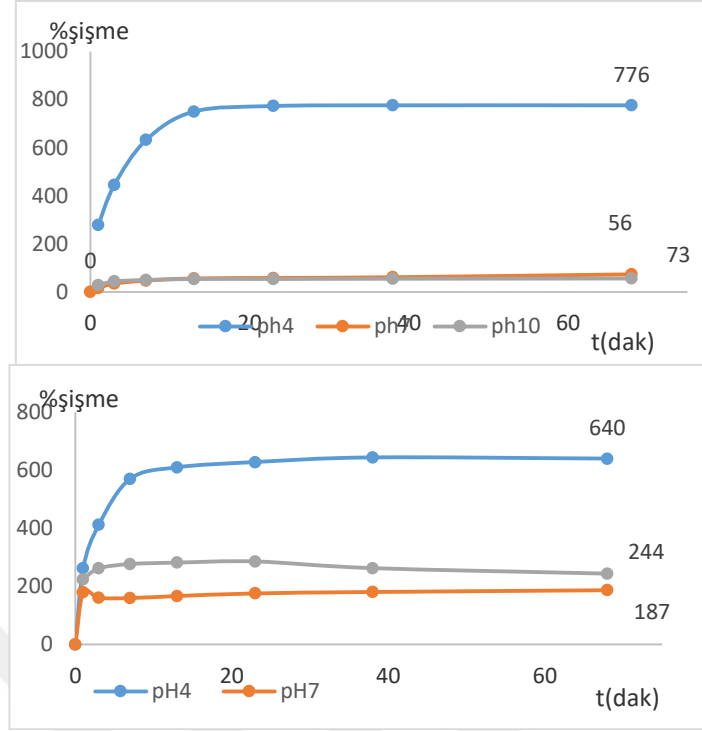
Kitosan ortamına Agar-agar katılması ile beraber çapraz bağlanma kitosan-kitosan, kitosan NH₂-Agar-agar -OH ve kitosan OH- Agar-agar -OH şeklinde gerçekleşecektir. Kitosan oranı fazla iken çapraz bağlanma kitosan-kitosan bağlanmayı, agar-agar oranı arttıkça kitosan NH₂-Agar-agar ve kitosan OH- Agar-agar bağlanma tercih edilecektir. Ortamda bulunan çapraz bağlanyan Agar-agar ise şişme çalışmaları sırasında doğal olarak çözünüp blend örneklerde olduğu gibi şişme-çözünme yarışı şeklinde gerçekleşmektedir.



Şekil 4.12. C2 türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri



Şekil 4.13. C3 türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri



Şekil 4.14. C4 türevinin 25 °C ve 37°C de farklı pH değerlerindeki % şişme değerleri

4.6.3. Dengede Su İçeriği

Denge sıvı içeriği (denge su içeriği, DSİ) polimerlerin biyoyumlulu olup olmadığını belirlemek için oldukça önemli olan bir parametredir. Polimerler çözücü ortamına (genellikle su ortamı) bırakıldıklarında çözücünün yapıya girme ve yapıdan salınma hızı, belirli bir süre sonra eşit hale gelir ve dengeye ulaşılır. Çözücünün yapıya girme ve salınma hızının dengeye geldiği bu noktada hidrojel en büyük şişme değerine sahiptir. DSİ değerleri Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmıştır. Sentezlediğimiz türevlerin 25°C’de ve pH aralıklarındaki DSİ değerleri çizelge 4.6’da verilmiştir. Bir hidrojin DSİ değerinin 0,60’tan büyük olması onu potansiyel biyoyumlu bir malzeme olarak değerlendirilmesini olanaklı kılar. pH4 ortamında kitosan ve blend örnekler tamamen çözünürken çaprazbağlı kitosan, C2, C3 ve C4’ün DSİ değerleri 0,60’tan büyük bulunmuştur. Diğer değerler ise 0,6 değerine yakın değerler olup türevlerin aşırı su ortamında çözüldükleri göz önüne alındığında (%50’ye yakın) (Şekil 4.3) daha az su ortamı bulunan biyoyumluluk çalışmalarında kullanılabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.6. Kitosan Türevlerinin 25 °C'de pH 4,0; 7,0 ve 10,0'daki DSI değerleri

	pH 4	pH 7	pH 10
kitosan	0	0,66	0,61
Çapraz bağlı kitosan	0,79	0,54	0,51
C1	0,54	0,42	0,37
C2	0,65	0,37	0,33
C3	0,7	0,42	0,37
C4	0,78	0,47	0,34
B1	0	0,53	0,65
B2	0	0,33	0,51
B3	0	0,55	0,53
B4	0	0,69	0,56

4.7. Antioksidan ve Toplam Fenolik Madde Tayini

Antioksidan kapasite ve toplam fenolik içeriğin belirlenmesi için 40 °C'de metanol ile ekstrakte edildi. Metanol çözünür fraksiyonu %14,7 olarak bulundu. DPPH yöntemine göre serbest radikal süpürücü etkisi belirlendi ve sonuçlar BHT ile karşılaştırıldı. Serbest radikal temizleyici etkisi DPPH absorpsiyonunun % inhibisyonu BHT için %94,76 ve sarı kantaron metanol ekstraktı için %41,38 olarak hesaplanmıştır. %5 oranında metanol ekstraktı içeren hidrojeller için % inhibisyonu sırasıyla B1 için %17,56 B2 için %18,82, C1 için %11,36 ve C3 için %8,47 olarak hesaplanmıştır.

Sarı kantaron metanol ekstraktının toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlendi. Metanol ekstraktındaki toplam fenolik içerik, standart eğriye göre $440,27 \pm 8.7$ mg gallik asit eşdeğeri/g ekstrakt olarak bulundu. Sarı kantaron metanol ekstraktı eklenen türevlerde türevlerin hidrojel yapısından dolayı reaktifin tamamen tepkimeye girmemesinden dolayı hesaplanan toplam fenolik içerik düşmektedir. Kütlece %5 oranında sarı kantaron metanol ekstraktı içeren hidrojeller için toplam fenolik madde miktarı sırasıyla B1 için $1,06 \pm 0,01$ mg gallik asit eşdeğeri/g hidrojel, B3 için $1,104 \pm 0,01$ mg gallik asit eşdeğeri/g hidrojel, C1 için $1,432 \pm 0,01$ mg gallik asit eşdeğeri/g hidrojel ve C3 için $1,292 \pm 0,01$ mg gallik asit eşdeğeri/g hidrojel olarak bulunmuştur. (Şekil 3.1)

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Günümüzde sentetik ilaçların yan etkilerinin fazla olması ve halen bilinmeyen yan etkilerinin olmasına karşın bitkilerin tarihten gelen uzun bir kullanım geçmişine sahip olmaları, çok yönlü etken maddelere sahip olmaları, tıbbi bitkileri ön plana taşımıştır.

Bu çalışmada; yukarıda genel özellikleri belirtilen Sarı kantaron (*H. Perforatum*) türünün topraküstü kısımlarının metanol ekstraktının blend ve çapraz bağlı kitosan/Agar türevlerine eklendikten sonraki antioksidan etkileri araştırılmıştır.

Tıbbi aromatik bir bitki olan kantaron bitkisinin metanol ekstraktı hidrojele eklenerek hidrojellerin toplam fenolik içerikleri Folin Ciocalteau (FC) yöntemi ile belirlenmiş ve gallik asitle karşılaştırılmıştır. Antioksidan madde tayini DPPH yöntemiyle belirlenmiş ve sentetik antioksidan BHT ile karşılaştırılmıştır.

Bu sonuçlarda canlı organizmaların oksidatif zarara karşı koyabilmek için dışardan alabilecekleri yeni antioksidan kaynaklar bulunabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, kitosanın sert, su tutma kabiliyetinin az ve kırılkan yapısının iyileştirilmesi amacıyla gerek gıda gerekse kozmetik ve ilaç sanayisinde kullanılan yüksek şişme kabiliyetine sahip Agar-agar ile blend ve çapraz bağlı türevleri kitosana değişik oranlarda Agar-agar eklenerek hazırlandı. Çapraz bağlayıcı olarak Bisfenol A diglisidil eter kullanılarak epoksi çapraz bağlanma gerçekleştirilmiştir. Bu çapraz bağlanmada kitosanın amin ve alkol fonksiyonel grupları ile Agar/-agarın hidroksi grupları kullanılmıştır. Bu bileşikler elementel analiz (C, H, N), FT-IR, TGA-DTA analiz teknikleri ile aydınlatılmıştır.

Kitosan türevlerinin yüzey yapısının incelenmesinde taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscopy, SEM) ile elde edilen görüntüler kullanılmıştır.

Epoksi reaksiyonlarında amin ve alkol grupları bir yarış halinde olup amin daha hızlı reaksiyon verir. Reaksiyona giren Kitosan ile Agar-agarın çapraz bağlanmasında kitosan oranının artması ve dolayısıyla amin gruplarının artması ile amininin bağlanma önceliklerinden dolayı, farklı oranlarda çapraz bağlanmanın gerçekleştiği ve bunun sonucunda farklı su tutma ve şişme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür.

Çapraz bağlı kitosan/Agar-agar türevlerinin 25°C ve 37°C’de, pH 4,0; 7,0 ve 10,0’da şişme çalışmaları yapılarak türevlerin şişme davranışı hakkında veriler elde edilmiştir.

Sentezlenen türevlerinin su tutma kapasitelerine bakıldığında bu türevlerin bir kısmının hidrojel olarak sınıflandırabiliriz. Hidrojellerdeki Serbest NH₂ gruplarının oranına ve çapraz bağlanma şekline bağlı olarak hidrojin asidik bazik, nötr ve farklı sıcaklık ortamlarındaki çözünürlüğü değişkenlik göstermektedir.

Asidik ortamda ve sıcaklık arttıkça hidrojin sudaki çözünürlüğü arttığından düşük sıcaklık ve bazik ortamda daha yüksek şişme değerleri elde edilmiştir. Poroz yapı arttıkça su tutma kapasitesinin daha fazla olduğu, porozitenin azalması durumunda su tutma kapasitesinin daha az olduğu gözlenmiştir. Yine çapraz bağlanmanın fazla olduğu türevlerde su tutma kapasitesinin en az olduğu, aynı tür çapraz bağlayıcılarla daha az çapraz bağlanan türevlerde su tutma kapasitesinin daha fazla olduğu görülmüştür.

