

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

**PROTEİN TUTUKLANMASI**

**MÜGE ÇAPAR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİMDALI  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. MUALLA ÖNER**

**İSTANBUL, 2012**

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

**PROTEİN TUTUKLANMASI**

Kimya Mühendisi Müge Çapar tarafından hazırlanan tez çalışması 13/06/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

Prof. Dr. Mualla ÖNER  
Yıldız Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Mualla ÖNER  
Yıldız Teknik Üniversitesi

\_\_\_\_\_

Doç. Dr. Fatma KARACA ALBAYRAK  
Marmara Üniversitesi

\_\_\_\_\_

Yrd. Doç. Dr. Özlem DOĞAN  
Yıldız Teknik Üniversitesi

\_\_\_\_\_

## ÖNSÖZ

---

Son yıllarda yapılan çalışmalar doğrultusunda, hidroksiapatit (HAP), proteinler ve enzimler gibi biyopolimerlere yüksek benzerlik göstermesi, mükemmel biyouyumluluğu ve toksik olmayışı nedeniyle dikkat çekmektedir.

Bu çalışmada, katkısız olarak ve endüstriyel polimer varlığında laboratuvar ortamında üretilen HAP'lar ve laboratuvar ortamında hazırlanan bovin serum albümin (BSA) proteini çözeltileri kullanılarak HAP üzerine protein adsorpsiyonu incelenmiştir.

Bu çalışmanın belirlenmesinde ve sürdürülmesinde en başından beri bana destek veren, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Mualla ÖNER'e teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam boyunca her konuda öneri ve yardımlarını esirgemeyen, beni destekleyen ve yönlendiren Yrd. Doç. Dr. Özlem DOĞAN'a özellikle teşekkür ederim. Deneysel çalışmam sırasında laboratuvardaki desteklerinden ve anlayışından dolayı Arş. Gör. Dr. Bora AKIN'a da teşekkürlerimi sunarım.

Tezin düzenlenmesi süresince yardımcı olan arkadaşım Selin BULUT ve her durumda bana vakit ayırıp, dinleyen ve yardımcı olan laboratuvar çalışma arkadaşlarım Merve ŞENOL ve Bülent ERAYKUTLU'ya çok teşekkür ederim. Ayrıca deneysel çalışmamda kullandığım adsorbanların üretiminde yardımcı olduğu için Büşra BODUR'a da teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her daim maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme; anneme, babama ve kardeşime teşekkür etmeyi de bir borç bilirim.

Haziran, 2012

Müge ÇAPAR

## İÇİNDEKİLER

---

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	vii
KISALTMA LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ .....	xi
ÖZET .....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
<b>BÖLÜM 1</b>	
<b>GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Literatür Özeti .....	1
1.2 Tezin Amacı .....	3
1.3 Orjinal Katkı .....	3
<b>BÖLÜM 2</b>	
<b>PROTEİNLER .....</b>	<b>4</b>
2.1 Proteinlerin Genel Özellikleri .....	4
2.2 Protein Yapısı.....	6
2.3 Proteinlerin Sınıflandırılması .....	8
2.4 Proteinlerin Çözünürlüğü ve İyonizasyonu .....	8
2.5 Protein Adsorpsiyonunda Yürütücü Kuvvetler.....	9
2.5.1 Hidrojen Bağları .....	9
2.5.2 Hidrofobik Etkileşimler .....	9
2.5.3 Coulomb Etkileşimleri .....	9
2.5.4 Lifshitz-Van der Waals Etkileşimleri.....	10
2.6 Protein Tayin Yöntemleri.....	10
2.6.1 Kjeldahl Yöntemi.....	10
2.6.2 UV – Görünür Absorpsiyonu .....	11

2.6.3	Bradford Yöntemi .....	11
2.6.4	Biuret Yöntemi .....	12
2.6.5	Folin-Lowry Metodu .....	12
2.6.6	BCA Yöntemi .....	12
2.7	Albümin .....	12
2.8	Bovin Serum Albümin .....	15
2.8.1	BSA'nın Fizikokimyasal Özellikleri .....	15
2.8.2	BSA'nın Biyolojik Fonksiyonu .....	15
2.8.3	BSA Uygulamaları .....	16
2.8.4	BSA'nın İşlevsel Özellikleri .....	16
2.8.4.1	Köpürme .....	16
2.8.4.2	Katılaşma .....	17
2.8.4.3	Merkez Atom Bağlanması .....	17
2.8.5	BSA'yı Etkileyen Faktörler .....	17
2.8.5.1	Viskozite .....	17
2.8.5.2	pH Etkisi .....	18
2.8.5.3	Isı Etkisi .....	18

### BÖLÜM 3

HİDROKSİAPATİT .....	19
3.1 Hidroksiapatit (HAP) Özellikleri ve Yapısı .....	19
3.2 Hidroksiapatit Hazırlama Yöntemleri .....	22
3.2.1 Kuru Metot .....	22
3.2.2 Yaş Metot .....	23
3.3 Hidroksiapatitin Kullanım Alanı .....	23

### BÖLÜM 4

ADSORPSİYON .....	25
4.1 Adsorpsiyonu Etkileyen Faktörler .....	25
4.1.1 Adsorbat Yapısının Etkisi .....	25
4.1.2 Adsorban Yapısının Etkisi .....	26
4.1.3 pH Etkisi .....	26
4.1.4 Sıcaklık Etkisi .....	26
4.1.5 Temas Süresinin Etkisi .....	27
4.1.6 Dozaj Miktarı ve Yüzey Alanı Etkisi .....	27
4.1.7 Çözünen Maddenin Cinsi ve Özelliklerinin Etkisi .....	27
4.1.8 Karıştırma Hızının Etkisi .....	27
4.2 Adsorpsiyon Türleri .....	28
4.2.1 Fiziksel Adsorpsiyon .....	28
4.2.2 Kimyasal adsorpsiyon .....	28
4.2.3 Değişim (İyon Değişimi) Adsorpsiyonu .....	28
4.2.4 Biyolojik Adsorpsiyon .....	29
4.3 Adsorpsiyon İzotermler Modelleri .....	29
4.4 Adsorpsiyon İzotermleri .....	30
4.4.1 Langmuir Adsorpsiyon İzotermi .....	30

4.4.2	Freundlich İzotermi.....	32	
4.4.3	Brauner – Emmett – Teller (BET) İzotermi .....	33	
4.5	Adsorpsiyon Kinetikleri.....	34	
<b>BÖLÜM 5</b>			
<b>DENEYSEL KISIM.....</b>			<b>37</b>
5.1	Deneylerde Kullanılan Kimyasallar .....	37	
5.2	Deneylerde Kullanılan Cihazlar .....	38	
5.3	Deneylerde Kullanılan Çözeltiler .....	38	
5.3.1	Tampon Çözeltiler.....	38	
5.4	Kullanılan Adsorbanlar .....	38	
5.4.1	Kullanılan Adsorbanların (HAP) Üretimi .....	39	
5.4.2	Üretilen Adsorbanların (HAP) Karakterizasyonu .....	39	
5.4.2.1	Yüzey Alanı Ölçümü (BET) .....	39	
5.4.2.2	FT-IR Spektrumları.....	40	
5.5	Deneysel Yöntem.....	42	
5.5.1	BSA çözeltisinin hazırlanması.....	42	
5.6	Adsorpsiyon Deneyleri.....	42	
5.6.1	Deneyin Yapılışı.....	42	
<b>BÖLÜM 6</b>			
<b>DENEYSEL SONUÇLAR .....</b>			<b>43</b>
6.1	pH 7,0 Tampon Çözeltisi Kullanılarak Yapılan Adsorpsiyon Deneyleri.....	43	
6.1.1	BSA Proteini Kalibrasyon Grafiğinin Oluşturulması .....	43	
6.1.2	Farklı Adsorbanların BSA Adsorpsiyonuna Etkisinin İncelenmesi .....	45	
6.2	pH 5,7 Tampon Çözeltisi Kullanılarak Yapılan Adsorpsiyon Deneyi .....	56	
6.2.1	BSA Proteini Kalibrasyon Grafiğinin Çizilmesi.....	56	
6.2.2	Farklı Adsorbanların BSA Adsorpsiyonuna Etkisinin İncelenmesi.....	58	
6.3	Farklı Başlangıç Konsantrasyonlarında Elde Edilen Adsorbanların .....		
	Adsorpsiyon Kapasitesinin Karşılaştırılması.....	70	
6.4	Adsorbanın Sinterleme Sıcaklığının Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi .....	71	
6.5	Adsorbanın Katkı Maddesinin Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi.....	72	
6.6	pH'ın Adsorpsiyona Etkisi .....	74	
6.7	Adsorpsiyon İzotermilerinin İncelenmesi.....	75	
6.8	Adsorpsiyon Kinetiklerinin İncelenmesi .....	77	
<b>BÖLÜM 7</b>			
<b>SONUÇLAR .....</b>			<b>81</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>			<b>81</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>			<b>86</b>

## SİMGE LİSTESİ

---

$A_{280}$	280 nm'de ölçülen absorbans değeri
$a_L$	Adsorpsiyon enerjisine bağlı olan sabit
$C_e$	Adsorpsiyon sonrası çözeltide kalan madde konsantrasyonu
$C_0$	Başlangıçta çözelti konsantrasyonu
$k$	Hız sabiti
$K_F$	Adsorpsiyon kapasitesi
$K_L$	Adsorbatın adsorplanma kapasitesine bağlı sabit
$m$	Kuru haldeki adsorban ağırlığı
$n$	Adsorpsiyon yoğunluğudur
$q_e$	Denge halinde adsorbe edilen iyonlarının miktarı
$Q_{max}$	Adsorbanın maksimum adsorplama kapasitesi
$R_L$	Dağılma sabiti
$T$	Temas süresi
$V$	Çözelti hacmi

## KISALTMA LİSTESİ

---

BET	Spesifik Yüzey Alanı Ölçümü
BSA	Bovin Serum Albümin
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FT-IR	Fourier Transform-Infrared Spektrometresi (Titreşim Spektroskopisi)
HAP	Hidroksiapatit
LS	Lateks
LSZ	Lizozim
LW	Lifshitz-Van der Waals
MGB	Miyogloblin
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
UV	Ultraviyole



## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1 Amino asidin genel formülü .....	5
Şekil 2. 2 Peptit bağı oluşumu .....	5
Şekil 2. 3 Proteinin farklı yapıları .....	6
Şekil 2. 4 Serum albüminin klasik gösterimi .....	13
Şekil 2. 5 Serum albüminin boşluk dolun modeline göre temel tortular mavimsi, asidik tortular kırmızı ve nötr olanlar sarıyla gösterilmiştir. (A) karşıdan görünüm, (B) arkadan görünüm, (C) sol taraf ve (D) sağ taraf .....	13
Şekil 2. 6 Bovin serum albüminin Ribbon diagramı .....	14
Şekil 2. 7 BSA'nın formlarının dönüşümü .....	18
Şekil 3. 1 Hidroksiapatitin şematik olarak gösterimi .....	21
Şekil 3. 2 HAP'in atomik yapısı .....	22
Şekil 4. 1 Adsorplanan ve Adsorplayan Katı .....	25
Şekil 4. 2 Langmuir izoterminin grafiksel ifadesi .....	31
Şekil 4. 3 Freundlich izoterminin grafiksel ifadesi .....	33
Şekil 5. 1 Farklı reaktan konsantrasyonlarında üretilen HAP kristallerinin FT-IR spektrumları .....	41
Şekil 5. 2 650°C'de sinterlenen HAP kristallerinin FT-IR spektrumları .....	41
Şekil 6. 1 BSA pH 7,0 kalibrasyon grafiği .....	45
Şekil 6. 2 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: H1S) .....	47
Şekil 6. 3 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1S) .....	47
Şekil 6. 4 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1S) .....	48
Şekil 6. 5 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP5000) .....	49
Şekil 6. 6 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000) .....	50
Şekil 6. 7 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000) .....	50
Şekil 6. 8 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP5000(2)) .....	51
Şekil 6. 9 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000(2)) .....	52
Şekil 6. 10 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000(2)) .....	52
Şekil 6. 14 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP10000(2)) .....	55
Şekil 6. 15 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000(2)) .....	56
Şekil 6. 16 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000(2)) .....	56

