Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi
Dergi web sayfası: http://fbd.beun.edu.tr
DOI: 10.7212%2Fzkufbd.v8i2.1155

Araştırma Makalesi
Geliş tarihi / Received : 20.10.2017
Kabul tarihi / Accepted : 31.10.2017

Alginat-Kitosan Bazlı Biofilm Sentezi için Deneysel Tasarım Uygulaması

Experimental Design Application for Alginate-Chitosan Based Biofilm Synthesis

Tuğçe Şimşek*, Seyfullah Keyf

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Öz

Alginat, biyopolimer olarak son zamanlarda tıp, gıda, çevre gibi alanlarda uygulamaları olan, hidrojel olarak yaygın kullanım alanına sahip bir maddedir. Hidrojeller, su içeriği yüksek olan hidrofilik polimerlerden oluşan üç boyutlu çapraz bağlı ağlardır.
Bu çalışmada iki makro molekülün iyonik bağlanmasını sağlayan bir çapraz bağlayıcı kullanılarak Alginat ile birlikte Kitosan hibrid polimer ağları oluşturmak amaçlanmıştır. Kitosan / Alginat hidrojeli, Alginat varlığı nedeniyle hidrojel stabilitesine sahiptir, fakat malzemenin film formu oluşturmasında mekanik dayanımın arttırılması amacıyla çevreyle uyumlu sentetik polimerler olan Polivinil alkol ve Polietilen oksit ilave edilmiştir. Değişik bileşimlerde Kitosan, Alginat, Polivinil alkol ve Polietilen oksit içeren matriks biyopolimerin çekme mukavemeti, yüzde uzama ve elastik bölge çekme kuvveti değişimleri incelenmiştir.
Deneysel tasarım metodu kullanılarak Alginat, PVA, Kitosan konsantrasyon faktörleri ile cevap yüzeyi olarak çekme mukavemeti, yüzde uzama ve elastik bölge çekme kuvveti incelenmiştir. Biyopolimer matriksinin faktörlerle cevap yüzeyleri ile ilişkisi fonksiyon olarak belirlenmiştir. Bu çalışmayla zaman ve kimyasal madde sarfiyatı azaltılmıştır. Optimizasyon için belirlenen en iyi cevap yüzeyini sağlayan faktör değerleri belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre biyopolimer matriksinin membran, film, gıda ambalajı için uygunluğu tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Alginat, Biofilm, Çevre, Gıda paketleme, Kitosan, Membran

Abstract

Alginate, as biopolymer, has recently been widely used as a hydrogel, which has applications in areas such as medicine, food, and environment. Hydrogels are three-dimensional cross-linked networks composed of hydrophilic polymers that include high amounts of water. In this work, it was aimed to form chitosan hybrid polymer networks with alginate by using a cross-linker that provides ionic bonding of two macromolecules. The chitosan / alginate hydrogel has hydrogel stability because of the alginate presence, but polyvinyl alcohol and poly(ethylene oxide), synthetic polymers compatible with the environment, are added to increase the mechanical strength of the material to form the film.
The tensile strength, percent elongation and elastic region tensile strength changes of the matrix biopolymer in different compositions of chitosan, alginate and polyvinyl alcohol containing biopolymer were investigated. Using the experimental design method, the tensile strength, percentage elongation and tensile strength of the elastic region were studied as response surface with alginate, PVA, chitosan concentration factors. The relationships between the factors and response surfaces for biopolymer matrix were determined as a function. With this work, the consumption of time and chemicals has been reduced. Factor values that provide the best response surface for optimization were determined. The suitability of the biopolymer matrix for membranes, films, food packaging was discussed according to the obtained data.

Keywords: Alginate, Biofilm, Environment, Food packaging, Chitosan, Membrane

1. Giriş

Biyouyumlu hidrojeller, biyotıpta, yara iyileşmesinde, ilaç vermede, çevre uygulamalarında (membran prosesleri), gıda kaplamalarında, gıda üretimi uygulamalarında olmak üzere pek çok alanda kullanılmaktadır. Hidrojeller, su içeriği yüksek olan hidrofilik polimerlerden oluşan üç boyutlu çapraz bağlı ağlardır. Yapısal olarak vücuttaki makromoleküler esaslı bileşenlere benzerlik gösterdiklerinden hidrojeller genellikle biyolojik olarak uyumludur.

*Sorumlu yazarın e-posta adresi: tugcetufekci_@hotmail.com

Tuğçe Şimşek orcid.org/0000-0002-9301-4377
Seyfullah Keyf orcid.org/0000-0001-8846-0674

Alginat, kahverengi alglerden türetilmiştir, doğal özellikli ve 1,4-bağlı β-D-mannuronik asit kalıntılarından ve değişen özelliklere sahip 1,4-bağlı α-L-guluronik asit kalıntılarından oluşan anyonik doğrusal bir polisakkarit polimeridir (Ress ve Welsh 1997). Alginat doğal kaynaklardan elde edildiğinden, ağır metaller, endotoksinler, proteinler ve polifenolik bileşikler gibi çeşitli safsızlıklar potansiyel olarak mevcut olabilir. Alginat çok adımlı ekstraksiyon işlemi ile çok yüksek saflıkta bir saflık derecesine kadar saflaştırıldığında ve hayvanlara implante edildiğinde önemli bir yabancı cisim reaksiyonu oluşturmamıştır. Benzer şekilde, piyasada bulunan, yüksek oranda saflaştırılmış alginattan jeller, farelere deri altından enjekte edildiğinde önemli bir enflamatuar tepki gözlenmemiştir (Lee vd. 2011).