Hidrojellere sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) metanol ekstraktı eklenerek antioksidan özellik kazandırılmaya çalışılmıştır. Bu işlemler sonucunda DPPH absorpsiyonunun % inhibisyonu BHT için %94,76 iken sarı kantaron metanol ekstraktı için %41,38 olarak bulunmuştur. Gerek hidrojel yapısı gerekse çapraz bağlanmadan dolayı hidrojeller zaman içinde farklı oranda su tutarak şişerler. Bu süreç içinde metanol ekstraktının hidrojel içinde hapsolması sonucu antioksidan olarak kullandığımız bitki ekstraktı ile DPPH in etkileşime girmesi daha az olduğundan saf bitki metanol ekstraktına göre daha düşük inhibisyon oranları sergilemiştir. Blendlerin çapraz bağlı türevlere göre daha hızlı şişmesinden dolayı blendlerde çapraz bağlı türevlere oranla daha yüksek inhibisyon değerleri gözlenmiştir.

Fenolik madde içeriği %5 oranında bitki ekstraktı içeren hidrojeller için Folin-Ciocalteu yöntemi ile hesaplanmış ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri/g hidrojel olarak hesaplanmıştır. Hidrojellerin bahsettiğimiz özelliklerinden ve hidrojel içinde bitki ekstraktının hapsolmasından dolayı hidrojellerde bitki ekstraktına oranla düşük fenolik madde içerikleri bulunmuştur. Buna karşın zaman içinde hidrojin şişmesi ve parçalanmasıyla fenolik maddelerin salınımının daha geniş bir süreçte gerçekleşecek olması sentezlenen hidrojelleri değerli kılacaktır.

Bu çalışmada, biyobozunur ve toksik olmayan iki biyopolimer olan kitosan ve Agar-agar'ın blend ve çapraz bağlı türevleri hazırlanarak türevlerin karakterizasyonları yapılmıştır. Türevlerin su tutma kabiliyetleri incelenmiştir. kitosan / Agar-agar türevlerine Sarı kantaron metanol ekstresi eklenek bitki ekstraktı içeren filmler hazırlanmıştır. Hazırlanan filmlerin bitki ekstraktı içeren ve içermeyen örneklerinin

antioksidan özellikleri karşılaştırılmıştır. Sentezi gerçekleştirilen türevlerin su tutma yeteneklerinin yüksek olmasından hidrojel olarak, bitki ekstraktı başta olmak üzere ilaç, gübre vb maddelerin salınımında, istenmeyen ortamlardan suyun uzaklaştırılmasında kullanılabilir.



KAYNAKLAR

- Ahmed, E.M., 2015. Hydrogel: preparation, characterization, and applications: a review. **Journal of Advanced Research**, 6, 105–121.
- Aguilar, M.R. Elvira, C., Gallardo A., Vázquez B., and Román J.S., 2007. **Smart polymers and their applications as biomaterials**. Ed. Reis R, & Chiellini E, Madrid, SPAIN.
- Aksu, Ö., and Altınterim, B., 2015. Kantaron Otu (*Hypericum perforatum*) ve Hiperisin. **Bilim ve Gençlik**, 3(1), 58-64.
- Altay, P., Başal, G., 2010. Yara örtüleri, **Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi**, 4(1), 109-121.
- Altıok, D., 2018. Chitosan based edible films enriched with black cumin oil for potential food packaging applications. **Cumhuriyet Science Journal**, 39(3), 791-798.
- Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Dubovik, A.S., Grinberg, N.V., Burova, T.V., Grinberg, V.Y., 2005. "Temperature-sensitive chitosan-poly(Nisopropylacrylamide) interpenetrated networks with enhanced loading capacity and controlled release properties", **Journal of Controlled Release**, 102: 629-641.
- Argin, S., Kofinas, P., and Lo, Y. M., 2014. The cell release kinetics and the swelling behavior of physically crosslinked xanthan–chitosan hydrogels in simulated gastrointestinal conditions. **Food Hydrocolloids**, 40, 138-144.
- Bajić, M., Ročnik, T., Oberlintner, A., Scognamiglio, F., Novak, U., and Likozar, B., 2019. Natural plant extracts as active components in chitosan-based films: A comparative study. **Food packaging and shelf life**, 21, 100365.
- Bajpai, A.K., Bajpai, J., Saini, R., Gupta, R., 2011. Responsive polymers in biology and technology. **Polymer Reviews**, 51: 53-97.
- Bastida, J., Lavilla, R., Viladomat, F., 2006. "Chemical and Biological Aspects of Narcissus Alkaloids". In Cordell, G. A. (ed.). **The Alkaloids: Chemistry and Biology**. Vol. 63. pp. 87–179.
- Baytop, T., 1999. **Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)**, Nobel Tıp Kitabevleri , İstanbul,; 166-167
- Blanco-Fernandez, B., Lopez-Viota, M., Concheiro, A. and Alvarez-Lorenzo, C., 2011. Synergistic performance of cyclodextrin-agar hydrogels for ciprofloxacin delivery and antimicrobial effect. **Carbohydrate Polymers**, 85 (4): 765-774.
- Bhattarai, N., Gunn, J., Zhang, M., 2010. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery, **Advanced Drug Delivery Reviews**, 62, 83-99.
- Boateng, J.S., Matthew, K.H., Stevens, H.N.E., Eccleston, G.M., 2007. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 97(8), 2892-2923.
- Boral, S., Saxena, A. and Bohidar, H.B., 2010. Syneresis in agar hydrogels. **International Journal of Biological Macromolecules**, 46 (2), 232-236.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. L. W. T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, 28(1), 25-30.

- Cascone, M. G., and Maltinti, S., 1999. Hydrogels based on chitosan and dextran as potential drug delivery systems. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, 10(5), 301-307.
- Chen, S.L., Sun, Y., Xu, J., 2010. Strategies of the study on Herb Genome Program. **Acta Pharmacologica Sinica**. 45 (7), 807–812.
- Chmelir, M., Dahmen, K., Hoffman, G., Werner, G., 1983. Absorbents for blood and serous body fluids, **Chemical Abstract**, 98: 11379, 391.
- Çoban, Z., Yener, M., Benli, A., Amanov, K., Altaylı, E., Demir, H., Kılıçarslan, Ö., Çavana, E. ve Güran, Ş., 2016. Molecular view to the effect of centaury oil on wound healing, **Cumhuriyet Medical Journal**, 231-239.
- Dai, Y.N., Li, P., Zhang, J.P., Wang, A.Q., Wei, Q., 2008. Swelling Characteristics and Drug Delivery Properties of Nifedipine-Loaded pH Sensitive Alginate–Chitosan Hydrogel Beads. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, 86, 493-500.
- Demetgül, C. and Serin, S., 2008. Synthesis and Characterization of a New vic-dioxime of Chitosan Derivative ant Its Transition Metal Complexes. **Carbohydrate Poylmers**, 72(3), 506-512.
- Denkbaş, E.B., Ottenbrite, R.M., 2006. Perspectives on: chitosan drug delivery systems based on their geometries, **journal of Bioactive and Compatible Polymers**. 21, 351– 368.
- Dharmananda, S., 1997. **The Methods of Preparation of Herb Formulas: Decoctions, Dried Decoctions, Powders, Pills, Tablets, and Tinctures**. Institute of Traditional Medicine, Portland, Oregon.
- Dolbow, J., Eliot, F. and Ji, H., 2004. Chemically induced swelling of hydrogels. **Journal of the Mechanics and Physics of Solids**, 52, 51-84.
- Ersoy, E., Ozkan, E. E., Boga, M., and Mat, A., 2020. Evaluation of in vitro biological activities of three Hypericum species (H. calycinum, H. confertum, and H. perforatum) from Turkey. **South African Journal of Botany**, 130, 141-147.
- Evmenenko, G., Alexev, V., Budtova, T., Buyanov A. and Frenkel, S., 1999. Swelling-induced changes of polyelectrolyte gels. **Polymer**, 40, 2975-2979.
- Feil, H., Bae, Y., Feijen, J., Kim, S., 1992. Mutual influence of pH and temperature on the swelling of ionizable and thermosensitive hydrogels. **Macromolecules** 25(20),5528–5530
- Feil, H., Bae, Y., Jan, F., Sung, W.K., 1993. Effects of comonomer hydrophilicity and ionization on the lower critical solution temperature of N-isopropylacrylamide copolymers. **Macromolecules** 26, 2496–2500.
- Gerard, J., 1597. **The Herballe or General History of Plantes**, Imprinted by John Norton, London.
- Gulick, R. M., McAuliffe, V., Holden-Wiltse, J., Crumpacker, C., Liebes, L., Stein, D. S., Meehan, P., Hussey, S., Forcht, J., Valentine. F.T.. 1999. Phase I studies of hypericin, the active compound in St. John's wort, as an antiretroviral agent in HIV-infected adults: AIDS clinical trials group protocols 150 and 258. **Annals of internal medicine**, 130(6), 510-514.
- Gümüşderelioğlu, M., Kesgin, D., 2001. Akıllı polimerler, **Bilim ve Teknik**, 52-55.
- Hayat, S. ve Ahmad, A., 2007. Salicylic Acid – A Plant Hormone. Springer Science and Business Media.
- Hernández-Ochoa, L., Macías-Castañeda, C.A., Nevárez-Moorillón, Salas-Muñoz, E., Sandoval-Salas, F., 2012. Antimicrobial activity of chitosan-based films

- including spices' essential oils and functional extracts, **CyTA-Journal of Food** 10 (2), 85-91
- Imeson, A., 2010. **Food stabilisers, thickeners and gelling agents**. Wiley Blackwell, pp. 31, United Kingdom..
- Jawad, A. H., Hanani Mamat, N.F., Hameed B.H., Khudzir I., 2019. Biofilm of cross-linked chitosan-ethylene glycol diglycidyl ether for removal of reactive red 120 and methyl orange: adsorption and mechanism studies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 7(2), 102965.
- Jiao, J., Lü, G., Liu, X., et al., 2011a. Reduction of blood lead levels in lead-exposed mice by dietary supplements and natural antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 91 (3), 485–491.
- Jiao, Y., Wickett, N.J., Ayyampalayam, S., et al., 2011b. Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. **Nature**, 473 (7345), 97–100.
- Jarzębski, M., Smulek, W., Baranowska, H. M., Masewicz, Ł., et al., 2020. Characterization of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) and the impact of filtration process on bioactive extracts incorporated into carbohydrate-based hydrogels. **Food Hydrocolloids**, 104, 105748.
- Karadağ, E., Saraydin, D., Çetinkaya, S., Güven, O., 1996, In vitro swelling studies and preliminary biocompatibility evaluation of acrylamide-based hydrogels, **Biomaterials**, 17, 67-70.
- Kim, B., Hong, D., Chang, W.V., 2013. Swelling and mechanical properties of pH-sensitive hydrogel filled with polystyrene nanoparticles. **journal applied polymer science**, 130, 3574–3587 5.
- Kim, S. J., Kim, H., Par, S. J., and Kim, S. I., 2004. Shape change characteristics of polymer hydrogel based on polyacrylic acid/poly(vinyl sulfonic acid) in electric fields. **Sensors and Actuators A Physical**, 115: 146-150.
- Kumar, S., Wong, P.F., Leaper, D.J., 2004. What is new in wound healing? **Turkish Journal of Medical Sciences**, 34, 147-160
- Lee, W.K., Lim, Y.Y., Leow, T.C., Namasivayam, P., Abdullah, J.O. and Ho, C.L. 2017. Biosynthesis of agar in red seaweeds: Akim review. **Carbohydrate Polymers**, 164: 23-30.,
- L'vovich, D.S., 2015. **Method For Production Of Agar Agar Soluble In Water Without Boiling**, patent no. RU2551101C1
- Magnin, D., Lefebvre, J., Chornet, E. And Dumitriu, S., 2004. Physicochemical and structural characterization of a polyionic matrix of interest in biotechnology, in the pharmaceutical and biomedical fields. **Carbohydrate Polymers**, 55: 437-453.
- Mahmoud Nasef, M., El-Hefian, E. A., Saalah, S., & Yahaya, A. H., 2011. Preparation and properties of non-crosslinked and ionically crosslinked chitosan/agar blended hydrogel films. **E-Journal of Chemistry**, 8, 409-419.
- Maria, B., Witte, M.D., Barbul, A., 1997. General Principles of Wound Healing, **Surgical Clinics of North America**, 77(3), 509-528.
- McCord, J.M., Fridovich, I., 1978. The biology and pathology of oxygen radicals. **Annals of Internal Medicine** 89, 122-127
- Meral, G., 2003. **In Vitro Antibacterial Activities of three Hypericum species antienflamatuar** Ernst. E., *Hypericum: The Genus Hypericum*, Taylor&Francis, London, p:213-220