Şekil 6. 17	BSA pH 5,7 kalibrasyon grafiği .....	58
Şekil 6. 18	BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: H1) .....	59
Şekil 6. 19	Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1) .....	60
Şekil 6. 20	1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1).....	60
Şekil 6. 21	BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: H2) .....	61
Şekil 6. 22	Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: H2) .....	62
Şekil 6. 23	1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H2).....	62
Şekil 6. 24	BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: H1S) .....	63
Şekil 6. 25	Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1S) .....	64
Şekil 6. 26	1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1S) .....	64
Şekil 6. 27	BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP5000) .....	65
Şekil 6. 28	Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000).....	66
Şekil 6. 29	1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000).....	66
Şekil 6. 30	BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP10000) .....	67
Şekil 6. 31	Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000).....	68
Şekil 6. 32	1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000).....	68
Şekil 6. 33	BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP15000) .....	69
Şekil 6. 34	Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP15000).....	70
Şekil 6. 35	1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP15000).....	70
Şekil 6. 36	Reaktan konsantrasyonunun BSA adsorpsiyonuna etkisi.....	71
Şekil 6. 37	Sinterleme sıcaklığının BSA adsorpsiyonuna etkisi (adsorban:HP5000).....	71
Şekil 6. 38	Sinterleme sıcaklığının BSA adsorpsiyonuna etkisi (adsorban:HP10000) ..	72
Şekil 6. 39	Katkı maddesi konsantrasyonunun pH 5,7'de BSA adsorpsiyonuna etkisi .	73
Şekil 6. 40	Katkı maddesi konsantrasyonunun pH 7,0'da BSA adsorpsiyonuna etkisi..	73
Şekil 6. 41	Çözelti pH'nın BSA giderimine etkisi (adsorban:H1S).....	74
Şekil 6. 42	Çözelti pH'nın BSA giderimine etkisi (adsorban:HP5000) .....	74
Şekil 6. 43	Çözelti pH'nın BSA giderimine etkisi (adsorban:HP10000) .....	75
Şekil 6. 44	Adsorpsiyon İzotermi.....	76
Şekil 6. 45	pH 7,0 için yalancı birinci derece ve yalancı ikinci derece reaksiyon kinetik modelleri .....	77
Şekil 6. 46	pH 5,7 için yalancı birinci derece ve yalancı ikinci derece reaksiyon kinetik modelleri .....	79

## ÇİZELGE LİSTESİ

---

	Sayfa
Çizelge 3.1	HAP'ın fizikokimyasal, mekanik ve biyolojik özellikleri ..... 20
Çizelge 4.1	R <sub>L</sub> Değerleri ve İzoterm Tipleri ..... 32
Çizelge 5.1	HAP numunelerinin BET yüzey alanları ..... 40
Çizelge 6.1	BSA protein çözeltisi için konsantrasyon değerleri ve bunlara karşılık gelen absorbans değerleri ..... 44
Çizelge 6.2	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: H1S) ..... 46
Çizelge 6.3	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000) ..... 49
Çizelge 6.4	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000(2)) ..... 51
Çizelge 6.5	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000) ..... 53
Çizelge 6.6	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000(2)) ..... 55
Çizelge 6.7	BSA protein çözeltisi için konsantrasyon değerleri ve bunlara karşılık gelen absorbans değerleri ..... 57
Çizelge 6.8	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: H1) ..... 59
Çizelge 6.9	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: H2) ..... 61
Çizelge 6.10	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: H1S) ..... 63
Çizelge 6.11	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000) ..... 65
Çizelge 6.12	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000) ..... 67
Çizelge 6.13	1 g adsorbanın adsorpladığı BSA miktarlarının zamanla değişimi (adsorban: HP15000) ..... 69
Çizelge 6.14	Denge değerleri ..... 75
Çizelge 6.15	Langmuir ve Freundlich sabitleri ..... 76
Çizelge 6.16	pH 7,0 için yalancı birinci ve ikinci derece adsorpsiyon kinetik parametreleri ..... 78

Çizelge 6.17	pH 5,7 için yalancı birinci ve ikinci derece adsorpsiyon kinetik parametreleri .....	80
--------------	--	----

---

**PROTEİN TUTUKLANMASI**

Müge ÇAPAR

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mualla ÖNER

Bu çalışmada, katkı maddesi ilave ederek farklı şartlarda üretilen hidroksiapatitler (HAP) üzerine bovin serum albümin (BSA) adsorpsiyonu 37°C'de pH 5,7 ve 7,0'da incelenmiştir. Polimerik katkı maddesi varlığında üretilen adsorbanların sinterleme işlemi sonrasında spesifik yüzey alanlarının azaldığı, adsorbanların üretimi esnasında katkı maddesi olarak kullanılan polimer konsantrasyonu arttırıldıkça adsorpsiyon kapasitesinin düştüğü gözlenmiştir. pH'ın 7,0'dan 5,7'ye düşürülmesi ile de adsorbanların BSA adsorpsiyon kapasiteleri artmıştır. Diğer yandan Ca/P=1,67 olacak şekilde başlangıç konsantrasyonları değiştirilerek elde edilen adsorbanlarla yapılan deneylerde reaktan konsantrasyonu arttıkça HAP kristallerinin BSA adsorpsiyon kapasitesinin arttığı görülmüştür.

Deney sonuçlarına adsorpsiyon izoterm modelleri uygulanmış ve Langmuir adsorpsiyon izotermine daha uygun olduğu gözlenmiştir. Elde edilen deney sonuçlarının adsorpsiyon kinetik modelleri ile açıklanması çalışmalarında ise BSA adsorpsiyon kinetiğinin genelde yalancı ikinci derece kinetiğine daha uygun olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Adsorpsiyon, hidroksiapatit, bovin serum albümin.

**PROTEIN ADSORPTION**

Müge ÇAPAR

Department of Chemical Engineering

Master of Science Thesis

Advisor: Prof. Dr. Mualla ÖNER

In this study, the adsorption of bovine serum albumin (BSA) on HAP crystals produced in the presence of microemulsion under different experimental conditions, was investigated. The experiments were carried out at 37°C in pH 5,7 and 7,0. Adsorption capacity of sintered adsorbent was decreased with increasing the polymer concentration during the production. The adsorption capacity of HAP increased with the lowering the pH from 7,0 to 5,7. On the other hand adsorption capacity of HAP crystals increased with increasing the starting concentrations of reactants when the Ca/P ratio is 1,67.

When the Freundlich and Langmuir adsorption isotherms are applied to the results, it was determined that Langmuir adsorption isotherm is well fitted than Freundlich adsorption isotherm. The evaluation of the results showed that the pseudo-second-order kinetic model is more convenient for the kinetic models.

**Keyword:** Adsorption, hydroxyapatite, bovine serum albumin.

#### 1.1 Literatür Özeti

İnsan vücudunda doku ve organların işlevlerini yerine getirmelerini sağlamada biyomalzemeler kullanılır. Bu malzemelerin en önemli özellikleri vücuda uyumlulukları, zarar vermeyip vücuttaki dokuların gelişimine engel teşkil etmemeleridir.

Bu biyomalzemelerden birisi olan hidroksiapatit (HAP), kimyasal olarak kemiğin ve memelilerdeki diğer sert dokuların (diş ve kemik) mineral bileşenleri ile benzer yapıya sahiptir. Hidroksiapatit, kırılan kemiklerin iyileşmesinde büyük rol oynar. Aynı zamanda implant yapımında da sıkça kullanılmaktadır. Vücuda entegre edilecek malzemelerin hidroksiapatit ile kaplanması vücuda kabul edilmelerini kolaylaştırmak için kullanılabilir [1].

Proteinler yaşamsal önemi çok büyük olan enzimlerin ve genetik bilgiyi taşıyan DNA'nın yapısında olmaları nedeniyle canlı vücudu için en önemli organik bileşiklerdir. Bu çalışmada kullanılan bovin serum albümin (BSA) HAP'a karşı daha fazla benzerlik gösteren ve diğer proteinlere göre daha kolay ve fazla miktarda adsorbe olan bir proteindir [2].

Protein tutuklaması çalışmalarının amacı dış kaynaklardan alınan proteinlerin insan vücudunda kullanılarak yararlı hale getirilmesini sağlamaktır. Bağışıklık sistemini güçlendirmek, iyileşmeyi sağlamak amacıyla proteinler kullanılır [3].

Kazuhiko Kandori ve arkadaşları (2000) yaptıkları çalışmada miyoglobinin (MGB) çeşitli sentetik hidroksiapatitler üzerine adsorpsiyonunu incelemiş ve bunu bovin serum

albümin (BSA) ve lizozim (LSZ) ile kıyaslamışlardır. Yapılan çalışmalar MGB'nin, CaHAP üzerine adsorpsiyon hızının lizoziminkine (LSZ) kıyaslanabilir derecede olduğunu ve BSA'ninkinden daha hızlı olduğunu göstermiştir. Bu fark proteinlerin moleküler ağırlıklarıyla açıklanmıştır ki MGB'nin moleküler ağırlığı 17,8, LSZ'nin moleküler ağırlığı 14,6 ve BSA'nın moleküler ağırlığı 67,2'dir. Daha küçük olan MGB ve LSZ moleküllerinin CaHAP yüzeyine difüzyonu BSA'ninkinden daha büyüktür. MGB'nin bu sentetik hidroksiapatitlere adsorpsiyonu Langmuir İzoterm'ine uygunluk göstermiş ve MGB kaplı HAP'ların yüzey yükü hemen hemen sabit bir negatif yük göstermiştir ve tüm HAP'lar için MGB konsantrasyonundan bağımsızdır. CaHAP için adsorplanmış MGB'nin doygunluk miktar değeri malzemelerin Ca/PO<sub>4</sub> molar oranından bağımsızdır ve pH 6,0'da nötr olan MGB molekülleri ile HAP'lar arasındaki elektrostatik etkileşimin de daha düşük önemde olduğunu destekler. MGB moleküllerinin elektrostatik etkileşimin avantajını kullanmadan Van der Waals kuvvetleri vasıtasıyla ac ve bc kristal yüzlerine maruz bırakılan fosfat iyonlarına adsorplandığı varsayılmıştır [4].

Kazuhiko Kandori ve arkadaşları (2001) parçacık yapısının protein adsorpsiyonuna etkisini inceledikleri bu çalışmada mikrometre boyutlu sentetik kalsiyum hidroksiapatitler kullanmışlardır. HAP moleküllerinin boyutu çözeltilerin besleme zamanındaki artışla; ortalama parçacık genişliği 0,02'den 0,47 µm'ye ve uzunlukları 0,12'den 5,21 µm'ye olacak şekilde yükselmiştir. Mikrometre boyutlu sentetik HAP'lar üzerine adsorplanan BSA miktarının HAP moleküllerinin ortalama molekül uzunluğuna büyük derecede bağlı olduğu gözlemlenirken, LSZ'nin daha az bağlı olduğu görülmüştür. Bu protein adsorpsiyon davranışı kristal yüzeyinde ortaya çıkan ac veya bc C konumlarının BSA adsorpsiyonu konumuna uygun olduğunun kanıtıdır [5].