Kitin 1884 te tanımlanmış çok önemli bir doğal poli (β-(1-4)-N-asetil-D-glukosamin) sakkarittir. Dünyada yıllık üretim miktarı düşünüldüğünde selülozdan sonra en çok bulunan polimerdir. Kitin deasetilasyon derecesi (orijin polimerine bağlı olarak) yaklaşık % 50'ye ulaştığında, sulu asidik ortamda çözünür hale gelir ve kitosan olarak adlandırılır. Kitosan, yalancı doğal katyonik polimerdir ve benzersiz karakterinden (protein geri kazanım, çöp tohumu, topaklaştırıcılar vb.) dolayı birçok uygulama bulmaktadır. Sulu çözeltilerde çözünür olduğu için, çözelti, jel, film ve elyaf gibi farklı uygulamalarda büyük oranda kullanılır (Rinaudo vd. 2006).

Kitosan ve Alginat, dikkat çeken ve birçok kullanım için kapsamlı olarak incelenen iki biyopolimerdir. Fundueanu ve arkadaşlarının (1999) çalışmalarına göre; kalsiyum iyonlarının varlığında ve guluronik asit kalıntıları Alginatların jel oluşturmasına neden olur. Kalsiyum-Alginat jel boncuklarının bu özellikleri onları kontrollü salınım sistemleri için en yaygın kullanılan taşıyıcılardan yapmaktadır. Bu boncukların kitosan dahil olmak üzere diğer polimerlerle kaplanması, depolamada istikrarını ve biyolojik sıvılardaki yarı ömrünü artırdığı gösterilmiştir. Yan vd. (2001) çalışmalarına göre; kompleks, kapsülatı korur, biyolojik olarak uyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir özelliktedir ve kapsüllü materyallerin tek başına alginat veya kitosandan daha etkili bir şekilde serbest bırakılmasını sınırlandırır. Bu iletim sisteminin diğer bir avantajı da, toksisitesiz olmasıdır.

Doğal polimerlerden oluşan biyofilmlerin kimyasal madde ve mekanik kararlılığı daha az olduğu için biyouyumlu sentetik polimerler eklenerek biyofilmlerin özellikleri iyileştirilir. Polietilen oksit (PEO), gıda, kozmetik, kişisel bakım ürünleri ve eczacılık alanlarında kullanım için onaylanmış az sayıdaki biyolojik olarak parçalanabilir sentetik polimerlerden biridir. Margado ve arkadaşlarının çalışmalarının (1999) gösterdiği üzere, PEO etkili bir iyon iletken polimerdir. Dolayısıyla, modifiye edilmiş doğal polimerin eğilebilirliğini arttırmak için ilave edilir. Sodyum alginat üzerindeki hidroksil grupları, PEO'daki eter oksijene bir hidrojen bağı oluşturabilir. Bu nedenle, Sodyum Alginat ile harmanlanmış uygun bir aday olarak PEO seçilebilir (Çaykara vd. 2005, Bonino vd. 2011).

Polivinil alkol (PVA), çevreye uyumlu bir sentetik polimerdir. Suda çözünür ve iyi elyaf oluşturma yeteneği, biyouyumluluk, kimyasal direnç ve biyolojik bozunabilirliğe sahip bir polihidroksi polimerdir ayrıca toksisitesi olmayan, kanserojen olmayan, istisnai biyo uyumluluk, arzu edilen fiziksel özellikler ve insan dokularına benzer yüksek sulu büyük şişme kapasitesini içerdiğinden, en geniş çapta çalışılan hidrojellerin biridir. PVA'nın, Kitosan, Sodyum Alginat, kollajen ve yara sargısı, kontakt lens, ilaç verme sistemleri ve doku mühendisliği gibi biyomedikal uygulamalarda bulunan diğer sentetik polimerler gibi uygun maddeler ile birlikte çalışması ile yapılan çalışmalar yapılmıştır (Yang vd. 2016).

Hidrojeller polimerlerin çapraz bağlanma prosesi ile elde edilebilir. Bunlar, kimyasal tepkimelerle yapılabilir (Hennick ve Nostrum, 2001). Son yıllarda fiziksel olarak çapraz bağlanmış jellere ihtiyaç, geleneksel kimyasal çapraz bağlama maddelerinin ve reaktiflerin kullanılmasını önlemek için potansiyel olarak arttırılmıştır (Van Tomme vd., 2005).

Kalsiyum klorürür ($CaCl_2$) pek çok uygulamada kullanılan bir kimyasaldır. Enerji verimliliği uygulamalarında, kapalı soğurma sistemlerinde, soğutma ve nem alma sistemlerinde, kurutma sistemlerinde, suyun geri kazanımda, atmosferin ekstraksiyonunda, termokimyasal enerji depolama gibi alanlarda kullanılmaktadır. Diğer önemli bir özelliği ise birlikte kullanıldığı kimyasalların kullanılacak alan için uygunluğunu arttırmaktadır (N'Tsoukpoe vd. 2014). $CaCl_2$ ile işleme alınan kitosan filmi yüksek kalitede ve uyumlulukta polimer elde edebildiği bulunmuştur. $CaCl_2$ ile işlem görmüş Kitosan ucuz, biyouyumlu ve herhangi bir başka işlem gerektirmemesi sebebiyle araştırmalar arttırılmıştır (Liu vd. 2016). Alginat için ise, Ca^{+2} alginatı jel formuna dönüştürmede en çok kullanılan katyondur. Difüzyon modeli ile yapılan iyonik çapraz bağlama Na-Alginat jeli $CaCl_2$ banyosuna yatırılarak yapılır ve en uygun sonuçları verir (Pawar ve Edgar, 2012).