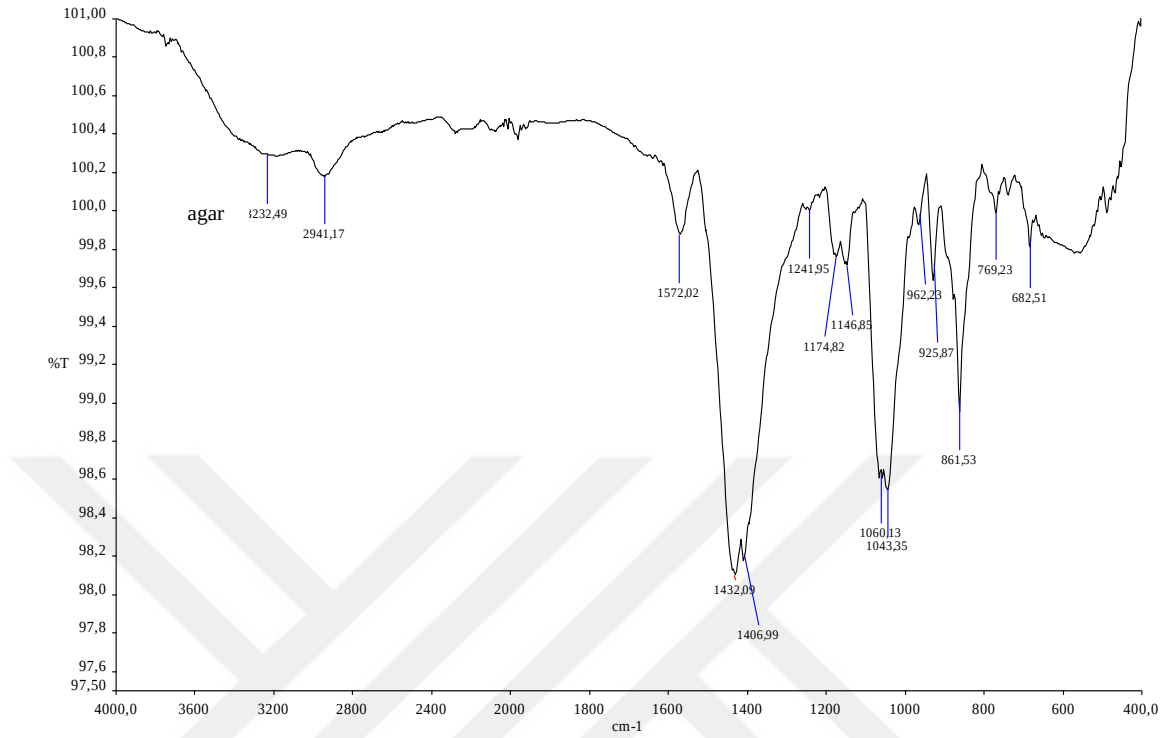
- Mohanty, A. K., Misra, M., Drzal L.T., 2002. Sustainable Bio-Composites from Renewable Resources: Opportunities and Challenges in the Green Materials World, **Journal of Polymers and the Environment**, 10, 1, 19–26.
- Muzzarelli, R.A.A., Muzzarelli, C., 2005. **Chitosan chemistry: relevance to the biomedical sciences, Polysaccharides 1: Structure, Characterization and Use**, 151–209.
- Müller, W.E., 2005. **St. John's Wort and Its Active Principles in Depression and Anxiety**, p.53
- Nahrstedt, A., Butterweck, V., 1997. Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. **Pharmacopsychiatry**. 30, 129-34.
- Nürk, N.M., Blattner, D.F. R., 2011. Phylogenetic analyses in *St. John's wort* (*Hypericum*). Inferring character evolution and historical biogeography. *Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie*, Doktors de, vi, 129.
- Ortiz, S.E.M., Puppo, M.C. and Wagner, J.R., 2004. Relationship between structural changes and functional properties of soy protein isolates-carrageenan systems. **Food Hydrocolloids**, 18 (6), 1045-1053.
- Park, K., Shalably, S.W.W., Park, H., 1993. **Biodegradable hydrogels for drug delivery, Technomic Publishing Co. Inc.**, 1-12, 35-66.
- Paul, W., Sharma, C.P., 2004. Chitosan and Alginate Wound Dressings: A Short Review, **Trends in Biomaterials & Artificial Organs**, 18 (1), 18-23.
- Peppas, N.A., Mikos, A.G., 1986. **Preparation methods and structure of hydrogels. Hydrogels in Medicine and Pharmacy, Fundamentals**, CRC Pres, Florida.
- Qui, Y., Park, K., 2001. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, **Advanced Drug Delivery Reviews**, 53, 321-339.
- Radulović, N., Stankov-Jovanović, V., Stojanović, G., Šmelcerović, A., Spitteller, M., Asakawa, Y., 2007. Screening of in vitro antimicrobial and antioxidant activity of nine *Hypericum* species from the Balkans. **Food Chemistry**. 10,315–21.
- Rinaudo, M., Auzel, y R., Mazeau, K., 2002. **Encyclopedia of Polymer Science and Technology**, John Wiley & Sons, Inc..
- Rivas, B.L., Geckeler, K.E., 1992. Synthesis and metal complexation of poly(ethylenimine) and derivatives. **Advances in Polymer Science**, 102,173–83.
- Robson, M.C., Steed, D.L., Franz, M.G.2001. Wound Healing: Biologic Features and Approaches to Maximize Healing Trajectories, **Current Problems In Surgery**, 38(2), 71-141.
- Roseman, T.J., Carderelli, N.F., 2001. Monolithic polymer devices, Control. **Release Technology**., 11, 46-49.
- Rosso, F., Barbarissi, A., Barbarissi, M., Petillo, O., Margarucci, S., Calarco, A. and Peluso, G., 2003. New polyelectrolyte hydrogels for biomedical applications. **Materials Science and Engineering**, 23: 371-376.
- Saraydin, D., Karadag, E., Isikver, Y., Sah_Ner, N. And Güven, O., 2004. The influence of preparation methods on the swelling and network properties of acrylamide hydrogels with crosslinkers. **Journal of Macromolecular Science, Part; A_Pure and Applied Chemistry**, A41(4), 421-433.
- Sarrou, E., Giassafaki, L. P., Masuero, D., Perenzoni, D., Vizirianakis, I. S., Irakli, M., and Martens, S., 2018. Metabolomics assisted fingerprint of *Hypericum perforatum* chemotypes and assessment of their cytotoxic activity. **Food and Chemical Toxicology**, 114, 325-333.

- Shechter, L., Wynstra, J., Kurkcy, R.P., 1956. Glycidyl Ether Reactions with Amines. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 48, 94–97.
- Shibana, T., Ho, K., Toyama, S., 1987. Highly water-absorbing polymer, **Chemical Abstract**, 106: 33625t, 11.
- Simpson, P.J., Mickelson, J.K., Lucchesi, B.R., 1987. Free radical scavengers in myocardial ischemia. **Federation Proceedings**, 46, 2413- 2421.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. 1999. **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In Methods in enzymology** (Vol. 299, 152-178). Academic press.
- Sonker, A. K., Belay, M., Rathore, K., Jahan, K., Verma, S., Ramanathan, G., and Verma, V., 2018. Crosslinking of agar by diisocyanates. **Carbohydrate polymers**, 202, 454-460.
- Struszczyk, H., Orlikowski, B.L., Skrzypczak, C., 2001. Chitosan in the Control of Soil-Borne Pathogens, **Chitin Enzymology**, 197-205.
- Süntar, I.P., Akkol, E.K., Keles, H., Oktem, A., kırmızıbekmez, H., Başer, K.H.C., Yeşilada, E., 2011. A novel wound healing ointment: A formulation of Hypericum perforatum oil and sage and oregano essential oils based on traditional Turkish knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, 134, 89-96.
- Şahiner, N., Sagbas, S., Sahiner, M., Silan, C., Aktas, N., and Turk, M., 2017. Agar/chitosan IPN thin hydrogel films with antimicrobial and antioxidant properties for potential dressing applications. **Current Applied Polymer Science**, 1, 52-62.
- Taşdelen, B., Kayaman, N., Güven, O., Baysal, B.M., 2005. Anticancer drug release poli(N-isopropylacrylamide/itaconic acid) copolymeric hydrogels, **Radiation Physics and Chemistry**, 73,340-345.
- Taşdelen, B.D., 2002. **Preparation, Characterization and Drug Release Behaviour of Thermo- and pH- Responsive Hydrogels and Microspheres**, Doktora Tezi, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul.
- Triantaphyllou, K., 2001. Antioxidative Properties of Water Extracts Obtained from Herbs of the Species Lamiaceae, **international journal of food science nutrition**. 52, 313-317
- Ulusoy, A., Dikmen, N., 2020. Hidrojellerin Tıpta Uygulamaları. **Arşiv Kaynak Tarama Dergisi**. 29(2), 129-137.
- Üzüm, Ö.B., Karadağ, E., 2011. Dye sorption and water uptake properties of crosslinked acrylamide/sodium methacrylate copolymers and semi-interpenetrating polymer networks composed of PEG. **Seperation Science and Technology**, 46, 489-499.
- Worsfold, P.J., 1995, Classifications and chemical characteristics of immobilized enzymes, **Pure and Applied Chemistry**, 67 (4), 597-600.
- Wölflle, U., Seelinger, G., Schempp, C.M., 2014. Topical application of St. John's wort (Hypericum perforatum), **Planta medica**, 80(02/03), 109-120.
- Wu, S.X., Hoffman, S.A., Yager, P., 1992. Synthesis and characterization of thermally reversible macroporous poly(N-isopropyl acrylamide) hydrogels, **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, 30, 2121-2129.
- Yang, Y, Ross, J., 2010, **Theories and concepts in the composition of Chinese herbal formulas**, Churchill Livingstone.