Zheng Liu ve arkadaşlarının (2001) HAP'ın ζ potansiyeli üzerine yaptıkları bu çalışma, anyonların ve katyonların HAP yüzeyi üzerindeki adsorpsiyonunun hem yük kutuplaşması hem de HAP'ın ζ potansiyelinin büyüklüğünün değişimiyle sonuçlandığını ve HAP ile BSA arasındaki elektrostatik etkileşimin adsorpsiyon prosesinde baskın faktör olduğunu göstermiştir. Potansiyel belirleyici iyonların böylece adsorplanmış biyolojik molekülleri ayırmak için de kullanılabileceği görülmüştür [6].



K. Kawasaki ve arkadaşları (2003) tükürük proteinlerinin hidroksiapatit üzerine adsorpsiyonunu lizozim, serum albümin,  $\beta$ -laktoglobülin gibi farklı elektrik yüklü bazı proteinlerin adsorpsiyonu ile karşılaştırmış ve tükürük proteinlerinin oldukça düşük adsorpsiyon eğiliminde olduğu görülmüştür [7].

## **1.2 Tezin Amacı**

Bu çalışmada vücuda yüksek biouyumluluğu nedeniyle vücudun yapısında bulunan hidroksiapatit tutucu madde olarak seçilmiş ve BSA adsorpsiyonuna hidroksiapatitin polimer katkısının, sinterleme sıcaklığının ve ortam pH'ının etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## **1.3 Orjinal Katkı**

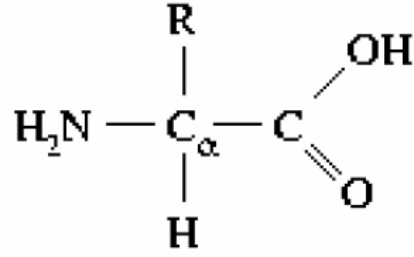
Protein moleküllerinin tutuklanmasında biyoyumlu malzemelerin en önemlilerinden biri olan HAP polimerik katkı maddesi varlığında üretilerek BSA proteininin tutuklanmasında kullanılmıştır.

### PROTEİNLER

Proteinler, canlıların yaşamıyla ilgili bir çok fonksiyonunda görev alan önemli biyomoleküllerdir. Proteinler membranların, kas ve bağ dokusunun yapısal elemanlarıdır. Bir çok molekülün vücut içinde taşınmasında ve depolanmasında görev alırlar. Metabolik olayları enzimler ve hormonlar şeklinde düzenlerler. Proteinler, genetik yapıda nükleoproteinler halinde yer alırlar. İmmunoglobülinler halinde vücut savunma mekanizmasında spesifik tanıma ve savunma mekanizmasını başlatma gibi önemli görevleri üstlenmişlerdir. Tüm biyolojik süreçler içinde böylesine önemli görevlere sahip olan proteinlerin yapısal görünüşünün anlaşılması, canlıların biyokimyasal bileşenlerinin analizinde ve vücutta moleküler düzeyde oluşan biyolojik olayların belirlenmesinde zorunludur. Fischer protein yapısı ile ilgili ilk çalışmaları başlatmış ve bu konudaki araştırmalar 1950 yılından sonra yoğunluk kazanmıştır [8].

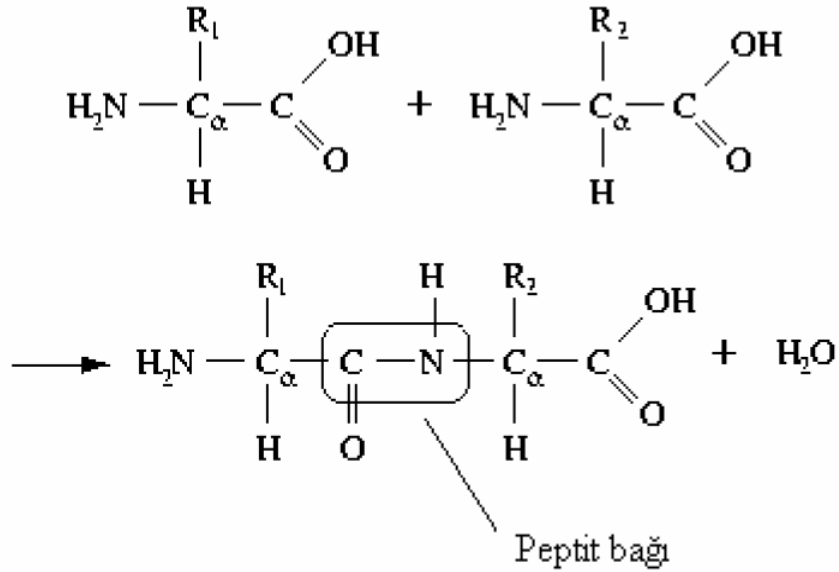
#### 2.1 Proteinlerin Genel Özellikleri

Proteinler, doğada 300 civarında bulunan amino asitlerin 20 tanesinin farklı sıralamayla bir zincir üzerinde kondenzasyon polimerizasyonu ile birleşmesiyle oluşur. Proteinlerin yapıtaşları bitki, hayvan ve mikroorganizma gibi çeşitli canlı türlerindeki hep aynı olup  $\alpha$ -amino asitlerdir [9].



Şekil 2. 1 Amino asidin genel formülü [10]

Farklı amino asitler R grubunun değişmesiyle türer. Bir asidin amino (NH<sub>2</sub>) grubu ikinci bir asidin α-karboksil (COOH) grubuyla reaksiyona girince bir molekül su ayrılmasıyla bir dipeptit oluşur. Oluşan bu bağa peptit bağı denir (Şekil 2.2). Peptitler; iki amino asitten oluşan dipeptit, üç amino asitten oluşan tripeptit v.s. şeklinde adlandırılır. 10 veya daha az sayıda amino asit içerenlere oligopeptit, çok sayıda içeriyorsa ise polipeptit adı verilir. Polipeptitler protein adını 100 amino asitten fazlasını içeriyorsa alır [11].

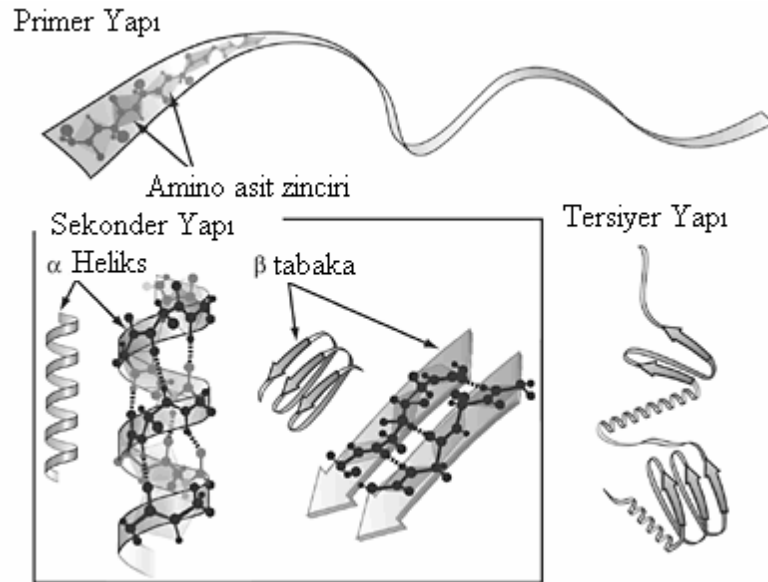


Şekil 2. 2 Peptit bağı oluşumu [10]

## 2.2 Protein Yapısı

Bilinen biyokimyasal maddeler arasında yapısı en karmaşık olanlar proteinlerdir. Bir proteinin üç boyutlu yapısını ve fonksiyonunu yapısındaki amino asitlerin sayısı ve sırası tayin eder. Proteinlerdeki amino asit dizilişi primer veya birincil yapı olarak adlandırılır. Sekonder ve tersiyer yapıları etkileyen faktör primer yapıdır. Bir türe ait belirli bir proteinde amino asit dizilişi hep aynıdır. Türler arasında benzer veya aynı görevi yapan proteinlerin primer yapıları ise bazı farklılıklar gösterebilir. Bu durum primer yapı ile protein fonksiyonu arasındaki ilişkiyi gösterir.

İkincil veya sekonder yapı bir polipeptidin, tekli bağlar etrafındaki serbest dönmeler sonucu uzayda alabileceği üç boyutlu yapıdır. Bu yapı bir peptit bağının amid protonu ile diğerinin karbonil oksijeni arasında gelen H-bağları ile sağlamlaştırılır.  $\alpha$ -Heliks ve  $\beta$ -tabaka yapıları en çok rastlanan yapılarıdır. Polipeptit zincirinin eksen etrafında dolanması  $\alpha$ -heliks yapı şeklinde düşünülebilir (Şekil 2.3). İki elektronegatif uç arasındaki hidrojen bağı zincirin heliks şeklinde kıvrılmasını sağlayan güçtür. Bu bağ, sıralamada bir amino asidin karbonil (C=O) oksijeni ile kendinden sonraki dördüncü durumda bulunan başka bir asidin  $\text{NH}_2$  grubu arasında kurulur [12].



Şekil 2. 3 Proteinin farklı yapıları [12]

Diğer bir ikincil yapı olan  $\beta$ -tabakalı yapıda amid düzlemleri birbiri ardı sıra bir sağ bir sol düzlem içinde bulunur (Şekil 2.3).  $\beta$ -Tabaka yapı modeli ve  $\alpha$ -heliks yapı modeli birbirinden oldukça farklıdır. Polipeptit zincirleri tabakalı yapıda birbirine paralel veya anti paralel olarak yer alırlar.  $\text{NH}_2$  ve  $\text{COOH}$  grupları paralel yapıda aynı tarafta, anti paralel yapıda ise ters tarafta uzanırlar. Yapıyı kararlı hale getiren burada da zincirler arasındaki hidrojen bağlarıdır.

Tersiyer veya üçüncül yapı ise heliks ve tabakalı yapıyı kazanmış polipeptit zincirlerinin çeşitli şekillerde katlanıp kıvrılarak küçük hacme sığacak şekilde kazandıkları doğal üç boyutlu yapıdır. Tersiyer yapı içinde zincirin bir kısmı heliks, bir kısmı tabakalı yapı, bazı kısımlar ise rasgele katlanmalar gösterebilir. Tersiyer yapının kararlı olmasını sağlayan etkileşmeler şunlardır:

- a. Hidrojen bağları,
- b. Yan zincirlerindeki iyonlaşabilen gruplar arası iyonik etkileşmeler,
- c. Yan zinciri alifatik veya aromatik olan amino asitler arası hidrofobik etkileşmeler,
- d. Disülfür bağları,
- e. Polar grupları arası etkileşmelerdir.

Farklı amino asit dizilişine sahip her küresel proteinin kendine özgü bir üç boyutlu yapısı vardır. pH, sıcaklık, bazı kimyasal maddeler ve radyasyon gibi bazı çevresel faktörler bu yapıyı bozulabilir. Bir proteinin doğal üç boyutlu yapısını kaybetmesine denatürasyon adı verilir. Denatürasyon sırasında ikincil ve üçüncül yapıyı sağlayan etkileşmeler tamamen veya kısmen ortadan kalkar, protein molekülü açılır, tekli bağlar etrafında rasgele dönmeler olur ve çeşitli fiziksel özelliklerde değişimler meydana gelir [9].