Deneysel tasarımın kullanılması, çok sayıda faktörün aynı anda test edilmesini sağlar ve geleneksel adım adım

yaklaşımı kullanıldığında çok sayıda bağımsız çalışmanın kullanılmasını engeller (Motwani vd. 2007). Analitik bir prosedür geliştirirken, birkaç tepki aynı anda optimize edilmelidir ve farklı anayasal tepkiler için bulunan optimum deney koşulları çakışabilir. Birden fazla cevabın eşzamanlı optimizasyonunu gerçekleştirmek için farklı yöntemler oluşturulmuştur. D-optimal tasarım metodolojisi gibi stratejiyi, deneysel çabayı azaltmak için kullanmak neredeyse zorunludur. D-optimal tasarımlar, deney sayısının azaltılmasıyla birlikte birkaç deneysel faktörü incelemeyi mümkün kılar ve tasarımın, her bir faktör için gerekli seviyeleri ve ihtiyaç duyulan etkileşimleri bağımsız olarak ayarlayarak tasarımın her analitik problemine uyarlanmasını sağlar (Herrero vd. 2016). D-optimal tasarımdan, Box-Behnken tasarımı (BBD), çeşitli etkileyici faktörler arasındaki ilişkiyi aynı anda düşünmekle kalmaz, aynı zamanda, çok etkili faktörlerin deneysel sonuçlarını optimize eder. BBD, çeşitli faktörler ve bağımlı değişkenin etkisi arasındaki ilişkiyi anlamak için de kullanılabilir (Guan vd. 2017).

Biomembranlar son zamanlarda sentetik membranlar yerine kullanılmak üzere çalışmaları yapılmaktadır. Sentetik membranların kullanımı sonucu çevreye zarar vermesi, doğada bozunmaması, pahalı olması vb. sorunlar sonucu kullanılması azaltılmaya çalışılmaktadır. Bunun için yapılan araştırmalar sonucunda uygun olan alginat-kitosan karışımlı membranlar bulunmuştur (Bierhalz vd. 2016). Kitosanın iki önemli bağlayıcı grubu vardır; bunlardan birisi amin ($-NH_2$) ve hidroksil (-OH) dır. Bu sebeple su arıtma sistemlerinde, biomedikal mühendislikte, yakıt hücreleri vb. yerlerde kullanılabilmektedir. Kitosan zayıf asitle çözünerek membran uygulamalarında kullanılabilir. Zayıf asitle çözünen kitosan protonlanır ve bu proton membranlarda iyon iletkenliğini sağlar. Ancak kitosanın mekanik özellileri yeterli olmadığı için sentetik ve biouyumlu polimer kullanılmalıdır. Xu ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışma ile kitosan ve biyouyumlu sentetik polimer sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Kullanılabilecek sentetik polimerlerden biri PVA'dır. PVA / Kitosan membranları alkol bariyeri ve iyi mekanik özellikleri ile araştırılmaya ve geliştirilmeye çalışılmaktadr (Danwanichakul ve Sirikhajornnam, 2013). Bierhalz ve arkadaşlarının (2016) yaptığı çalışmalara göre kitosanın membran uygularının değerleri Çizelge 1 ve Çizelge 3'te verilmiştir.

Gıda kaplamalarda kullanılan sentetik polimerler ciddi çevre problemlerine sebep olmaktadır. Bu sebeple biyouyumlu film ve kaplamalar için araştırmalar yapılmaktadır. Biyouyumlu filmler yenilenebilir, düşük maliyetli ve zehirsiz olmalıdır. Gaz geçişlerine (CO_2 ve O_2) izin vermemelidir. Gerilim değerleri ve uzama %'si de gıda kaplama için önemli parametrelerdir (Kafrani vd., 2015 ve Mannrich, 2017). Gıda paketleme için gerilim ve uzama %'si Çizelge 4 te verilmiştir.

Çizelge 1. Biomembran değerleri; TS (Gerilim değerleri), EB (Kopma noktası değerleri) (Bierhalz vd., 2016)

Membran formulü	TS(Mpa)	EB(%)
C_{FV}-A	34.79±4.09^{c}	3.23±1.18^{a}
C_{FL}-A	36.05±2.57^{c}	3.52±0.72^{a}
C_{FM}-A	54.05±3.28^{d}	3.42±0.73^{a}
C_{AN}-A	70.09±5.6^{c}	3.81±0.42^{a}
C_{FV}-A-P	2.46±0.97^{a}	3.04±0.74^{a}
C_{FL}-A-P	2.84±0.30^{a}	2.37±0.06^{a}
C_{FM}-A-P	2.37±0.50^{a}	2.21±0.36^{a}
C_{AN}-A-P	7.93±0.81^{b}	2.76±0.62^{a}

2. Gereç ve Yöntem

2.1. Gereç

Bu çalışmada Sodyum Alginat, Kitosan, $CaCl_2$, PEO, PVA ve Asetik asit Sigma–Aldrich Chemistry (İzlanda üretimli) firmadan temin edilmiştir.