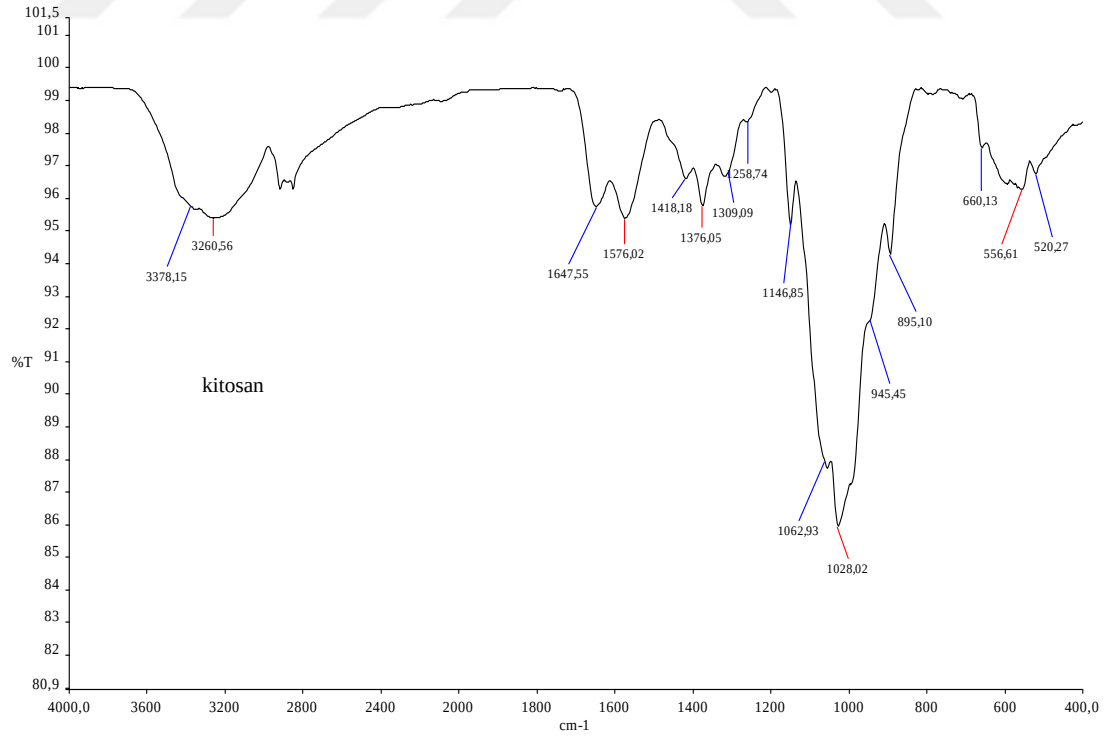
- Yusof, N.M., Jai, J., and Hamzah, F., 2019. Effect of coating materials on the properties of chitosan-starch-based edible coatings. In IOP Conference Series: **Materials Science and Engineering**. 507:1, 012011. IOP Publishing.
- Zbigniew, R., Schwartz, R.A., 2000. Modern aspects of wound healing: An update **Dermatologic Surgery**, 26, 219–229.
- Zhang, J., Peppas, N.A., 2000. Synthesis and characterization of pH- and temperature-sensitive poly(methacrylic acid)/poly(N-isopropylamide) interpenetrating polymeric Networks, **Macromolecules**, 33, 102-107.