Denatürasyon genellikle tersinir bir olaydır. Denatürasyona neden olan dış etkiler ortadan kalktıktan sonra proteinler doğal yapılarına geri dönerler (renatürasyon) ve biyolojik aktifliklerini geri kazanırlar.

Dördüncül yapı birden fazla peptit zinciri içeren oligomerik proteinlerde gözlenir. Dördüncül yapı, her peptit tersiyer yapısını kazandıktan sonra uygun şekilde bir araya

gelerek oluşur. Dördüncül yapıyı kararlı hale getiren etkileşmeler üçüncül yapıdakilerle aynıdır [11].

### **2.3 Proteinlerin Sınıflandırılması**

Proteinler şekillerine, çözünürlüklerine ve bileşimlerine bağlı olarak sınıflandırılırlar. Çözünürlüğe göre yapılan sınıflandırma uzun yıllar kullanılmış sonra önemini yitirmiştir. Buna rağmen, çözünürlüğe göre verilen adlar hala yaygın olarak kullanılmaktadır. Çözünürlüğe göre proteinler; albüminler, globülinler, prolaminler, glutelinler, skleroproteinler, histonlar ve protaminler olarak sınıflandırılmıştır. Proteinler bileşimlerine göre basit ve konjuge proteinler olarak ikiye ayrılırlar. Basit proteinlerde başka sınıftan bileşik bulunmaz. Konjuge proteinlerde ise lipidler veya oligosakkaritler gibi bileşikler vardır. Konjuge proteinlere örnek olarak lipoproteinler, glikoproteinler, nükleoproteinler verilebilir. Şekillerine göre proteinler de fibröz (lifli) proteinler ve küresel (globüler) proteinler olmak üzere ikiye ayrılırlar [12].

### **2.4 Proteinlerin Çözünürlüğü ve İyonizasyonu**

Albümin, fibrinojen, çeşitli enzimler, vb. gibi proteinlerin büyük kısmı sulu fazda (kan plazması, hücre içi sıvısı, vb.) çözünür. Aktin, keratin, vb. gibi bazı proteinler ise görevleri gereği suda ya çok az çözünür ya da hiç çözünmez. pH, sıcaklık, ortamdaki iyonlar ve derişimleri proteinlerin sudaki çözünürlüğüne etki eden parametrelerin başında gelmektedir. Amino asitler proteinleri oluşturan temel yapı taşıdır. Bir proteinin polipeptit zinciri üzerinde yer alan bazı amino asitler birden fazla karboksil (aspartik asit, glutamik asit vb.), bazıları ise birden fazla amino (lisin, arjinin, vb.) yan grupları taşır. Esas olarak bu grupların varlığı nedeniyle proteinler amfoterik özellik gösterir. Proteinlerin net olarak yüksüz davrandığı pH 'izoelektrik nokta' olarak tanımlanır. Ortam pH'ının değiştirilmesiyle protein iyonize olur veya net bir yük kazanır. Protein molekülünde net karşıt yüklerin birbirine eşit olduğu izoelektrik noktada proteinin sudaki çözünürlüğü en azdır. Başka bir ifadeyle, en kolay bu pH'da çöktürülebilir. Proteinlerin izoelektrik noktaları birbirinden farklıdır. Örneğin serum albümin için bu değer 4,7 – 4,9 aralığında iken fibrinojen için 5,5 – 5,8'dir [13].

Sıcaklık protein saflaştırılmasında kritik parametrelerden biridir. Vücut sıcaklığının üzerine çıkıldığında ya da altına düştüğünde bir çok protein tersinmez olarak üçüncül yapılarını yani biyolojik fonksiyonlarını kaybederler (denatürasyon). Adsorpsiyonun düşük sıcaklıkta, desorpsiyonun ise yüksek sıcaklıkta daha verimli yürütülmesi söz konusudur. Proteinlerin çoğu genellikle 50°C'den yüksek, çok azı ise 5°C'den düşük sıcaklıklarda denatüre olur. Yapılan çalışmalar proteinler için optimum çalışma sıcaklığının 20 – 40°C aralığında olduğunu göstermektedir [13].

## **2.5 Protein Adsorpsiyonunda Yürütücü Kuvvetler**

Protein-katı yüzey ya da protein-protein arasında hidrojen bağları, hidrofobik, Coulomb ve Van der waals gibi polar olmayan etkileşimler vardır [14].

### **2.5.1 Hidrojen Bağları**

H-bağları polipeptit zincirinde karbonil ve amit grupları arasındadır. Bu bağlar kısa mesafelidir (~0,1 nm) ve protein kararlılığında bir etkiye sahiptir. Bu da hidrojen bağlarının protein adsorpsiyonunda temel yürütücü kuvvet olmadığını göstermektedir [14].

### **2.5.2 Hidrofobik Etkileşimler**

Sulu sistemlerde yüzey ve polar olmayan (hidrofobik) moleküller arasındaki güçlü etkileşimlerdir. Bu etkileşimler sistemin Gibbs enerjisinin azalmasına neden olduğu için sulu çözeltilerde proteinlerin polipeptid zincirindeki polar olmayan kısımlar çok kolay dehidrasyon olurlar [14].

### **2.5.3 Coulomb Etkileşimleri**

Yükler arasındaki saf elektrostatik kuvvetlerdir. Protein molekülünde yüklü amino asit kalıntılarının çoğu sulu ortama doğru yerleştikleri için bu yüklü yüzeyler ile arasında güçlü bir elektrostatik etkileşime neden olur. Genellikle, protein yüzeyi homojen yüklü değildir. Proteinler izoelektrik noktada (pI) yüksüzdürler ve pI'dan uzaklaştığı zaman proteinler arasında itici ve çekici etkileşimler olur. Çözeltinin pH'ının değişmesiyle

yüzeş ve protein yükleri değişebilir. Elektrostatik etkileşim yapılan birçok çalışmada belirtildiği gibi protein adsorpsiyonu için önemli bir yürütücü kuvvettir [14].

#### **2.5.4 Lifshitz-Van der Waals Etkileşimleri**

Lifshitz-Van der Waals (LW) etkileşimleri indüklenmiş dipoller arasındaki etkileşimlerin bir sonucudur. Van der Waals kuvveti uzun mesafeli çekimdir. Deneysel olarak, proteinler ve materyal yüzeyleri arasında LW etkileşim kuvveti malzeme yüzeyinin düz bir parçasında temas açısı ölçümünden yararlanarak belirlenebilir [14].

### **2.6 Protein Tayin Yöntemleri**

Bir çözeltideki toplam protein miktarının belirlenmesi, bilimsel araştırmalarda, gıda analizlerinde, endüstriyel ve biyoteknolojik olarak birçok ürünün analizinde kullanılmaktadır. Proteinlerin saflaştırma basamaklarında protein tayinleri yapılmalıdır. Saflaştırılan protein enzimse; buna ek olarak aktivite tayinlerinin de yapılması gerekir. Protein konsantrasyon tayinlerinde 6 yöntem kullanılmaktadır [15].

Bunlar:

- Kjeldahl Yöntemi
- UV-Absorpsiyonu
- Bradford Yöntemi
- Biuret Yöntemi
- Folin-Lowry Yöntemi
- BCA Yöntemi

#### **2.6.1 Kjeldahl Yöntemi**

Yöntem 1883 yılında Johan Kjeldahl tarafından geliştirilmiştir. Bileşiklerin azot miktarını belirlemek için kullanılan oldukça eski bir yöntemdir. Bu yöntemde protein numunesi  $H_2SO_4$ 'lü ortamda parçalanır. Böylece proteinin içerdiği azot  $(NH_4)_2SO_4$ 'e dönüştürülür.  $(NH_4)_2SO_4$ 'e dönüşen azot destilasyon cihazına alınır ve NaOH eklenir. Oluşan  $NH_3$



destillenerek alınır. HCl çözeltisine gönderilerek NaOH titre edilir. Proteindeki azot oranından hareket ederek protein miktarı belirlenir [15].

### **2.6.2 UV – Görünür Absorpsiyonu**

Bu yöntemde, çalışılan çözeltinin UV absorpsiyonu doğrudan ölçülür ve protein derişimi hesap yoluyla bulunur. Diğer yöntemlerde ise belirteçlerle işlem sonucu oluşan renkli bileşğin absorpsiyonu belirlenir ve derişimleri bilinen standart protein çözeltilerinin ortaya koyduğu verilerle karşılaştırılır. Tirozindeki fenolik gruplar ve triptofandaki indolik gruplar nedeniyle birçok proteinin 280 nm’de maksimum absorpsiyon gösterme özelliğinden yararlanılarak örnekteki protein miktarının yaklaşık olarak bulunması için kullanılan hızlı bir yöntemdir. Bu yöntem çok duyarlı olmamakla beraber, kolaylığı ve hızlı sonuç vermesi nedeniyle sıkça kullanılan bir tekniktir. Ancak 260 nm’de maksimum absorpsiyon gösteren nükleik asitlerin 280 nm’de de absorpsiyon yetenekleri unutulmamalıdır. Bu nedenle nükleik asit artıkları ile çalışıldığında hatalı sonuçlar elde edilebilir. Bunun önüne geçmek için, Warburg ve Christian (1941) tarafından geliştirilmiş bir seri hata düzeltme faktörü ile ortaya çıkabilecek hata payı daha aza indirgenebilmektedir [15].

Diyaliz yada fraksinasyon (ters difüzyon) yoluyla protein olmayan maddelerin uzaklaştırılmasından sonra 260 – 280 nm’de UV absorpsiyon analizleri yapılır.

$$\text{Protein konsantrasyonu(mg/ml)} = (1,5A_{280} - 0,75A_{260}) \quad (2.1)$$

### **2.6.3 Bradford Yöntemi**

Boya bağlama esaslı yöntemlerin en yaygını 1976 yılında Bradford tarafından geliştirilen ve Coomassie Brilliant Blue G–250 boyasının kullanıldığı yöntemdir. Yöntem, proteinlerin fosforik asitli ortamda Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBBG) boyası ile kompleks yapma esasına dayanır. Bu boya negatif yüklüdür ve pozitif yüklü proteinlerle kompleks yaparak kırmızı renkten mavi renge dönüşür [15].

#### **2.6.4 Biuret Yöntemi**

Proteinlerin bazik ortamda  $\text{Cu}^{+2}$  iyonu ile mor-mavi kompleks yapması esasına dayanır. Bu kompleks iki peptid zincirindeki 4 azot atomunun ortaklaşmamış elektronları ile  $\text{Cu}^{+2}$  iyonu arasında gerçekleşir [15].

#### **2.6.5 Folin-Lowry Metodu**

Folin-Lowry yöntemi, protein miktarının Biuret yönteminden daha duyarlı olarak belirlenmesini sağlayan bir metottur. Bu yöntem Biuret yönteminin bir modifikasyonu olarak düşünülebilir [15].

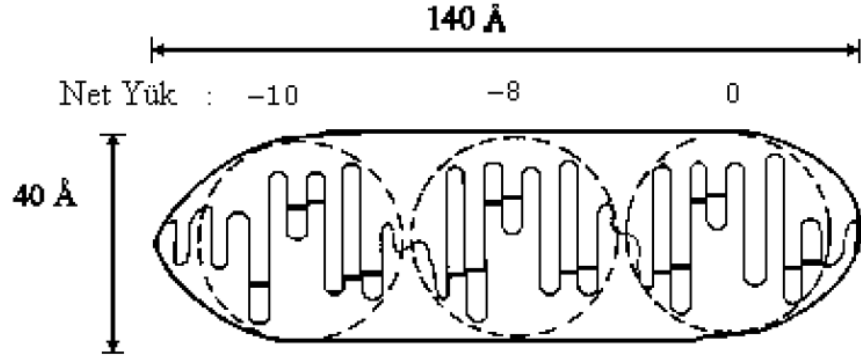
#### **2.6.6 BCA Yöntemi**

Bu yöntem Lowry metodunun değişik bir uygulamasıdır. Folin-Lowry'nin ikinci reaksiyonundaki fosfomolibdotungstat tuzu yerine BCA kullanılır. BCA proteinlerden elektron alarak  $\text{Cu}^{+2}$  formundan  $\text{Cu}^{+1}$  formuna indirgenen bakır katyonlarına bağlıdır [15].