2.2. Çözeltilerin Hazırlanması

Sodyum alginat çözeltisi, saf suda % 2 (w/w) olarak 400 rpm hızında mekanik karıştırıcıda 2 saat karıştırılarak hazırlanmıştır.

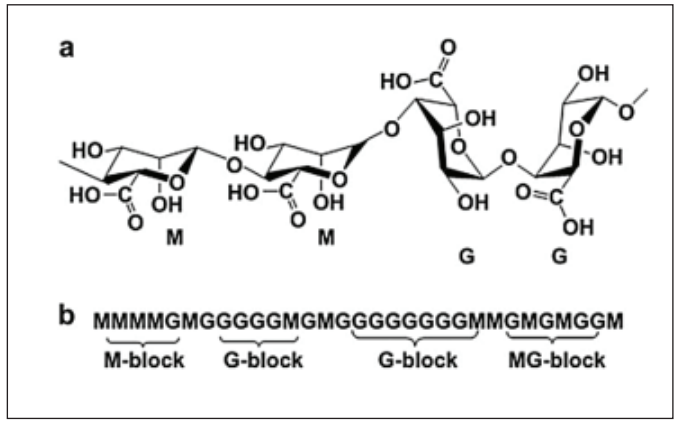
Kitosan çözeltisi, % 5 (w/w) 1M asetik asit çözeltisinden % 2 (w/w) olacak şekilde olarak 400 rpm hızında mekanik

Çizelge 2. Biomembran sertlik,Young Modülü, Kopma gerinimi ve uzama (%) değerleri (Xu vd., 2007).

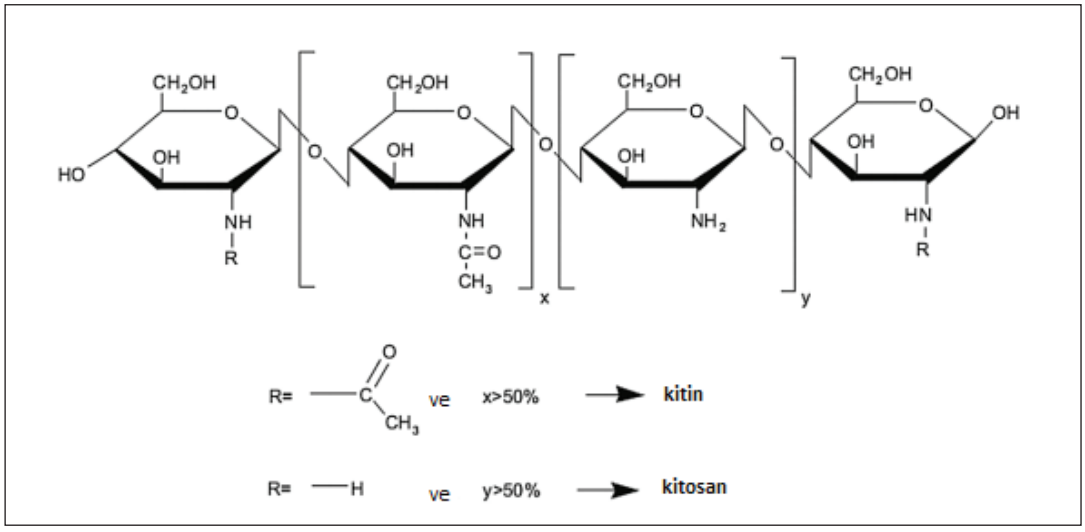
Membran	Sertlik (N/m)	Young Modülü (Mpa)	Kopma Gerinimi (Mpa)	Uzama (%)
CS	22.134	907.1	12.6	67.9
GA-PVA-CS	5.482	214.1	8.9	47.9
SA	20.938	1217.3	10.5	17.6
Fe-PVA-SA	11.320	297.5	9.2	40.0

Çizelge 3. Biomembran sorpsiyon değerler (Bierhalz vd., 2016).

Membran	Sorpsiyon (H_2O) (g/g)	Desorpsiyon (H_2O) (g/g)
C_{FV}-A	11.4±0.3[b]	8.5±1.6[a]
C_{FL}-A	11.2±0.6[b]	8.1±2.5[a]
C_{FM}-A	16.1±0.4[b]	8.1±1.3[a]
C_{AN}-A	2.9±0.5[a]	8.3±1.9[a]
C_{FV}-A-P	32.6±6.3[b]	21.2±4.3[a]
C_{FL}-A-P	36.3±0.4[b]	21.5±1.3[a]
C_{FM}-A-P	33.4±3.4[b]	20.7±0.2[a]
C_{AN}-A-P	13.9±1.2[b]	2004±1.3[b]



Şekil 1. Alginatın kimyasal yapısı (a,b) (Shaari ve Kamarudin, 2015).



Şekil 2. Kitosanın kimyasal yapısı (Shaari ve Kamarudin, 2015).

karıştırıcıda 24 saat karıştırılarak hazırlanmıştır (Guerra Nista vd 2014).

PVA ve PEO çözeltileri, saf suda % 2 (w/w) olarak 400 rpm hızında mekanik karıştırıcıda 2 saat karıştırılarak hazırlanmıştır.

$CaCl_2$ çözeltisi, Alginat miktarına göre 2 gr Alginat için % 0.4 (w/w) $CaCl_2$ çözeltisi, 4 gr Alginat için % 0.8 (w/w) $CaCl_2$ çözeltisi, 6 gr Alginat için % 1.2 (w/w) $CaCl_2$ çözeltisi olacak şekilde hazırlanmıştır.