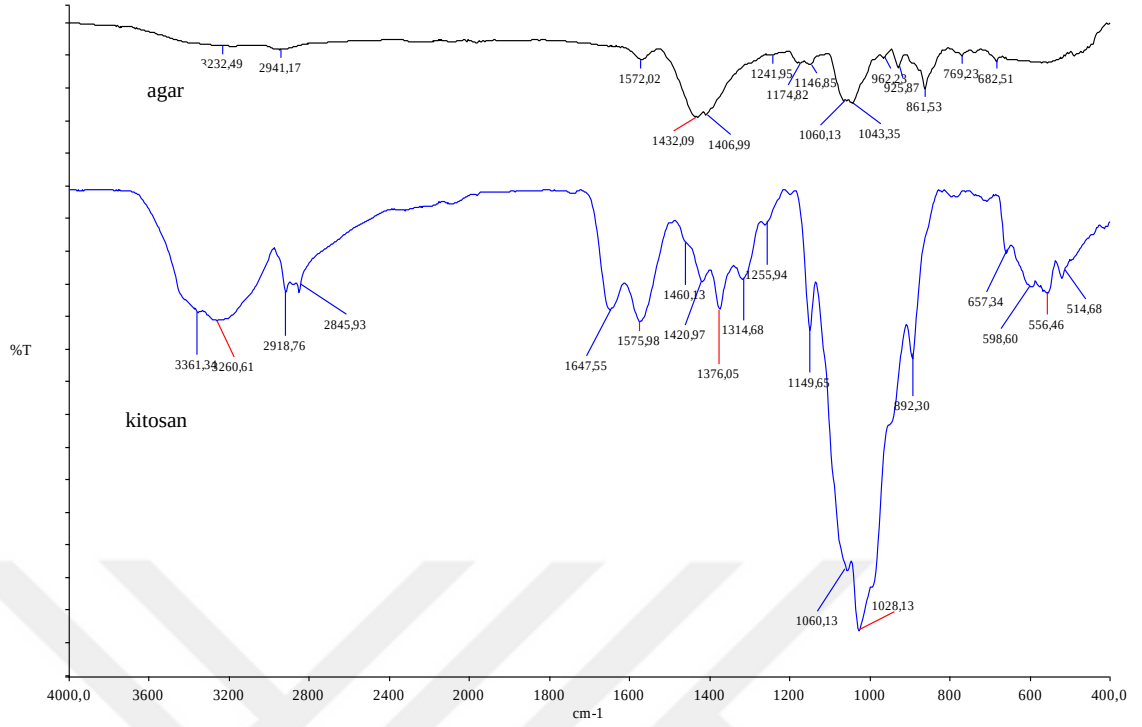
EKLER



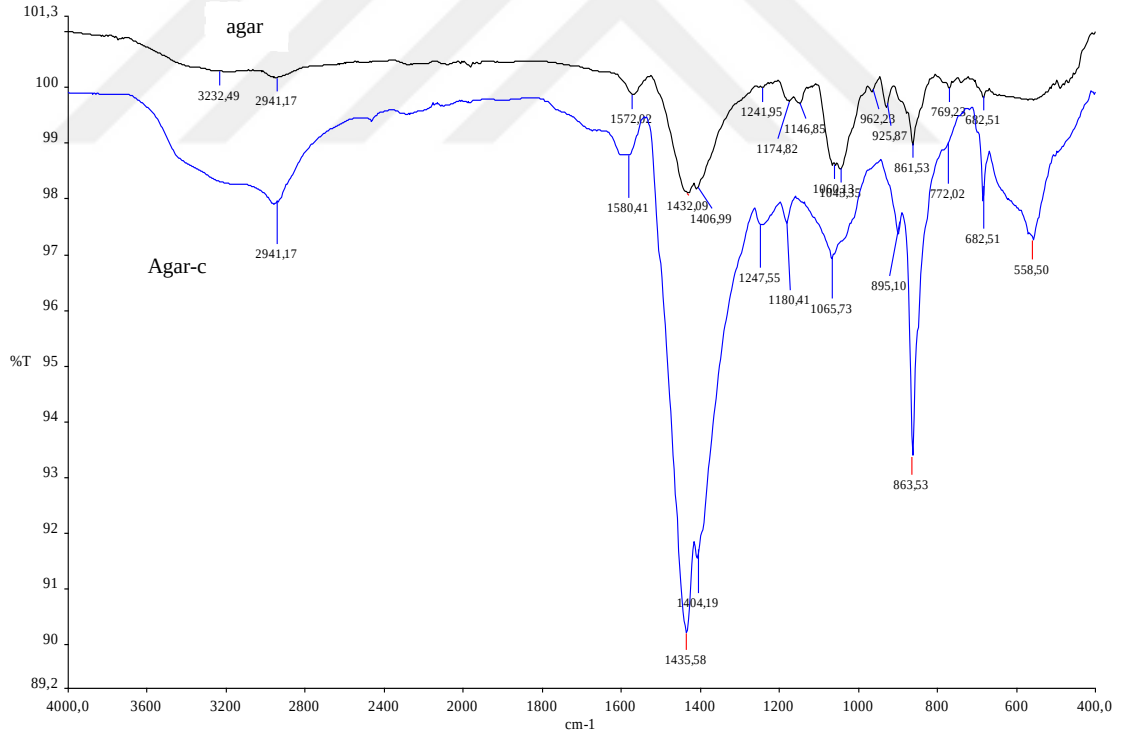
Ek 1. Agar-agar'ın FT-IR Spektrumu



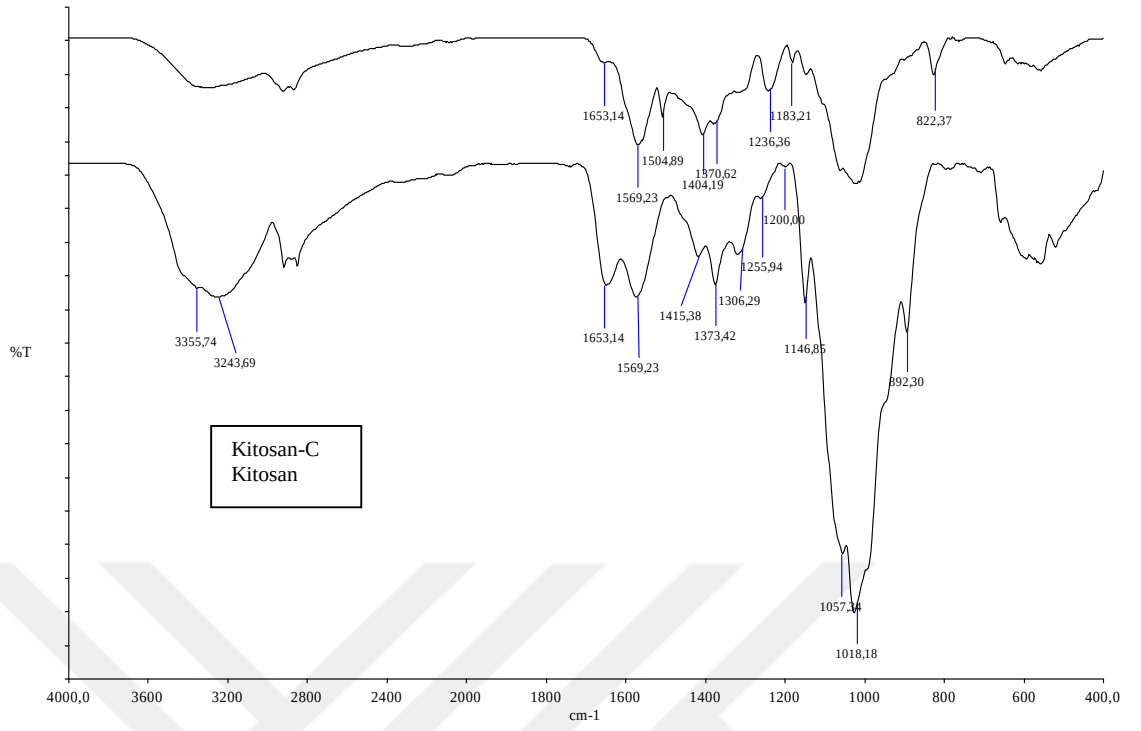
Ek 2. Kitosan FT-IR Spektrumu



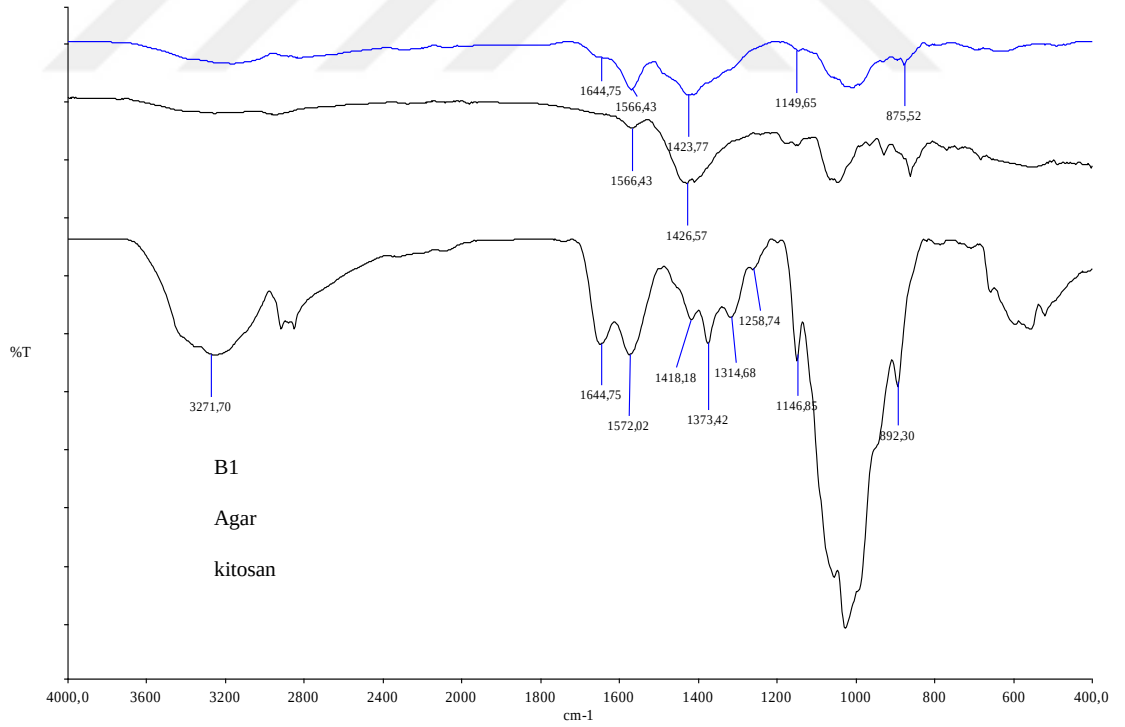
Ek 3. Agar-agar ve Kitosan'ın FT-IR spektrumu karşılaştırması



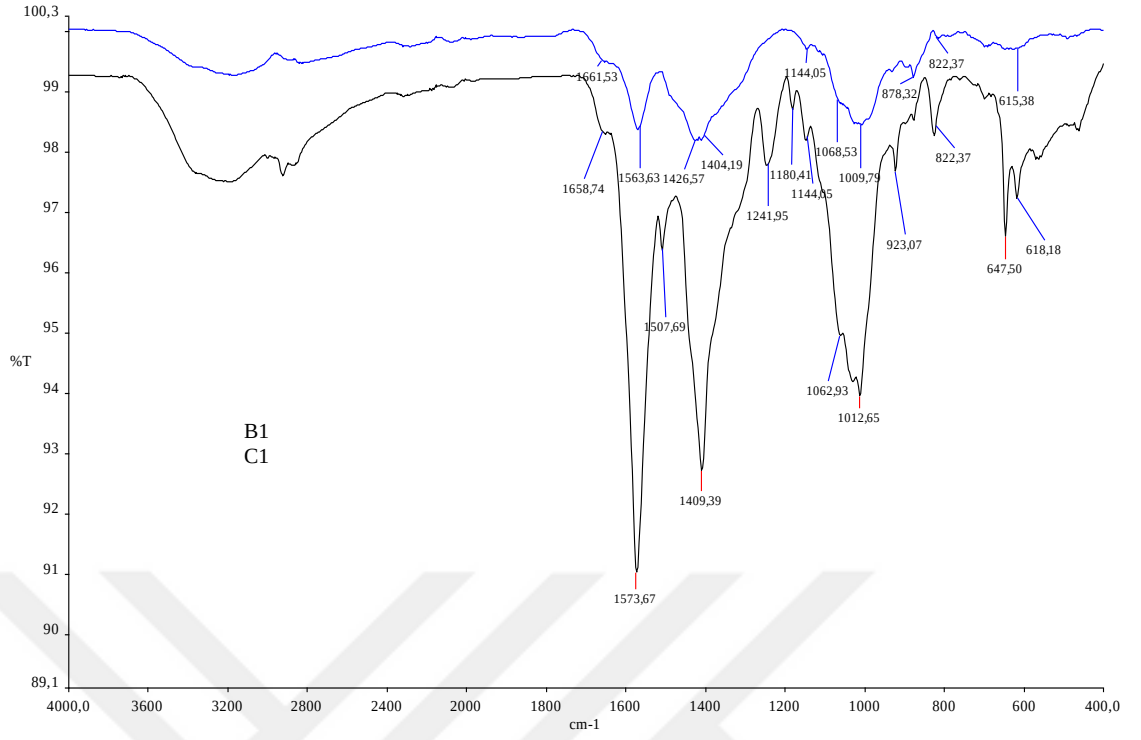
Ek 4. Agar-agar ve çapraz bağı Agar-agarı'nın FT-IR spektrumu karşılaştırması



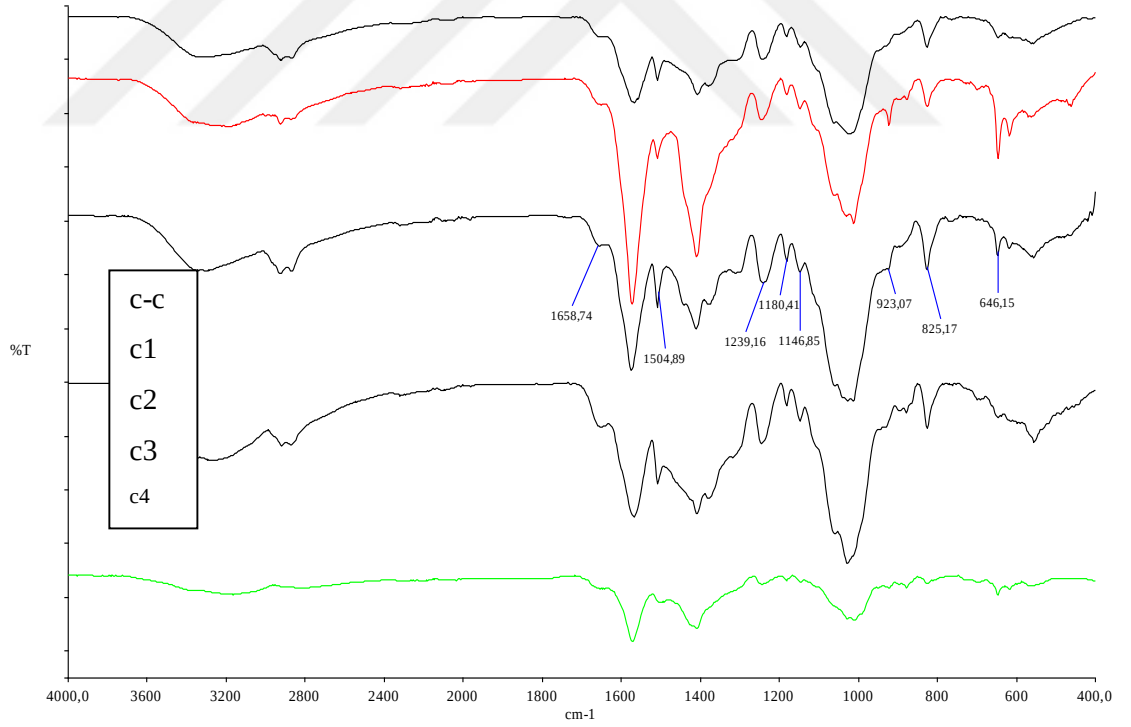
Ek 5. Kitosan ve çapraz bağlı Kitosanın FT-IR spektrumu karşılaştırması