### **2.7 Albümin**

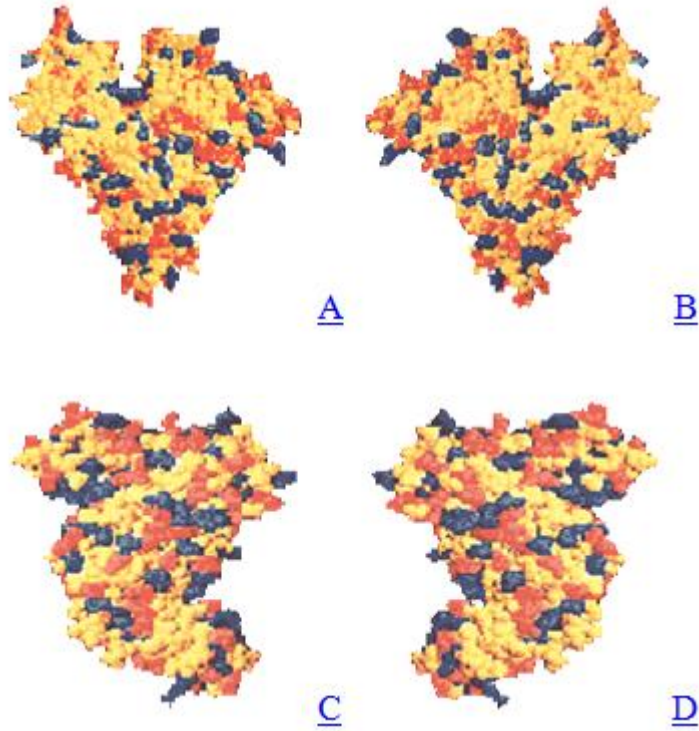
Albüminler 580 dolayında amino asitten oluşan tek bir polipeptid zincirinden ibaret, su ve seyreltik tuz çözeltilerinde çözünen proteinlerdir ve ikincil yapısı çoğunlukla  $\alpha$ -heliks'dir (~%54). Literatürde konformasyonel uyumluluğundan dolayı 'soft' globüler protein olarak bilinmektedir. Moleküler kütleleri 60–70 bin arasında değişir ve 20 farklı çeşitleri vardır. Albüminlerin bileşiminde yüksek oranda sistin, düşük oranda metionin ve triptofan ile birlikte yüklü amino asitler, aspartik ve glutamik asitler, lizin ve arjinin bulunmaktadır. Ayrıca bovin serum albüminin glisin ve izolösin içeriği ortalama bir proteininkinden daha düşüktür [16].

Serum albümin  $140 \times 40 \text{ \AA}$  boyutlarında kutupları yassılaşmış bir elipsoid olarak kabul edilmektedir. Deneysel çalışmalar bu sonucu doğrulamaktadır. Çeşitli veriler sonucunda albüminin puro sekline sahip olduğu kabul edilmiştir (Şekil 2.4).



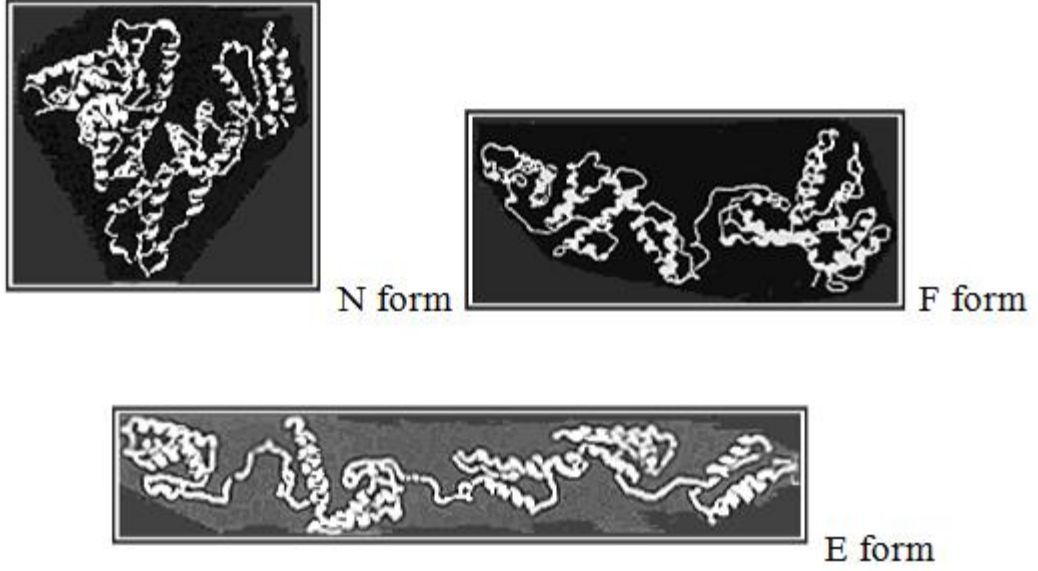
Şekil 2. 4 Serum albüminin klasik gösterimi [16]

Bununla birlikte albüminin bir elipsoid yapıya benzemediği <sup>1</sup>H NMR kullanılarak yapılan çalışmalarda belirtilmiş ve sonrasında kalp şeklinde bir yapı olduğu önerilmiştir (Şekil 2.5). Bu durum X-ray kristalografik veriler ile desteklenmiştir.



Şekil 2. 5 Serum albüminin boşluk dolum modeline göre temel tortular mavi, asidik tortular kırmızı ve nötr olanlar sarıyla gösterilmiştir. (A) karşıdan görünüm, (B) arkadan görünüm, (C) sol taraf ve (D) sağ taraf [16]

Bunun dışında, yapılan kristallografik çalışmalar BSA'nın üç homolog bölge (I, II, III) yaptığını (Şekil 2.6) ve pH değişimiyle tersinmez konformasyonal izomerizasyona uğradığını göstermiştir.



Şekil 2. 6 Bovin serum albüminin Ribbon diagramı [16]

Albümin bir kan proteindir ve izoelektrik noktası 4,8 olup fizyolojik pH'da önemli derecede negatif yüklüdür. En önemli görevlerinden biri ozmotik basınç yaparak kılcal damarlardan kanın geri toplanmasını sağlamak olan albüminlerin plazmadaki derişimleri yaklaşık 50 mg/ml'dir. Kandaki ozmotik basıncın %75 – 80 kadarı albüminler tarafından yapılır. Molekül başına -18 yük taşıdıklarından  $\text{Na}^+$  derişimini çok etkiler ve suyun plazma ile hücre dışı arasındaki hareketini ayarlarlar. Eğer su damarlara geri alınamazsa dokularda ödem meydana gelir. Albümin ozmotik basıncı büyük ölçüde etkiler. Şöyle ki; ağırlık temelinde en bol bulunan proteindir ve diğer önemli plazma proteinlerine oranla düşük molekül ağırlığına sahiptir. Ozmotik basıncın çözeltideki tanecik sayısına göre değişmesi ve moleküllerin bağlanması gibi özellikler gözönünde bulundurulduğunda pH 7,4'de albüminin negatif yükünün yüksek olması, çözeltide bulunan taneciklerin sayısına göre tahmin edilenden daha büyük bir ozmotik etki meydana getirerek yüzeylerinde su kümeleri oluşumuna neden olur [16].

Albüminlerin % 40'ı dolaşım sisteminde, kalanı ise deri, kas ve bağırsaklarda bulunur. Ozmotik basınç ayarlanması dışında taşıma görevi yaparlar. Yağ asitleri, alkil sülfatlar, steroid hormonlar,  $Ca^{+2}$  iyonları, tiroksin hormonu, billirubin ile aspirin, digitalis, penisillin G ve sülfonamidler gibi bazı ilaçlar albüminlerle taşınan maddelerdir [16].

## 2.8 Bovin Serum Albümin

Bovin serum albümin (BSA) sığırdan elde edilen düzgün amino asit profiline sahip, geniş, küresel bir proteindir. İyi karakterize edilmiştir ve fiziksel özellikleri iyi bilinmektedir. Genellikle protein konsantrasyon standardı olarak kullanılır [16].

### 2.8.1 BSA'nın Fizikokimyasal Özellikleri

- Moleküler ağırlık: 66,463 g/mol
- Amino asit tortularının sayısı : 585
- İzoelektrik nokta(suda, 25°C'de): 4,7 pI
- Boyutlar : 140 X 40 X 40 Å<sup>3</sup> (oval elipsoid a = b < c)
- Difüzyon Katsayısı :  $5,9 \times 10^{-11}$  g/cm<sup>2</sup>sn
- Herbir BSA molekülünde yük sayısı;
- pH 4,0 : +25
- pH 5,0 : ~0
- pH 7,5 : - 7,5

BSA serbest yağlı asitleri, diğer lipitleri ve proteinin ısı olarak doğasını değiştiren bileşenleri bağlar. İzole edilmiş BSA çok fonksiyonlu bir proteindir. Yüzey üzerinde polar olmayan çözücülerde 40 – 50°C arasında kısmen çözüldüğü belirlenmiştir ve tersinir protein-protein etkileşimlerine olanak sağlamaktadır.

### 2.8.2 BSA'nın Biyolojik Fonksiyonu

Birincil biyolojik fonksiyonu lipid bağlama özellikleriyle ilişkilidir; fakat bu rol mekanizması bugüne kadar net olarak belirtilmemiştir.

Doğal özelliklerini kaybetmiş BSA'nın bir insanın belirli hastalıklara (insülin bağımlılığı olan diyabet gibi) yakalanma olasılığını azaltabildiği belirtilmiştir.

BSA, soya proteini, toplam peynir altı suyu proteini, laktoglobülin ve pepsin hidrolizlenmiş kazeinin anti mutojenik (mutasyona yol açmayan) etkileri kıyaslanmıştır. Bu proteinlerden sadece enzim, hidrolizlenmiş kazein ve BSA'nın genetoksik bileşenlere karşı etkili olduğu görülmüştür[12].

### **2.8.3 BSA Uygulamaları**

BSA'nın eliza testi, immüno blot (bir protein solüsyonunda aranan bir proteinin olup olmadığını ve varsa ne kadar olduğunu anlamak için uygulanan nicel bir yöntem) ve immünohistokimyayı (kimyasal boyama yöntemi) içeren birçok biyokimyasal uygulaması vardır. Ayrıca mikrobiyal kültürde hücrede besin maddesi olarak kullanılır. Sınırlama sindirimlerinde BSA, DNA'nın sindirimi sırasında bazı enzimleri stabilize etmek için (dengede tutmak için) ve enzimlerin reaksiyon tüplerine, pipetlere ve diğer kazanlara adezyonunu önlemek için kullanılır. Bu protein dengede tutmak için gerekmeyen diğer enzimleri etkilemez. BSA ayrıca, bilinmeyen miktar proteinle bilinen miktar BSA karşılaştırılmasıyla diğer proteinlerin miktarını belirlemek için de kullanılır. BSA kararlılığından dolayı, birçok biyokimyasal reaksiyondaki etkisizliği ve düşük maliyeti ve büyük miktarlardaki BSA'nın sığır kanından çabucak saflaştırılabilmesi nedeniyle kullanılabilir[16].