2.3. Biofilmin Hazırlanması

Hazırlanan çözeltilerden Box-Behnken yöntemi için belirlenen miktar kadar alınmıştır ve her çözelti 2 saat 400 rpm'de mekanik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Hazırlanan çözelti 10cm x 4cm kalıplara konularak 2 gün kurutulmaya bırakılmıştır. Kuruma işlemi sonrası Alginat miktarına göre belirlenen $CaCl_2$ çözeltisi yüzdürme tekniği ile film çapraz bağlanmıştır (Pawar ve Edgar, 2012) ve bir gün kurutulmaya bırakılmıştır.

Karışımlar Çizelge 5'teki miktarlara göre hazırlanmıştır. Örneğin, % 2'lik çözeltileri hazırlanan Alginat, PVA, Kitosan ve PEO'lardan 1. numune için 6 gr alginat, 3 gr PVA, 4 gr kitosan ve 2 gr PEO eklenerek hazırlanmıştır. Her numune aynı yöntemle Çizelge 5'te gösterilen miktarlara göre hazırlanmıştır.

PEO sabit tutularak % 2'lik çözeltiden 2gr alınmıştır.

2.4. Box-Behnken Yöntemi ile Deneysel Tasarım

Instron 3369 Universal Çekme Test cihazında BS 527-3 Standartına göre biofilmin çekme testleri yapılmıştır. 5mm/dk hız ile çekme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çekme işlemi sonuçları Box-Behnken yönteminde uygulanmıştır.

Çizelge 4. Bazı polisakkaritlerin gerilim değerleri (TS) ve kopma noktası değerleri (EB) (Cazón vd., 2016)

Film kompozisyonu	TS(N/mm²)	EB(%)
Metilselüloz ve etanol karışımı (Polietilen glikol eklenmiş ve eklenmemiş hali)	25-33	29-14
Hidroksipropil metilselüloz karışımı (Gümüş nanoparçaları eklenmiş ve eklenmiş hali)	51.08-28.3	NR
Kitosan	22.2-39.6	13-73.6
Kitosan karışımı (Değişik ağırlıkta moleküller ve değişik solventler)	6.7-150.2	4.1-117.8
Kitosan karışımı (Değişik solventler ve pH'lar)	0.56-19.2	22-494.8
Kinoa-Kitosan karışımı	2.3-8.3	273-117.4
Nişasta karışımı (Plastikleştirici olarak gliserol ve ksilitol)	5.06-44.3	2.4-70.7
Patates nişastası (Gliserol eklenmiş ve eklenmemiş hali)	30-68	3-5
Tara sakızı karışımı (Plastikleştirici olarak sorbitol ve gliserol; oleik asit eklenmiş ve eklenmemiş hali)	26.8-57.4	8.5-2.7
Gliserollü tara sakızı karışımı (Kitosan eklenmiş ve eklenmemiş hali)	58.44-22.71	44-46
Gliserollü brean sakızı karışımı (Balmumu eklenmiş ve eklenmemiş hali)	1.64-7.58	8.22-4.85
Pektin karışımı (Kitosan parçaları eklenmiş ve eklenmemiş hali)	58.5-26.07	2.91-0.94
Alginat karışımı (Plastikleştirici olarak sorbitol ya da gliserol)	65.9-64.7	2.5-2.8
Alginat karışımı (Plastikleştirici olarak sorbitol ya da gliserol)	18.4-24.1	6.6-7.9
Sodyum alginat karışımı	33.6-75.8	3.4-14.0
Agar (Gümüş parçaları eklenmiş ve eklenmemiş hali)	51.5-46.38	33.02-33.64

Çizelge 5. Filmler için hazırlanan çözeltilerin karışım miktarları.

	Alginat miktarı (gr)	PVA miktarı (gr)	Kitosan miktarı (gr)
1	6	3	4
2	6	1	4
3	2	3	4
4	2	1	4
5	6	2	6
6	6	2	2
7	2	2	6
8	2	2	2
9	4	3	6
10	4	3	2
11	4	1	6
12	4	1	2
13	4	2	4
14	4	2	4
15	4	2	4
16	4	2	4
17	4	2	4
18	4	2	4

3. Bulgular

Tasarım sonucu aşağıdaki R1 olarak ifade edilen maximum gerilim yükü denklem elde edilmiştir,

$$R1 = 19.03 + (5.24 \times A) + (6.47 \times B) - (4.79 \times C) - (1.24 \times A \times B) - (6.56 \times A \times C) - (2.76 \times B \times C) + (2.54 \times A^2) - (6.89 \times B^2) + (9.56 \times C^2) \quad (1)$$

**A: Alginat; B: PVA; C: Kitosandır

Tasarım sonucu aşağıdaki R2 olarak ifade edilen maximum yükte uzama değeri denklem elde edilmiştir,

$$R2 = 2.71 + (0.21 \times A) + (0.030 \times B) - (0.11 \times C) - (0.95 \times A \times B) - (0.25 \times A \times C) - (0.91 \times B \times C) + (0.92 \times A^2) - (0.23 \times B^2) + (1.05 \times C^2) \quad (2)$$