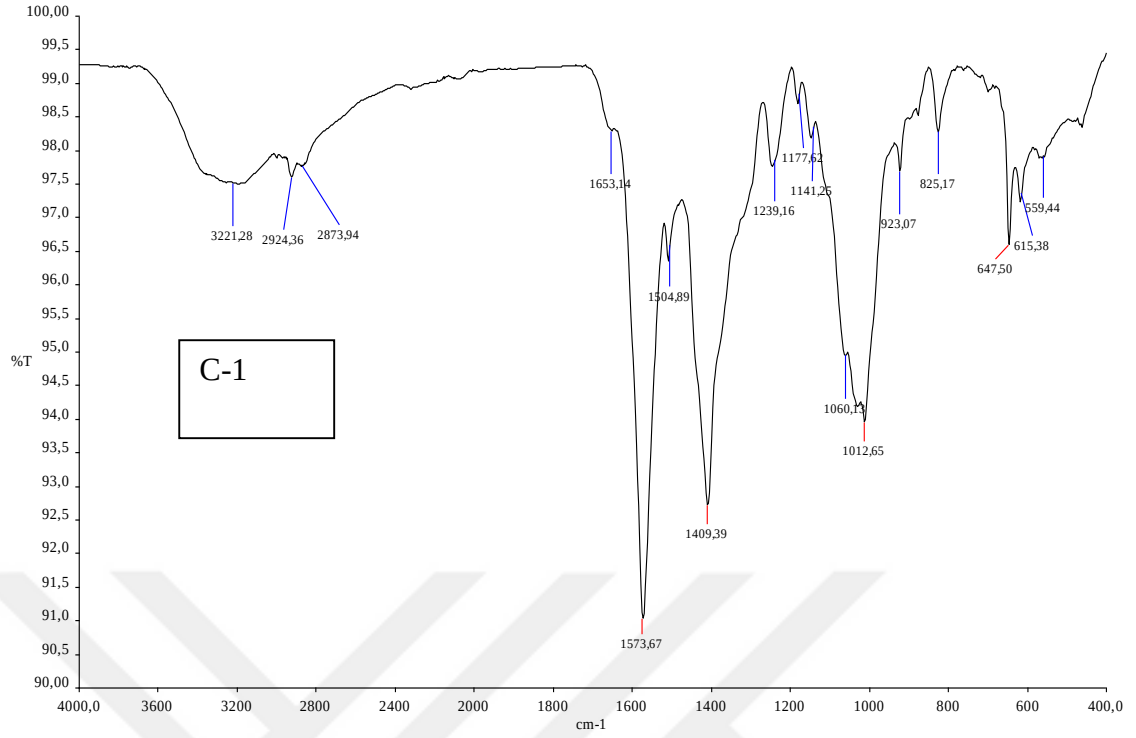
Ek 6. B1, Kitosan ve Agar-agar'ın FT-IR spektrumu karşılaştırması



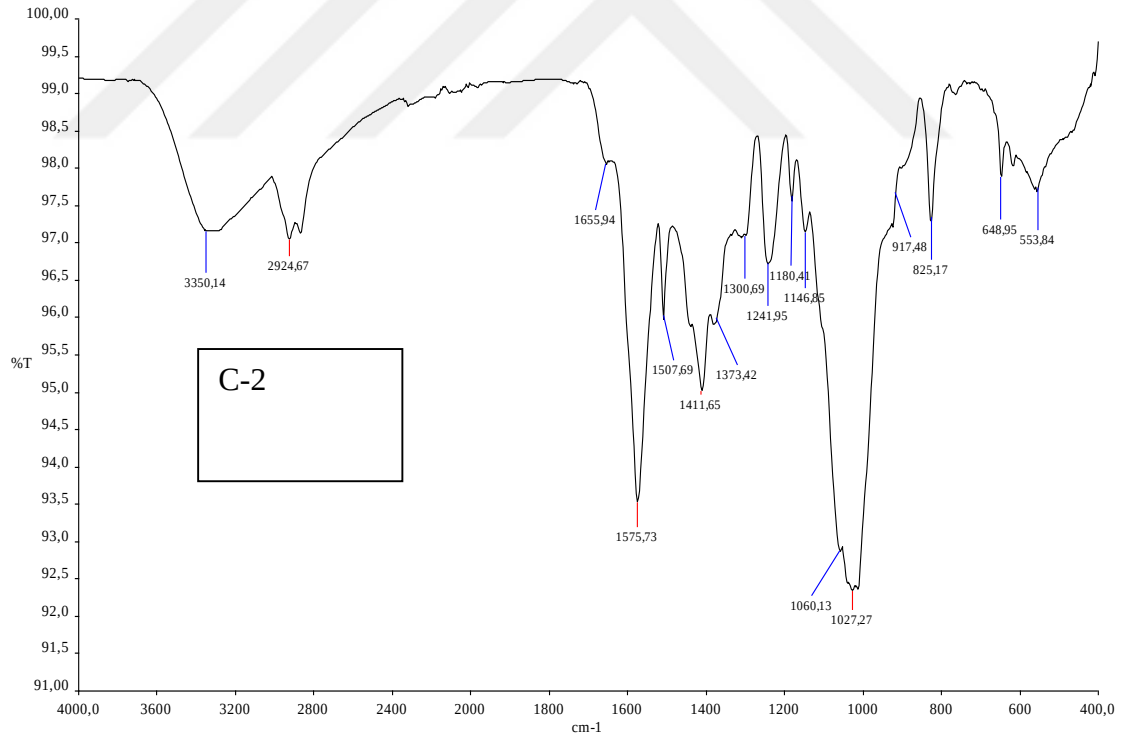
Ek 7. B1 ve C1'in FT-IR spektrumu karşılaştırması



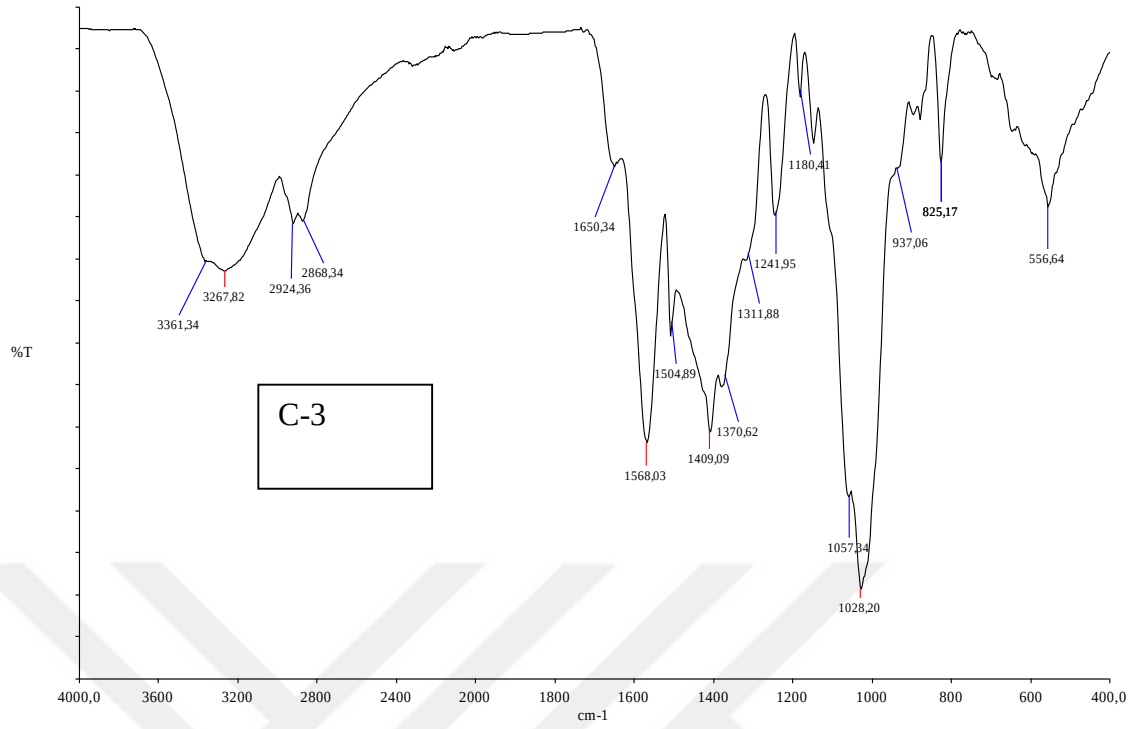
Ek 8. C-C, C1, C2, C3 ve C4'ün FT-IR spektrumu karşılaştırması



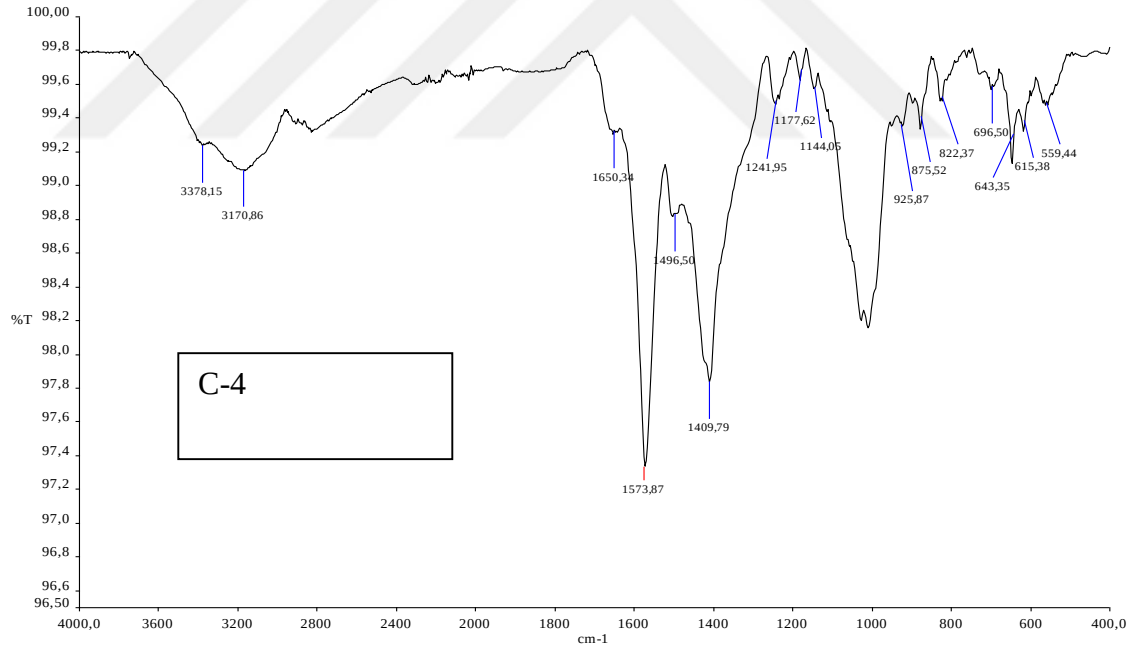
Ek 9. C1'in FT-IR spektrumu karşılaştırması