### **2.8.4 BSA'nın İşlevsel Özellikleri**

#### **2.8.4.1 Köpürme**

Köpürme gaz kabarcıklarının bir sıvıda oluşumu ve dengede kalması olarak tanımlanabilir. Proteinler hava-su arayüzeyine difüze edilir ve yüzey gerilimini düşürür. Arayüzeyde kısmen açılırlar ve biraz elastik bir intermoleküler kohezif film üretiminde işbirliği yaparlar. BSA, lizozim ve klupin gibi temel proteinlerle etkileştiği zaman köpük genişlemesi ve kararlılığı BSA ile lizozim arayüzeyindeki çapraz bağlanmadan dolayı artar.

Elektrostatik tepkisi en düşük değerde olduğu zaman izoelektrik nokta civarında en iyi performansını sergiler. Lizozimle etkileştiği zaman en büyük genişleme ve kararlılık, BSA (4,7) ile lizozim (10,7) izoelektrik noktaları arasında olan pH 8,0 ile 9,0 arasındayken proteinler ters olarak yüklendiğinde bulunur [16].

#### **2.8.4.2 Katılaşma**

BSA ısıtıldığında disülfid ve kovalent olmayan bağlar boyunca kümelenmeler oluşur. Polimerize olmuş moleküllerin çözülebilir kümeleri proteinlerin ısıl indüklenmiş katılaşmalarının ilk aşamalarında oluşur ve sonraki polimerizasyon sabit jel ağı oluşumuyla sonuçlanır. Jelleşme 2 adımdan oluşan bir mekanizmadır. Başlatma adımı protein moleküllerinin yayılması ya da ayrılmasıdır, bunu izleyen adımda birleşme ve kümeleşme reaksiyonlarının olduğu birikim adımı gözlenir ve sonucunda uygun koşullarda jel oluşumu gözlenir. Yüksek düzende jel oluşumu için kümeleşme adımının birleşme adımından daha düşük hızla gerçekleşmesi gerekmektedir [16].

#### **2.8.4.3 Merkez Atom Bağlanması**

Albüminin en göze çarpan özelliklerinden biri çeşitli merkez atomlara tersinir olarak bağlanabilme özelliğidir. BSA plazma içinde çözünmeyen yağlı asitlerin esas taşıyıcısıdır. BSA, yağlı asitler, hematin, bilirubin ve negatif yüklü küçük aromatik bileşikler için yüksek benzerliğe sahiptir. Çok fonksiyonlu taşıma proteini olarak, albümin, önemli fizyolojik proseslerde kullanılan nitrik oksit kilit taşıyıcısıdır [16].

#### **2.8.5 BSA'yı Etkileyen Faktörler**

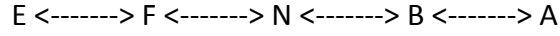
##### **2.8.5.1 Viskozite**

Protein çözeltisinin viskozitesi moleküler ağırlık, boyut, hacim, şekil, yüzey yükü ve bozulma kolaylığı gibi esas karakteristiklerine bağlıdır. Ek olarak pH, sıcaklık, iyonik güç, iyon tipi, kesme koşulları ve ısıl işlem gibi çevresel faktörlerden de etkilenir.

BSA'nın disülfid bağlarındaki artmış bölünmelerle viskozitesinin arttığı belirtilmiştir. BSA çözeltilerinin viskozitesi 65 mg/ml'ye kadar olan konsantrasyonlarda lineer olarak artarken daha yüksek konsantrasyonlarda üstel olarak artmıştır [16].

### 2.8.5.2 pH Etkisi

Serum albumin pH'taki değişimlerle uyuşumsal tersinir izomerizasyonlar geçirir.



Şekil 2. 7 BSA'nın formlarının dönüşümü [16]

### 2.8.5.3 Isı Etkisi

Serum albümin ısı işleminden geçirildikten sonra iki yapısal aşama geçirir. İlk aşama tersinirken ikinci aşama tersinmezdir; fakat düzenli yapının tamamen bozulmasıyla sonuçlanması şart değildir. 65°C'ye kadar ilk aşama, 65°C'den sonra ikinci aşama gerçekleştirilir. Yapısal değişikliğin başlama sıcaklığı DSC tarafından 58,1°C olarak bulunmuştur ve doğasını yitirme sıcaklığı 62°C olarak bulunmuştur [16].

Albüminin nötr pH'ta sedimentasyon (tortulaşma) sabiti yaklaşık 4 – 4,5 S'dir. Eğer albümin örnekleri 60°C'den fazla ısıtılırsa ve geri soğutulursa doğal proteinden ayrı olarak daha hızlı tortulaşma fakat 26 – 36 S sedimentasyon sabitleri ile heterojen fraksiyon bulunur. Bu yüksek moleköl ağırlıklı bileşiklerin oluşumu sıcaklığa ve konsantrasyona bağlıdır [16].



### HİDROKSİAPATİT

#### 3.1 Hidroksiapatit (HAP) Özellikleri ve Yapısı

Genel formülü  $Ca_{10}(PO_4)_6X_2$  olan apatitler fosfat mineralleri grubunda bulunurlar. En çok bilinenler; hidroksiapatit (HAP) ( $Ca_{10}(PO_4)_6OH_2$ ), floroapatit ( $Ca_5(PO_4)_3F$ ), kloroapatit ( $Ca_5(PO_4)_3Cl$ ) mineralleridir. Genel olarak hekzagonal kristal yapıda bulunan hidroksiapatit kemiğin temel bileşenidir. Doğal kemik ve dişle aynı elementer kimyasal bileşime ve sert doku ile yüksek çekmeye sahip kırılğan ve düşük dayanım özeliğine sahip bir maddedir [17].

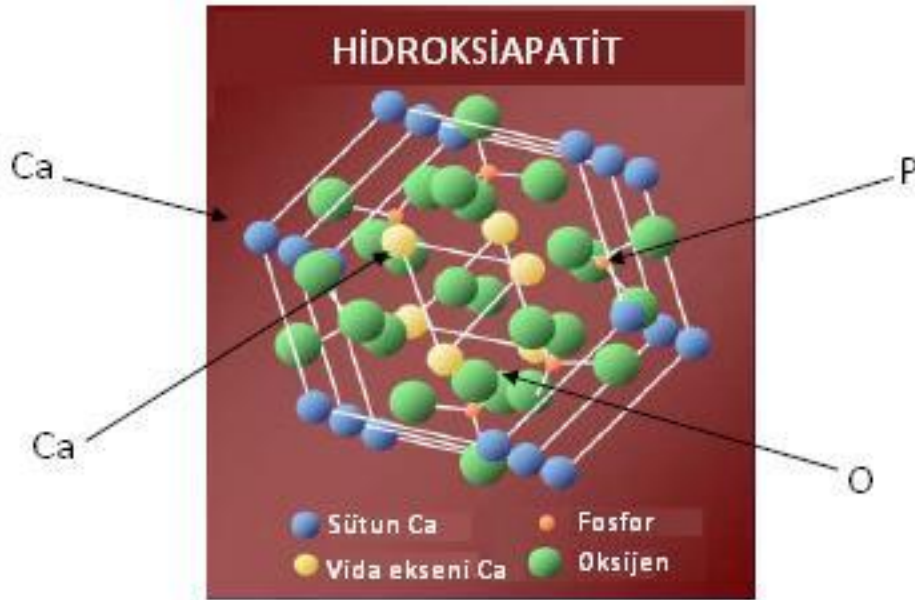
Normal fizyolojik koşullar altında vücut sıvısı hidroksiapatit ile aşırı doygunur. Bu sebeple hidroksiapatit üretimi ve çözülmesi; kemik, böbrek taşı gibi tıbbi alanlarda önemli bir yer tutmaktadır. Yapısal ve kimyasal olarak hidroksiapatit az çözünen kalsiyum fosfat tuzları ailesine aittir. Mükemmel bir biyouyumluluğa sahiptir. Biyouyumluluk bir biyomalzemenin vücut tarafından kabul edilebilirliği anlamına gelmektedir ve hidroksiapatit yüksek biyouyumluluğu, kemik iletkenliği nedenleriyle biyomedikal malzeme olarak geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Son yıllarda ise fiziksel ve kimyasal özellikleri, yüksek yüzey etkileşim özellikleri, biyouyumluluğuyla ilaç taşıyıcı ve ilaç taşınım sistemleri olarak kullanımına ilişkin birçok çalışma yapılmaktadır. Kullanım amaçlarına göre hidroksiapatitler farklı fiziksel ve kimyasal yapıya sahip olarak üretilebilirler. Örneğin implant malzemelerin geliştirilmesinde gereken en önemli özellik mekanik dayanımdır. Dolayısıyla üretilen biyoseramiklerin dayanımı gerçek kemik dokusuna yakın olmalı, statik ve dinamik yüklere karşı yüksek yorulma direnci göstermeli, özellikle canlı bünyede korozif etkilere karşı dayanıklı olmalı ve yüksek

kırılma direnci göstermelidir. Kemik implant malzemesi olarak kullanılacak hidroksiapatiti yoğun yapıli olacak şekilde üretilmelidir. Yüksek gözenekli yapıdaki hidroksiapatitin ise az dayanıklılığı, yüksek doku uyumluluğu, yüksek adsorpsiyon özellikleri nedeniyle kontrollü ilaç salımında kullanımı tercih edilmektedir [18].

Çizelge 3. 1 HAP'ın fizikokimyasal, mekanik ve biyolojik özellikleri [19]

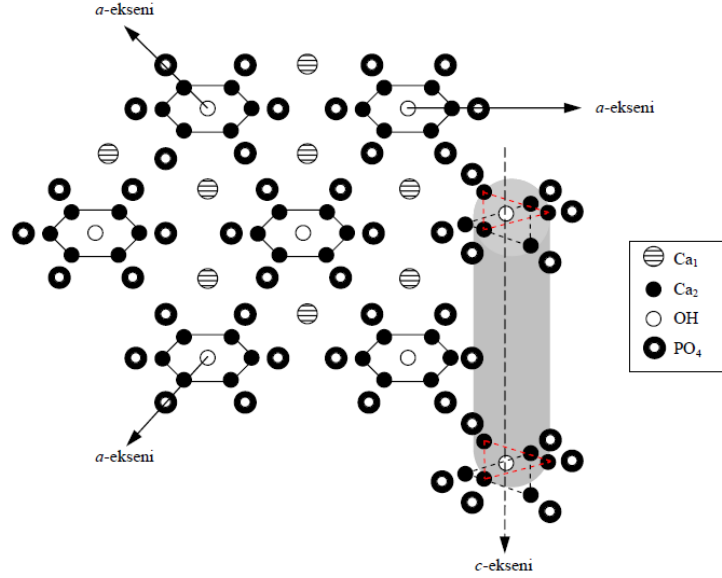
Özellik	Değer
Molekül formülü	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$
Ca/P oranı	1,67
Kristal yapı	Hegzagonal
Young modülü (GPa)	80 – 110
Elastiklik modülü (GPa)	114
Baskı dayanımı (MPa)	400 – 900
Gerilme dayanımı (MPa)	115 – 200
Yoğunluk ( $\text{g}/\text{m}^3$ )	3,16
Kırılma dayanımı ( $\text{MPa m}^{1/2}$ )	0,7 – 1,2
Sertlik (HV)	600
Bozunma sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ )	> 1000
Erime noktası ( $^{\circ}\text{C}$ )	1614
Dielektrik sabiti	7,40
Isıl iletkenlik ( $\text{W}/\text{cmK}$ )	0,013
Biyoaktiflik	Yüksek
Biyouygunluk	Yüksek
Biyobozunma	Düşük
Hücresele uygunluk	Yüksek
Kemik iletkenliği	Yüksek

HAP, kalsiyum fosfat bazlı seramikler sınıfındandır ve doğal kemik mineraline kimyasal ve yapısal benzerliğinden dolayı kemik aşı malzemesi olarak kullanılmaktadır. Kimyasal formülü  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$  ve Ca/P oranı 1,67'dir [19]. HAP yapısı şematik olarak Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3. 1 Hidroksiapatitin şematik olarak gösterimi [19]

Kalsiyum hidroksiapatit  $P6_3/m$  boşluk grubuyla hekzagonal sisteme aittir. Bu boşluk grubu aralarında  $120^\circ$  açı olan eşit 3a eksenine ( $a_1, a_2, a_3$ ) dik olan 6 katlı (6 kıvrımlı) c-ekseni tarafından karakterize edilir. En küçük yapı birimi, birim hücre olarak bilinir ve apatit kristallerinden oluşur. Kapalı olarak birbirleriyle paketlenmiş Ca,  $\text{PO}_4$  ve OH gruplarından oluşur.