**A: Alginat; B: PVA; C: Chitosan

3.1. Biofilmin Sorpsiyon ve Desorpsiyon Bulguları

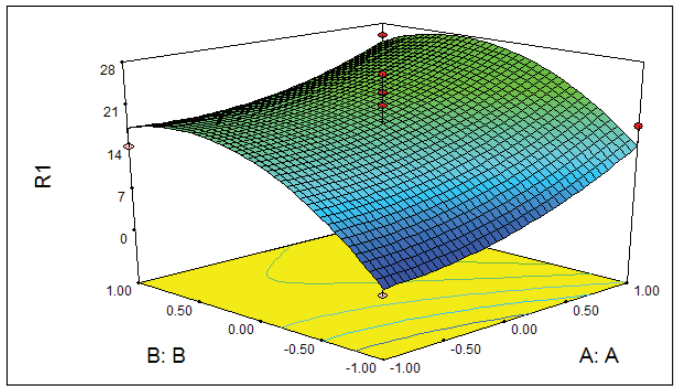
Alınan sonuçlar sonrası 6, 8, 10 ve 13 nolu numunelere sorpsiyon deneyi uygulanmıştır. Distile edilmiş suda üç gün bekletilen numunelerin su sorpsiyonu Çizelge 8'de verilmiştir.

4. Sonuçlar ve Öneriler

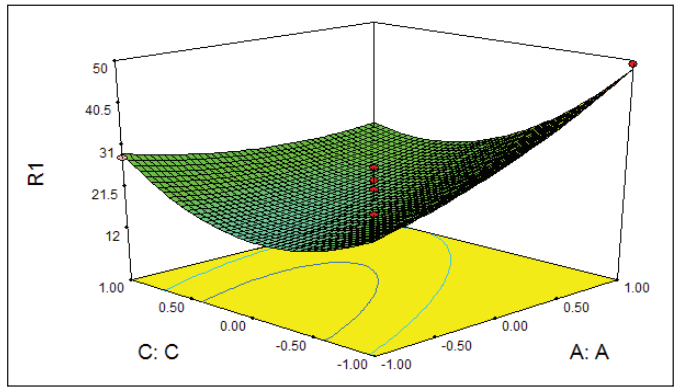
Biyopolimer matriksi olarak Alginate, Kitosan, PVA ve PEO

Çizelge 6. Box-Behnken deneysel tasarım tablosu

	Alginat	PVA	Kitosan
1	1	1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	-1	-1	0
5	1	0	1
6	1	0	-1
7	-1	0	1
8	-1	0	-1
9	0	1	1
10	0	1	-1
11	0	-1	1
12	0	-1	-1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0



Şekil 3. Alginat-PVA ilişkisi.



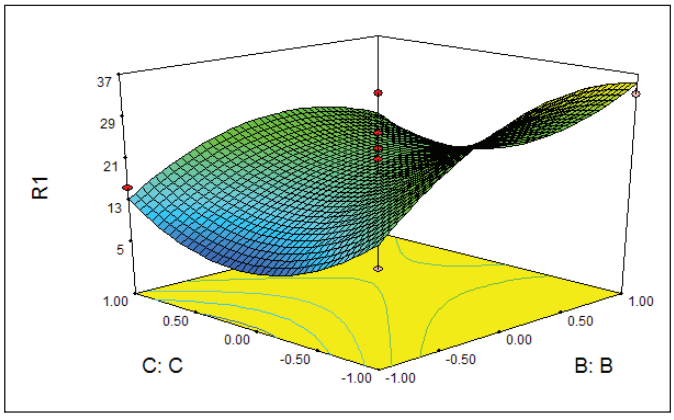
Şekil 4. Alginat-Kitosan ilişkisi.

Çizelge 7. R1 ve R2 deneysel değerlerin teorik formüle uygulanma sonuçları

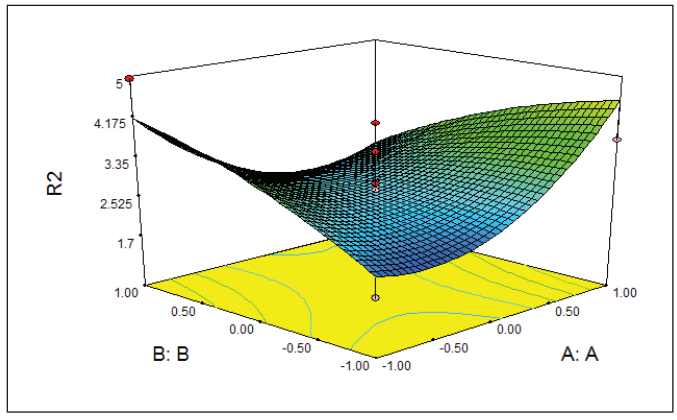
	Alginat	PVA	Kitosan	R1 (Maximum Gerilim (MPa))	R1 Ortalama	R2 (Maksimum yükte uzama (mm/mm))	R2 Ortalama
1	1	1	0	25,92134	20,24086	3,10400	3,207143
2	1	-1	0	17,64091		3,72900	
3	-1	1	0	14,19432		4,95800	
4	-1	-1	0	0,94336		1,79100	
5	1	0	1	19,68019		4,60400	
6	1	0	-1	49,24741		5,54100	
7	-1	0	1	26,07446		4,31300	
8	-1	0	-1	29,39060		4,25000	
9	0	1	1	25,11402		2,04200	
10	0	1	-1	31,30300		5,04600	
11	0	-1	1	19,98587		4,54200	
12	0	-1	-1	12,70442		3,18700	
13	0	0	0	13,95424		3,47900	
14	0	0	0	23,11367		2,41700	
15	0	0	0	26,04337		2,81200	
16	0	0	0	17,79136		2,66700	
17	0	0	0	12,23951		2,27000	
18	0	0	0	21,01056		2,62500	

Çizelge 8. Bazı numunelerin sorpsiyon/desorpsiyon değerleri.