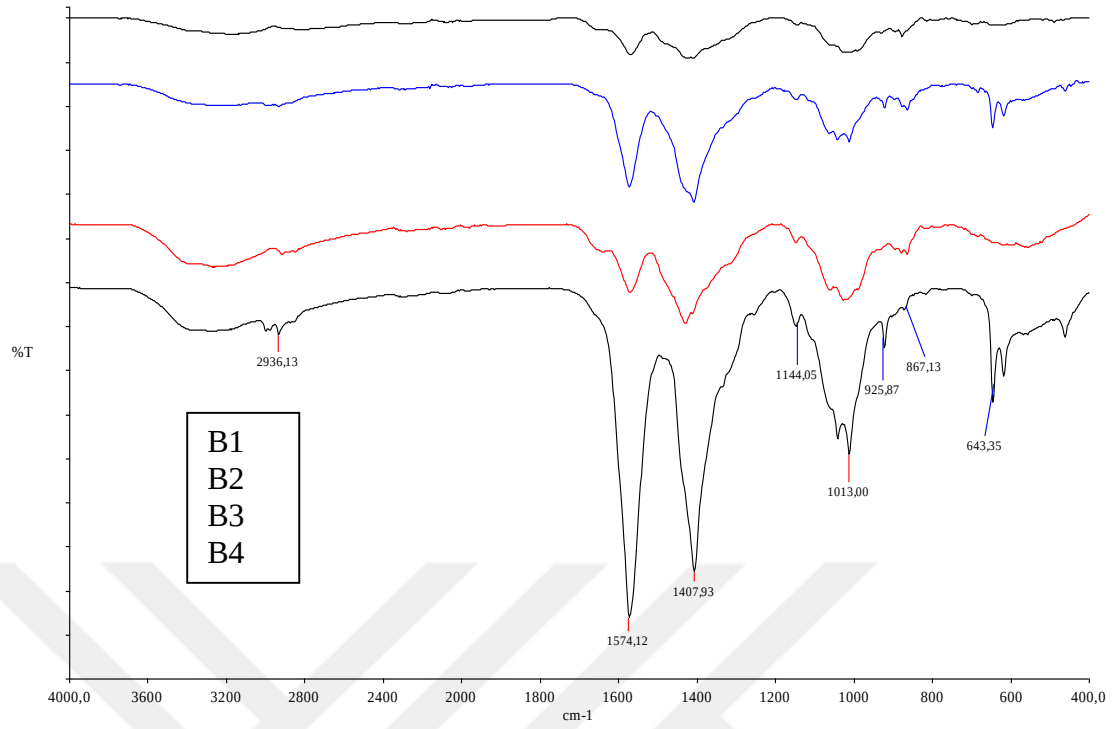
Ek 10. C2'nin FT-IR spektrumu karşılaştırması



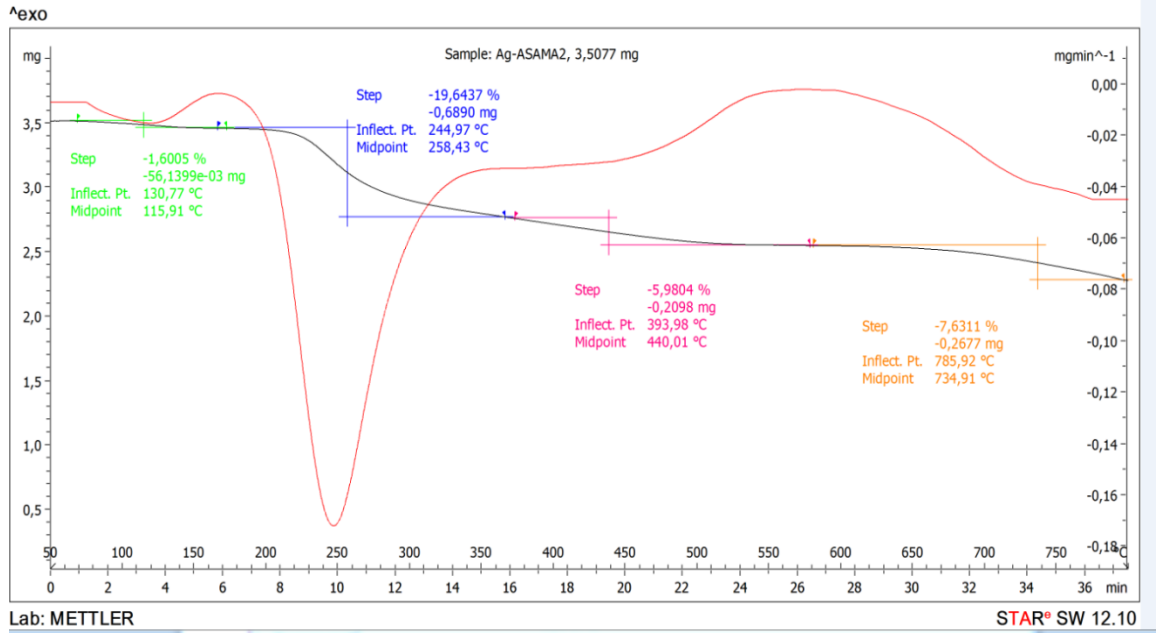
Ek 11. C3'ün FT-IR spektrumu karşılaştırması



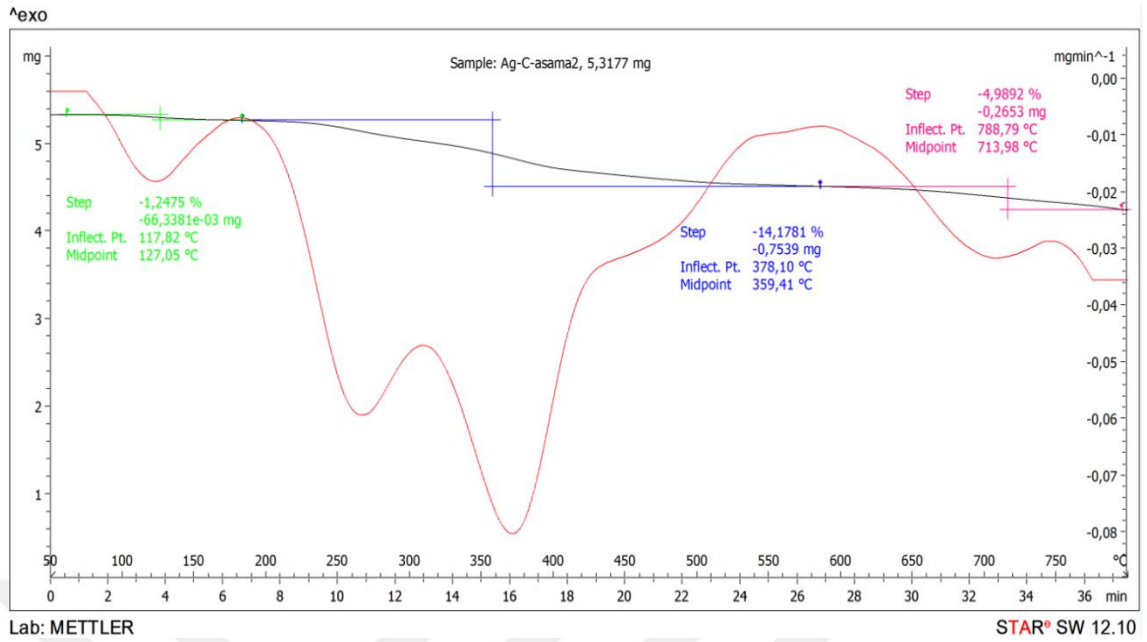
Ek 12. C4'ün FT-IR spektrumu karşılaştırması



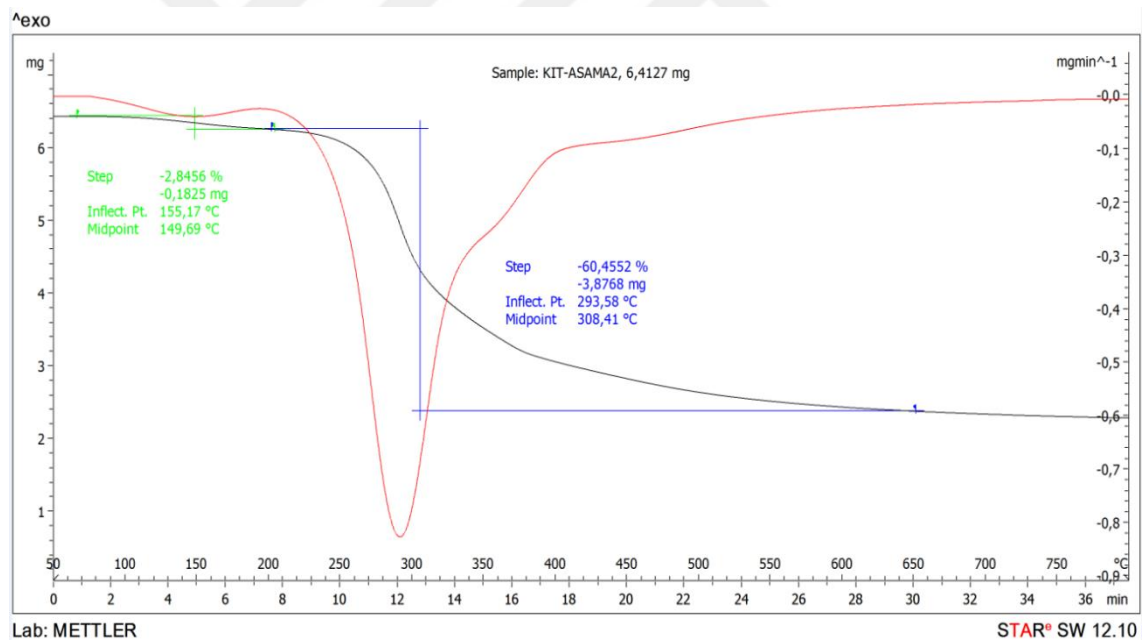
Ek 13. B1, B2, B3, B4'ün FT-IR spektrumu karşılaştırması