Şekil 3. 2 HAP'in atomik yapısı [20]

### 3.2 Hidroksiapatit Hazırlama Yöntemleri

Hidroksiapatitlerdeki gözenek miktarı, kristallik derecesi gibi fiziksel özellikler hidroksiapatit tozlarının farklı üretim metotları ile sentezlenmesi yolu ile kontrol edilebilir. Amorf ve kristal yapıda; kaplama, toz veya jel halinde yapay olarak değişik yollarla üretilebilir. Ancak, mekanik olarak yüksek kırılma ve düşük esneklik gibi istenmeyen özellikleri, kompozit ve polimer katkılarıyla giderilmeye çalışılır [18].

HAP tozlarının hazırlanması için temelde uygulanan iki metot kuru metot ve yaş metottur. HAP üretiminde kullanılan yaş metotlar kendi içinde de çöktürme ve diğer kalsiyum fosforların hidrolizi gibi farklı yöntemlere ayrılabilir. Bunların yanında HAP tozlarının hazırlanmasında sol-jel, flux metodu, kuru soğutma, mekanokimyasal metot gibi kullanım alanlarına göre farklılık gösteren metotlar da mevcuttur [17].

#### 3.2.1 Kuru Metot

Yüksek sıcaklık ve uzun ısı işlem süresi gerektiren bu yöntem Kalsiyum/Fosfor (Ca/P) oranı 1,67 olan HAP üretimi için en çok kullanılan yöntemdir. Bu yöntemle homojen kompozisyonlara ulaşmak çok güçtür. Oluşan tozların sinterlenebilirliği düşük olur ancak stokiometrik ve iyi kristalize edilmiş ürün elde edilebilir [17].

### 3.2.2 Yaş Metot

Hidroksiapatitin Ca/P oranının 1,67'den düşük olduğu durumlarda kullanılan, hidroksiapatit sentezleri içinde uygulama kolaylığı nedeniyle en çok tercih edilen yöntemdir. Yaş metot çöktürme reaksiyonuna dayalı olup, kalsiyum ve fosfor iyonları içeren karışımların sulu çözeltilerinin karıştırılmasıyla yapılır. Bu sırada ortam pH'ı 7,0'dan büyük tutulur. Ortam asitliğini kontrol etmek için sıklıkla gaz amonyak, amonyum hidroksit ve sodyum hidroksit kullanılır. Bu şekilde çöktürme kristalizasyonu ile hidroksiapatit oluşumunun hızı; kaynak tuzların türü ve konsantrasyonu, ortamın asitliliği, reaksiyon sıcaklığı ve zaman gibi faktörlere bağlıdır. Yaş metotta; özel ekipmana, yüksek sıcaklık fırınlarına ihtiyaç yoktur. Laboratuvar şartlarında hidroksiapatit eldesinde kalsiyum nitratın potasyum fosfatla karıştırılması en geçerli yöntemdir [20].

### 3.3 Hidroksiapatitin Kullanım Alanı

Hidroksiapatit çok farklı alanlarda büyük ilgi gören bir bileşendir. Kemik mineraline kimyasal benzerliği ve yapısı ile özellikle biyomalzeme alanında çok önemlidir. Zehirsiz olması ve sert ve yumuşak dokulara yüksek uyumluluğu hidroksiapatiti biyomalzeme olarak üstün kılan özellikleridir. Düşük Ca/P oranına sahip hidroksiapatit yüksek sıcaklıklarda elektriğe duyarlıdır. Ayrıca küçük partikül boyutu ve yapışkan olmadan suyu adsorbe edebilme yeteneği ile toz halindeki katıların kekleşmesini önleme ve katıların akışında düzenleyici olarak önemli ticari uygulamalara sahiptir [21], [22].

HAP kimyasal olarak kemiğin ve memelilerdeki diğer sert dokuların (diş ve kemik) mineral bileşenleri ile benzer yapıya sahiptir. Ayrıca doğal kemiğin yaklaşık olarak ağırlıkça %70 ve hacimce %50'si HAP'tır. Bunlara ilave olarak doğrudan kemiğe bağlanma özelliği ile beraber osteokondüktifliği (kemik içine yerleştirildiğinde kemikte var olan hücrelerin malzeme içindeki boşluklara ilerlemesi özelliği), yüksek biyoaktifliği ve biyouyumluluğu nedeniyle ortopedi ve dişçilikte; yapay kemik olarak çeşitli protezlerin yapımında, çatlak ve kırık kemiklerin onarılmasında ve metalik biyomalzemelerin kaplanmasında yaygın olarak kullanılmaktadırlar [23].

HAP yüksek biyouyumluluk ve üstün mekanik özellikler göstermesine rağmen halen tam olarak kemik yerine kullanılamamaktadır. Genellikle yüke maruz kalmayan implantlarda (orta kulak ve belkemiği cerrahisi) veya kaplama olarak kullanılır.

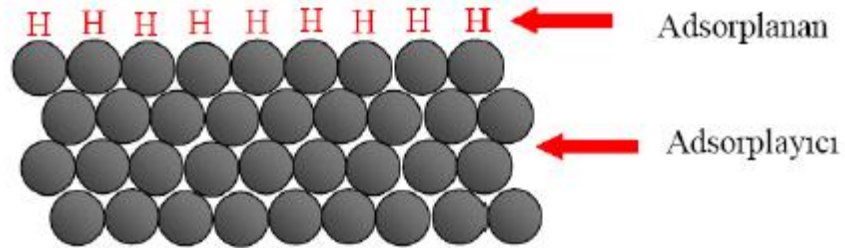
Ayrıca HAP metalik malzemeler üzerine kaplandığı zaman, metalin çevresindeki biyolojik ortamdan etkilenecek aşınmasını ve bu aşınmanın sonucunda da zehirli metal iyonları salmasını engelleyen etkin bir bariyer vazifesi görmektedir [23].

HAP ayrıca kontrollü ilaç salımında adsorban olarak kullanılmaktadır. İlaçları kapsül halinde taşımak için tanecik, membran veya gözenekli yapı formlarında doğal veya sentetik bozunabilir polimerler ve biyoaktif seramikler gibi çeşitli taşıyıcılar geliştirilmiştir. Bunların arasında, seramik bazlı sistemlerin bileşenlerinden hidroksiapatit, biyouyumlulukları nedeniyle ilaç taşıyıcı sistem olarak en büyük ilgiyi görmektedir [24].

### ADSORPSİYON

Adsorpsiyon olayı ilk kez 1773 yılında Scheele ile 1977 yılında ise A.Fontana tarafından keşfedilmiştir. Adsorpsiyon üzerine ilk sistematik araştırma ise 1814 yılında Sausture tarafından yapılmış, adsorpsiyon terimi 1881 yılında Kayser tarafından ileri sürülmüştür. Çözeltideki adsorpsiyon mekanizması 1785 yılında incelenmeye başlanmıştır. Günümüzde ise birçok doğal, fiziksel, biyolojik ve kimyasal işlemlerde önemli bir işlem olarak adsorpsiyon mekanizması tanımlanmaktadır [25].

Şekil 4.1'de sıvı- katı adsorpsiyonunun bir gösterimi bulunmakta ve adsorplanan madde ile adsorplayan katı arasındaki ilişki gösterilmektedir.



Şekil 4.1. Adsorplanan ve Adsorplayan Katı [25]

#### 4.1 Adsorpsiyonu Etkileyen Faktörler

##### 4.1.1 Adsorbent Yapısının Etkisi

Adsorbentin çözünürlüğü adsorpsiyon olayında adsorpsiyon dengesini kontrol eden en önemli etkenlerden biridir. Maddenin adsorpsiyonun gerçekleştiği ortamdaki

çözünürlüğü ile maddenin adsorpsiyonu arasında ters bir ilişki vardır. Adsorbent-çözücü arasındaki bağların kırılmasına bağlı olarak adsorpsiyon gerçekleşir. Yani; çözünürlük ne kadar fazla olursa adsorbent-çözelti arasındaki bağ o kadar kuvvetli olur ve adsorpsiyon miktarı azalır. Adsorbent molekül büyüklüğü de adsorpsiyonu etkileyen diğer bir etkidir. Adsorbent moleküllerinin, adsorban gözeneklerine göre büyük olması gözeneklerin tıkanmasına ve bu gözeneklerdeki aktif merkezlerin işlev görememesine neden olabilir. Bu durumda adsorpsiyon azalır. Adsorbent polaritesi de adsorpsiyon üzerinde etkilidir. Polar bir adsorban, polar olmayan bir çözelti içerisindeki polar bir maddeyi daha kuvvetli şekilde adsorplar [26].

#### **4.1.2 Adsorban Yapısının Etkisi**

Adsorbanın en önemli özelliği yüzey alanıdır çünkü adsorpsiyon bir yüzey olayıdır. Her katı madde adsorban olabilir; ancak adsorbanın yüzey yapısı adsorpsiyon kapasitesini değiştirmektedir. Yüzey alanı geniş ve boşluklu yapıya sahip madde uygun adsorbandır. Gözeneklilik arttıkça adsorpsiyon da artış gösterir. Adsorbanın yüzey alanını tahmin etmek kolay olmadığından adsorbanın birim ağırlığı başına adsorplanan madde miktarı alınır. Adsorpsiyona etki eden diğer önemli bir özellik de adsorbanın parçacık boyutudur. Birçok çalışma parçacık boyutunun azalması ile adsorpsiyon kapasitesinin arttığını göstermektedir [26].

#### **4.1.3 pH Etkisi**

Hidronyum ve hidroksil iyonları kuvvetli adsorbe olduklarından, diğer iyonların adsorpsiyonunda çözelti pH'ı etkilidir. Ayrıca asidik ve bazik bileşiklerin iyonizasyon derecesi de adsorpsiyonu etkiler [20]. Ortamın pH değeri adsorbent oksidasyon halini belirlediği ve yüzey ile ilişkisini etkilediği için belirli bir nokta ya da aralık değerinde etkin sonuç elde edilebilir [27].

#### **4.1.4 Sıcaklık Etkisi**

Adsorpsiyon işlemi genellikle ısı veren bir tepkime şeklinde gerçekleşir. Bu nedenle sıcaklığın azalmasıyla adsorpsiyon büyüklüğü artar. Açığa çıkan ısının genellikle fiziksel



adsorpsiyonda yoğuşma veya kristalizasyon ısıları mertebesinde, kimyasal adsorpsiyonda ise kimyasal reaksiyon ısıları mertebesinde olduğu bilinmektedir [27].