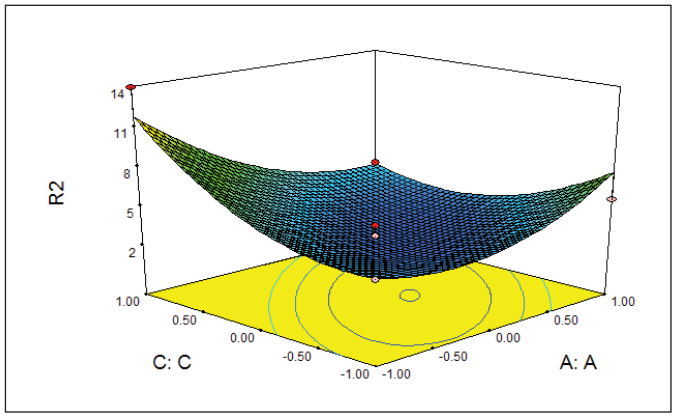
	6. Numune	8. Numune	10. Numune	13. Numune
Kuru film	0,0279	0,0270	0,0325	0,0267
Distile suda bekleme (2 saat)	0,1673	0,1660	0,2323	0,2120
Distile suda bekleme (1 gün)	0,1693	0,1685	0,2353	0,2172
Distile suda bekleme (3 gün)	0,1705	0,1700	0,2368	0,2233
Tekrar kurutulan film	0,0282	0,0302	0,0334	0,0283
Sorpsiyon (%)	511,1111	529,6296	628,6154	736,3296
Desorpsiyon (%)	504,6099	462,9139	608,9820	689,0459



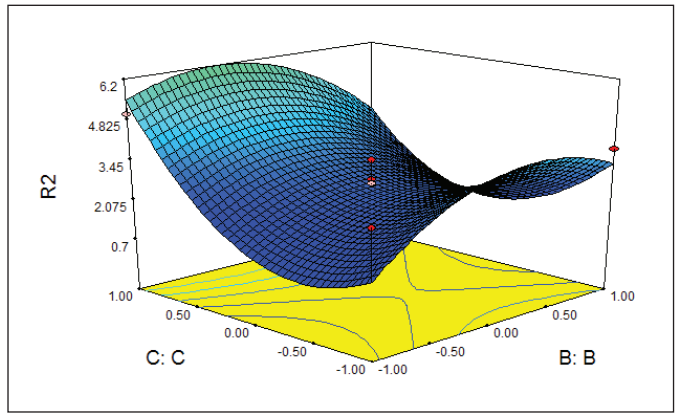
Şekil 5. PVA-Kitosan ilişkisi.



Şekil 6. Alginat-PVA ilişkisi.



Şekil 7. Alginat-Kitosan ilişkisi.



Şekil 8. PVA-Kitosan ilişkisi.

(sabit) olarak kullanılmıştır. Biyopolimer matriksi, alginatın doğal olarak hidrojel özelliği, PVA'nın film koruma ve elastik özelliği, kitosanın doğal polimerinin antibakteriyel özelliği birleştirilerek farklı, yeni uygulama alanlarında kullanılması amaçlanmıştır. Biomembran olarak değerlendirilmesi için farklı bileşimlerde filmler elde edildi. Biopolimer matriksinin maksimum gerilim yükü, maksimum yükte uzama değerleri sonuç değerler olarak tespit edildi.

Design Expert 7.0.0 programı kullanılarak uygulanan üç faktörlü Box-Behnken tasarım yöntemi kullanılmıştır. Alginattan (% 2 çözelti) ağırlıkça 2, 4, 6 gr; PVA'dan (% 2 çözelti) ağırlıkça 1, 2, 3 gr; Kitosandan (% 2 çözelti) ağırlıkça 2, 4, 6 gr ve sabit olarak PEO'dan (% 2 çözelti) ağırlıkça 2 gr alınarak hazırlanan deneylerde, faktör değişkenlerinden biopolimer matriksinin maksimum gerilim değeri (MPa) 1.73-47.69; maksimum yükte uzama (mm/mm) 2.21-5.25 değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Elde edilen cevap yüzeyi ile bağımsız değişkenler arasında elde edilen grafikler ile cevap yüzeyi denklemi incelendiğinde; Maksimum gerilim yükü (R1) için en etkili bağımsız değişkenin PVA ağırlığı olduğu, ikinci önemli parametrenin Alginat olduğu ve Kitosan ağırlık parametresinin etkisinin çok az olduğu belirlendi.

Elde edilen cevap yüzeyi ile bağımsız değişkenler arasında elde edilen grafikler ile cevap yüzeyi denklemi incelendiğinde; Maksimum gerilim yükünde uzama (R2) için en etkili bağımsız değişkenin Alginat ağırlığı olduğu, ikinci önemli parametrenin PVA olduğu ve Kitosan ağırlık parametresinin PVA ağırlık parametresine yakın sonuç gösterdiği gözlemlenmiştir. Kitosanın yüksek konsantrasyonlarda diğer polimer ile homojenliği arttırdığı ve uzamaya etkisinin çekme gerilimine etkisinden fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Biomembran olarak kullanılabilirliği için sorpsiyon ve desorpsiyon bulguları incelendiğinde 6, 8, 10 ve 13 numaraları deneylerin hepsinin membran olarak kullanılması uygun olduğu tespit edildi. 10 numaralı numunenin diğer numunelerden daha uygun olduğu belirlendi.