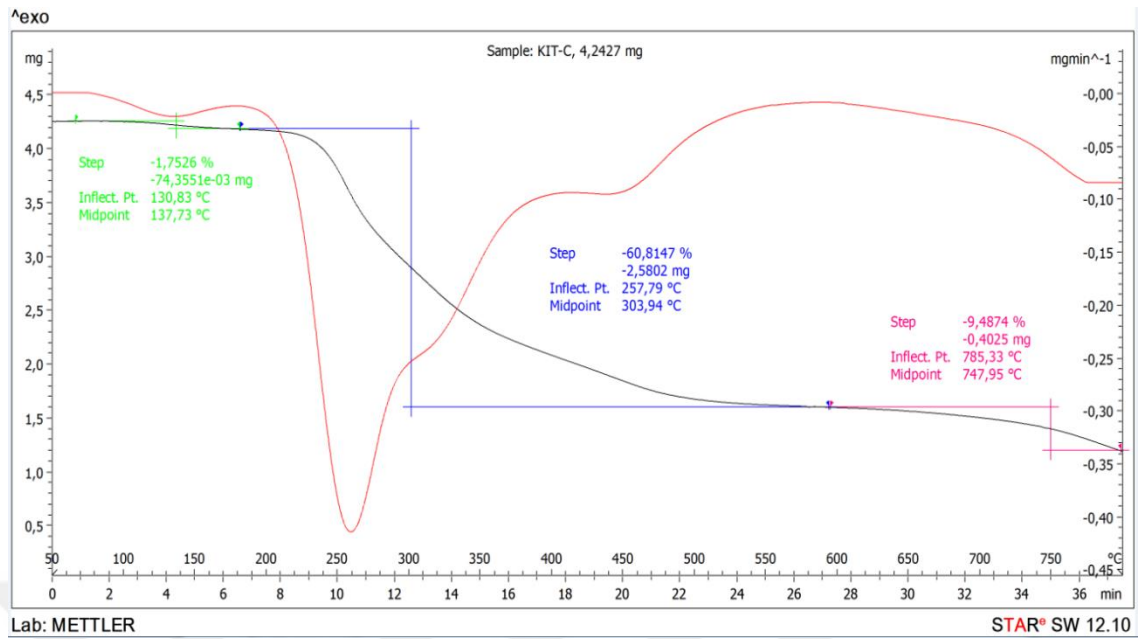
Ek 14. Agar-agar TGA-DTA termogramı



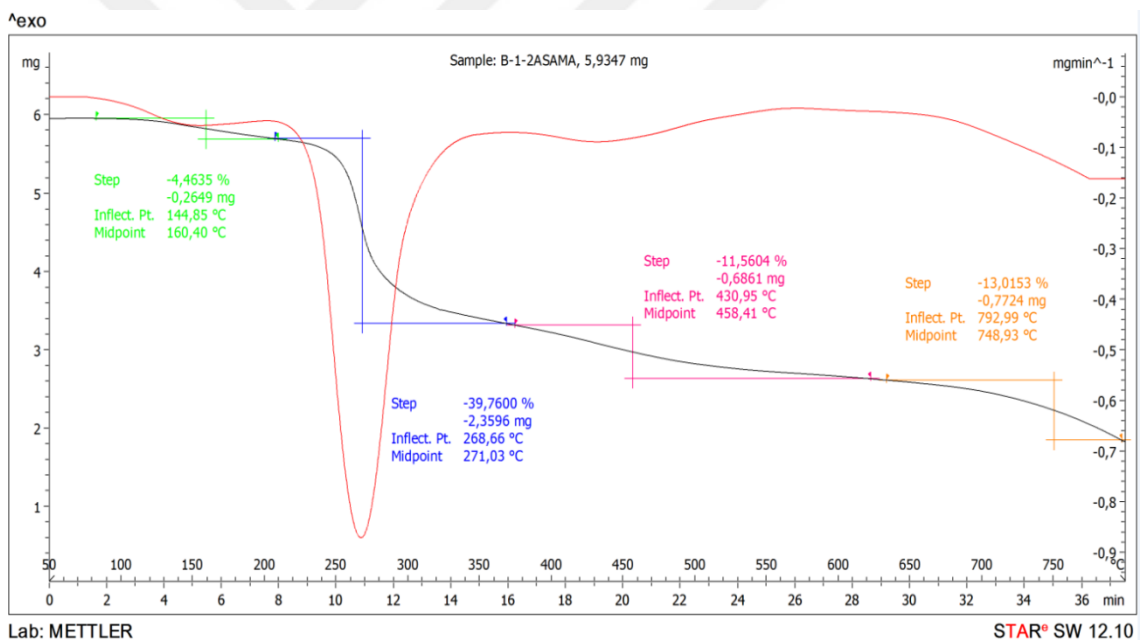
Ek 15. Agar-C TGA-DTA termogramı



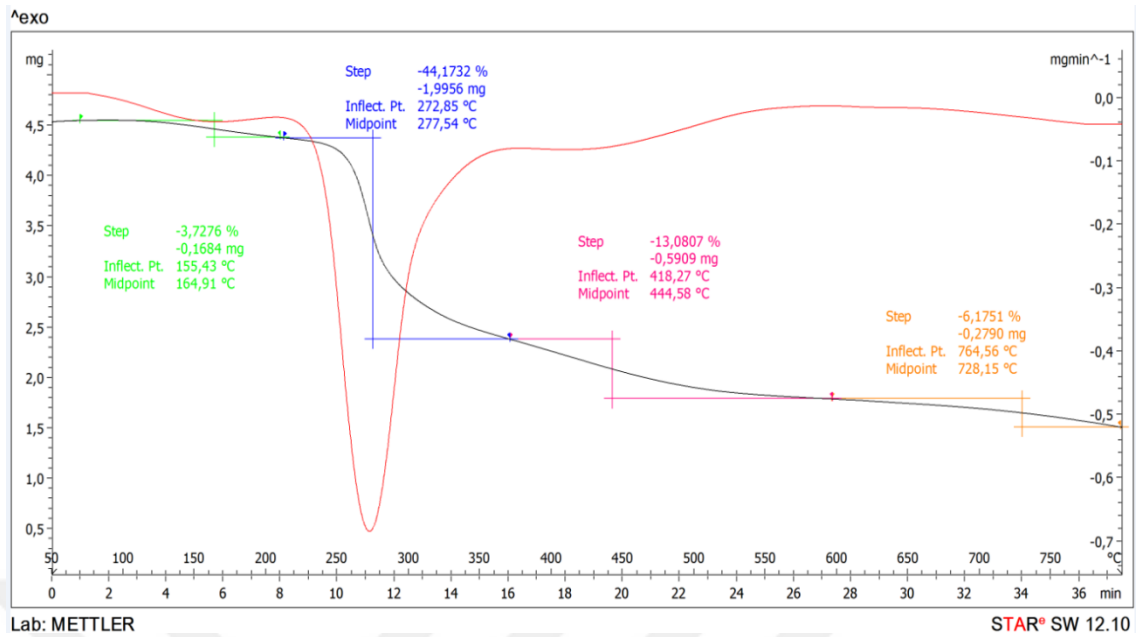
Ek 16. Kitosan TGA-DTA termogramı



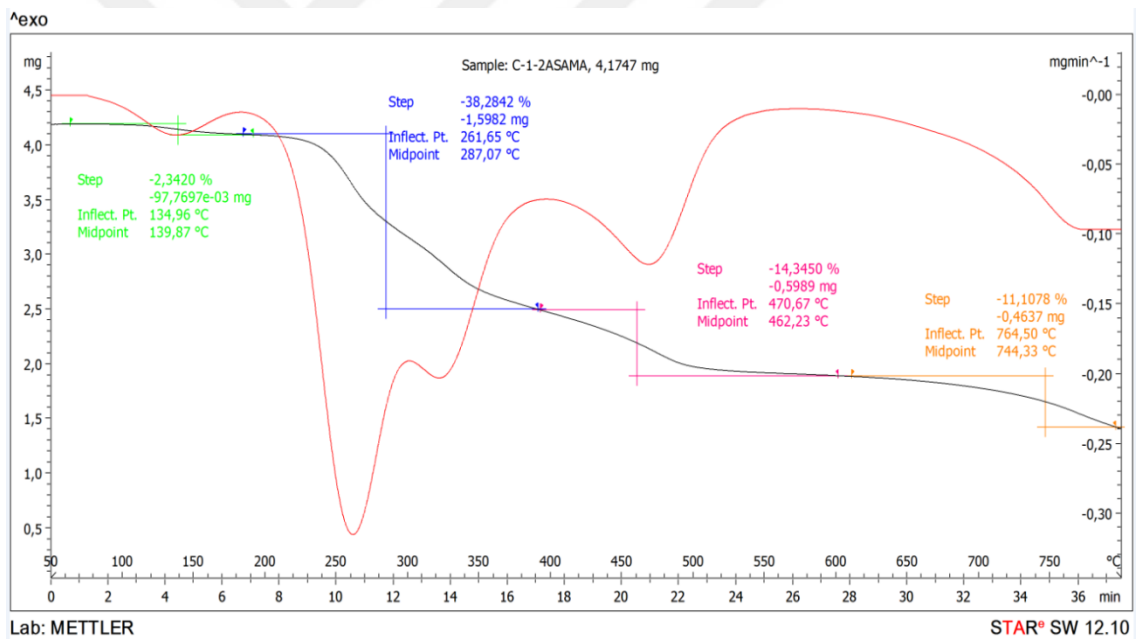
Ek 17 Kitosan-C TGA-DTA termogramı



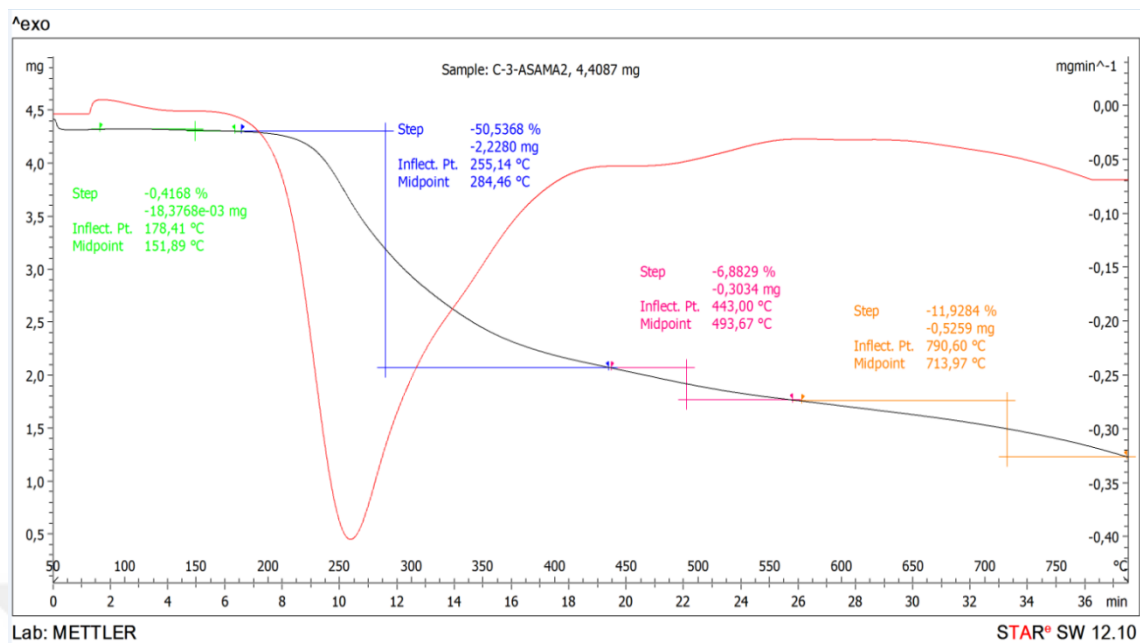
Ek. 18. B1 TGA-DTA termogramı



Ek 19. B-3 TGA-DTA termogramı



Ek 20. C-1'in TGA-DTA termogramı



Ek 21. C-3 TGA-DTA termogramı