5. Kaynaklar

Bierhalz, ACK., Westin, CB., Moreas, AM. 2016. Comparison of the properties of membranes produced with alginate and chitosan from mushroom and from shrimp. *Int. J. Biol. Macromol.*, 91:496-504.

Blandino, A., Macias, M., Cantero, D., 1999, Formation of Calcium Alginate Gel Capsules: Influence of Sodium Alginate an d $CaCl_2$ Concentration on Gelation Kinetics, Journal of Bioscience and Bioengineering, 88:686-689.

Bonino, C. A., Krebs, M. D., Saquing, C. D., Jeong, S. I., Shearer, K. L., Alsberg, E., Khan, S. A., 2011, Electrospinning alginate-based nanofibers: From blends to crosslinked low molecular weight alginate –only systems, Carbohydrate Polymer, 85:111-119.

Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., Vázquez, M., 2016, Polysaccharide-based films and coating for food packaging: A review, Food Hydrocolloids, xxx: 1-13.

Çaykara, T., Demirci, S., Eroğlu, M., Güven, O., 2005, Poly(etylene oxide) and its blend with sodium alginate, Polymer, 46:10750-10757.

Danwanichakul, P., Sirikhajornnam, P., 2013, An Investigation of Chitosan-Grafted-Poly(vinylalcohol) as an Electrolyte Membrane, Journal of Chemistry, 642874:1-9.

Gazori, T., Khoshayand, M. R., Azizi, E., Yazdizade, P., Nomani, A., Haririan, I., 2008, Evaluation of Alginate/Chitosan nanoparticles as antisense delivery vector: Formulation, optimization, and vitro characterization, Carbohydrate Polymer, 77:599-606.

Guan, S., Deng, F., Huang, S.Liu, S., Ai, L., She, P., 2017, Optimization of magnetic field –assisted ultrasonication for the disintegration of waste activated sludge using Box-Behnken design with response surface methodology, Ultrasonics Sonochemistry, 38:9-18.

Hennick, W.E., Nostrum, C.F., 2001, Novel crosslinking methods to design hydrogels, Advanced Drug Delivery Reviews, 64:223-236.

Herrero, A., Sanllorente, S., Reguera, C., Ortiz, M. C., Sarabia, L. A., 2016, A new multiresponse optimization approach in combination with a D-optimal experimental design for the determination of biogenic amines in fish by HPLC-FLD, Analytica Chimica Acta, 945:31-38.

Kamoun, E.A., Chen, X., Eldin, M.S.M, Kenawy, E. S., 2014, Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing application:A review of remarkably blended polymers,Arabian Journal of Chemistry, 8:1-14.

Lee, K.Y., Mooney, D.J., 2011, Alginate: Properties and biomedical applications**,** Progress in Polymer Science, 37:106-126.

Liu, X., Ren, J.,Zhu, Y., Han, W., Xuan, H., Ge, L. 2014, The preservation effect of ascorbic acid and calcium chloride modified chitosan coating on fresh-cut apples at room temperature, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 502:102-106.

Manrich, A., Moreira, F. K. V., Otoni, C. G., Lorevice, M. V., Martins, M. A., Mattoso, L. H. C., 2017, Hydrophobic edible films made up of tomato cutin and pectin, Carbohydrate Polymers, 164:83-91.

Motwani, S. K., Chopra, S., Talegaonkar, S., Kohli, K., Ahmad, F. J., Khar, R. K., 2007, Chitosan-sodium alginate nanoparticles as submicroscopic reservoirs for ocular delivery: Formulation, optimisation and in vitro characterisation, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 68:513-525.

N'Tsoukpoe, K. E., Rammelberg, H. U., Lele, A. F., Korhammer, K., Watts, B. A., Schmidt, T., Ruck, W. K. L., 2014, A review on the use of calcium chloride in applied thermal engineering, Applied Thermal Engineering, 75:513-531.

Pawar, S., Edgar, K. J., 2012, Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications, Biomaterials, 33:3279-3305.

Rinaudo, M., 2006, Chitin and Chitosan:Properties and application, Progress in Polymer Science, 31:603-632.

Shaari, N., Kamarudin, S.K., 2015, Chitosan and alginate types of bio-membrane in fuel cell application: An overview, Journal of Power Sources, 289:71-80.

Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., Masoudpour-Behabadi, M.,, 2015, Development of edible films and coatings from alginates and carrageenas, Carbohydrate Polymers, 137:360-374.

T., Ruck,W.K. L., 2014, A review on the use calcium chloride in applied thermal engineering, Applied Thermal Engineering, 75:513-531.

Wang, J. S., 2016, Cell proliferation on PVA/Sodium alginate and PVA /poly(γ-glutamic acid) electrospun fiber, Materials Science and Engineering C, 66:170-177.

Xu, C. X., Chen, R., Zhen, X., Chen, X., Chen, Z., 2007, Preparation of PVA-GA-CS / PVA-Fe-SA biopolar membrane and its application in electro-generation of 2,2-dimethyl-3hydroxypropionic acid, Journal of Membrane Science, 307: 218-224.

Zia, K. M., Zia, F., Zuber, M., Rehman, S.,Ahmad, M. N., 2015, Alginate based polyurethans: A review of recent advanced and perspective, International Journal of Biological Macromolecules, 79:377-387.