#### **4.1.5 Temas Süresinin Etkisi**

Adsorban ile çözeltinin temas süresi önemlidir. Adsorban, etrafını çevreleyen sıvı filmdeki maddeyi hızla adsorplar. İlk temas anında adsorpsiyon hızı genelde yüksektir. Süre ilerledikçe adsorpsiyon hızında azalma görülür [27].

#### **4.1.6 Dozaj Miktarı ve Yüzey Alanı Etkisi**

Adsorbent tarafından tutulan madde miktarının, adsorbentin kütlesiyle doğru orantılı olduğu gözlenmiştir. Kütle de yüzey alanı ile doğru orantılı olduğuna göre madde miktarı aynı zamanda yüzey alanıyla da doğru orantılıdır. Adsorpsiyon bir yüzey işlemi olduğundan, adsorpsiyon büyüklüğü spesifik yüzey alanı ile orantılıdır. Adsorplayıcının partikül boyutunun küçük, yüzey alanının geniş ve gözenekli yapıda olması adsorpsiyonu artırır [27].

#### **4.1.7 Çözünen Maddenin Cinsi ve Özelliklerinin Etkisi**

Çözünen maddenin çözünürlüğü, adsorpsiyon dengesi için kontrol edici bir faktördür. Genel olarak, çözünen maddenin adsorpsiyon hızı ile, sıvı fazdaki çözünürlüğü arasında ters bir ilişki vardır. Bu "Lundelius" kuralıdır. Çözünürlük arttıkça çözücü-çözünen bağı kuvvetlenir, adsorpsiyon derecesi azalır. Çoğu zaman, herhangi bir organik bileşiğin zincir uzunluğu arttıkça suda çözünürlüğü azalır. Çünkü, karbon sayısı arttıkça, bileşik hidrokarbona daha fazla benzer. Bu, çözünen cinsi ve adsorpsiyon arasındaki bağıntıyı belirten ikinci temel ifadedir (Traube Kuralı). Hidrokarbon yapı ağır bastıkça da çözünenin hidrofob özelliği artar. Hidrofob maddeler tercihli olarak adsorplanır. İyonlaşma arttıkça, adsorpsiyon azalır. Yüklü türler için adsorpsiyon minimum, nötral olanlar için maksimumdur [27].

#### **4.1.8 Karıştırma Hızının Etkisi**

Film ve gözenek difüzyonu tarafından kontrol edilen adsorpsiyon hızı, karıştırma hızına bağlıdır. Düşük karıştırma hızı, film difüzyonunun baskın olduğu durumda adsorban

etrafında dolaşan yüzey film kalınlığını artıracak, bu da difüzyona karşı direnci arttıracaktır. İyi karıştırma, gözenek difüzyonunu tetikler [27].

## **4.2 Adsorpsiyon Türleri**

### **4.2.1 Fiziksel Adsorpsiyon**

Adsorpsiyon bir yüzeydeki dengelenmemiş Van der Waals kuvvetleri yardımıyla veya moleküller arası düşük çekim gücünden dolayı gerçekleşiyorsa, buna fiziksel adsorpsiyon denir. Adsorbe olan molekül yüzey üzerinde hareketli bir durumdadır, katı yüzeyinde belirli bir yere bağlanmamıştır. Bununla birlikte, adsorplanan madde adsorbentin yüzeyinde birikir ve gevşek bir tabaka oluşturur. Bu şekilde katı haldeki adsorbentlerin yüzey alanlarının ölçülmesi mümkün olmaktadır. Ayrıca, adsorpsiyon çok tabakalı olabilmektedir. Fiziksel adsorpsiyon genellikle tersinirdir. Düşük adsorpsiyon ısı ile karakterize edilir ve adsorpsiyonun derecesi sıcaklık yükseldikçe azalır [28].

### **4.2.2 Kimyasal adsorpsiyon**

Adsorplanan madde ve katı yüzey arasında kimyasal bağ oluşumu sonucu görülen adsorpsiyon tipidir. Genellikle moleküller yüzey üzerinde hareket etmezler, adsorplanan yüzey üzerinde bir molekül kalınlığında bir tabaka oluştururlar. Kimyasal adsorpsiyon, tersinmez (çok nadir tersinir) ve tek tabakalı olup genellikle yüksek sıcaklık aralığında gerçekleşir, ayrıca rejenerasyonunda oldukça zordur. Adsorpsiyon sırasında açığa çıkan ısı, reaksiyon ısısından daha büyüktür ve aktivasyon enerjisi de yüksektir. Adsorpsiyon enerjisi 20 000 - 100 000 kalori/mol adsorbent arasındadır. Bu değer de olayın ekzotermik ve endotermik olmasına bağlı olarak kimyasal reaksiyonlardaki reaksiyon ısı ile yaklaşık aynı değerdedir.

### **4.2.3 Değişim (İyon Değişimi) Adsorpsiyonu**

Adsorplanan ile yüzey arasındaki elektriksel çekim nedeniyle meydana gelen adsorpsiyon değişim adsorpsiyonudur. İyon değişimi bu sınıfa dahil edilir. Burada, zıt

elektrik yüklerine sahip olan adsorplanan ile adsorbent yüzeyinin birbirlerini çekmesi önem kazanmaktadır. Elektrik yükü fazla olan iyonlar ve küçük çaplı iyonlar daha iyi adsorbe olurlar. Tüm bu adsorpsiyon çeşitlerine rağmen, bir adsorpsiyon işlemini tek bir adsorpsiyon çeşidi ile açıklamak zordur. Fiziksel, kimyasal ve iyonik adsorpsiyon arasında kesin bir ayırım yapılamaz, üçü aynı anda veya ardı ardına görülebilir [28].

#### **4.2.4 Biyolojik Adsorpsiyon**

Biyolojik adsorpsiyon; bir taşıyıcı üzerindeki mikroorganizmalar tarafından çözültideki anyon ve katyonların alıkonulması ve biyolojik degradasyonunun gerçekleşmesi olarak tanımlanmaktadır. Biyolojik adsorpsiyonda, bir inert madde üzerinde mikroorganizmaların taşınmasına bağlı olarak fiziksel adsorpsiyon ve biyolojik degradasyon birlikte gerçekleşmektedir. Sıcaklık sınırı ve adsorpsiyon ısı biyolojik adsorpsiyonu etkilemektedir. Bu yöntem de mikroorganizma türüne göre değişmektedir [28].

#### **4.3 Adsorpsiyon İzotermler Modelleri**

Adsorpsiyon işlemleri genellikle denge izotermleri ile tanımlanmaktadır. Sabit bir sıcaklıkta denge basıncı veya denge derişimi ile adsorban tarafından adsorplanan madde miktarı arasındaki bağlantıya adsorpsiyon izotermi denmektedir. Fiziksel ve kimyasal adsorpsiyonlarda, dengeyi belirlemek amacıyla Langmuir, Freundlich, Brunauer - Emmett - Teller (BET) izotermleri olmak üzere başlıca üç matematiksel model bulunmaktadır. Bu izoterm modelleri dışında Tempkin, Dubinin – Radushkevich ve Clausius - Clapeyron izotermleri de bulunmaktadır [29].

Adsorpsiyon izotermleri, adsorpsiyon proseslerinin kantitatif olarak ifadesinde önemlidir. Bunlardan, boyama ve çeşitli saflaştırma işlemlerinde faydalanılır. İyon değişim reçineleri, suyun yumuşatılması, düşük konsantrasyonlu çözültülerden iyonların kazanılması ve nadir toprak elementlerinin ayrılmasında önemlidir [29].

## 4.4 Adsorpsiyon İzotermi

### 4.4.1 Langmuir Adsorpsiyon İzotermi

Bu izoterm, Irving Langmuir (1918) tarafından bir takım varsayımlar yapılarak geliştirilmiştir:

- Adsorpsiyon yüzeyde tek bir tabaka üzerinde gerçekleşir,
- Adsorpsiyon dengesi dinamik bir dengedir yani belli bir zaman aralığında adsorplanan madde miktarı katı yüzeyden ayrılan madde miktarına eşittir,
- Adsorpsiyon hızı, sıvının konsantrasyonu ve katının örtülmemiş yüzeyiyle orantılıdır. Başta adsorpsiyon hızı büyük olmasına rağmen adsorpsiyona elverişli kısmın yüzeyi küçüldükçe azalır. Yani adsorpsiyon ilk başladığında yüzeye çarpan her molekül yüzeyde tutulabilir; fakat adsorpsiyon ilerledikçe ancak yüzeyin örtülmemiş kısmına çarpan moleküller adsorplanabilir,
- Adsorbentın bütün yüzeyi adsorpsiyon için aynı aktiviteye sahip kabul edilir, aslında yüzeyde bazı alanlar aktif olup ortalama aktivite kullanılır. Yüzeyin her noktası aynı özelliktedir,
- Adsorplanan moleküller arasında girişim yoktur. Adsorplanan maddelerin adsorbent üzerinde hareket etmediği varsayılır.

Adsorpsiyon ve desorpsiyon olayları bu teörinin temelini oluşturur. Her iki olayın hızı eşit olduğunda adsorpsiyon dengesi kurulacağından bu iki ters olayın etkisinden yararlanmışır. Adsorpsiyon ve desorpsiyon hız denklemlerini birbirine eşitleyerek Langmuir denklemine kolaylıkla geçilebilmektedir.

$$q_e = \frac{Q_{\max} a_L C_e}{1 + a_L C_e} \quad (4.1)$$

$Q_{\max} = (K_L/a_L)$  olarak alınırsa;

$C_e$ : Adsorpsiyon sonrası çözültide kalan madde konsantrasyonu (mg/L),

$q_e$ : Birim adsorbent üzerinde adsorplanan madde miktarı (mg/g),

$K_L$ : Adsorbentin adsorplanma kapasitesine bağılı sabit (L/g),

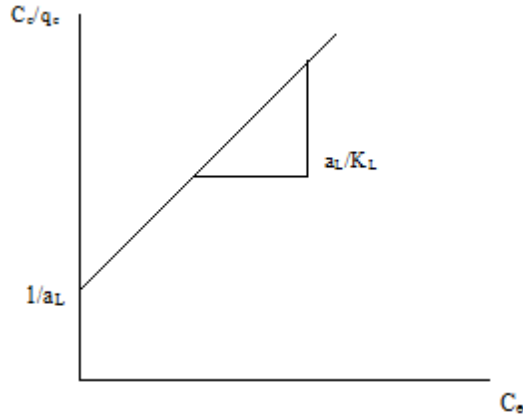
$a_L$ : Adsorpsiyon enerjisine bağılı olan sabit (L/mg),

$Q_{max}$ : Adsorbentin maksimum adsorplama kapasitesi (mg/g)'dir.

Denklemler, matematiksel işlemlerle lineerleştirilerek aşağıdaki formda yazılabilmektedir.

$$1/q_e = 1/C_e(1/K_L) + (a_L/K_L) \quad (4.2)$$

Burada  $C_e/q_e$  değerinin,  $C_e$  değerine göre değişiminin grafiğe dökülmesiyle elde edilen doğrunun eğimi ve kesim noktası sırasıyla  $a_L/K_L$  ve  $1/K_L$  sabitlerinin değerini verecektir.  $Q_{max}$  ( $K_L/a_L$ ) tek tabanlı adsorbent kapasitesini göstermekle birlikte adsorbent maksimum adsorplama kapasitesini temsil eder. Özellikle tek tabakalı adsorpsiyonun meydana geldiği heterojen adsorpsiyon sistemlerinde bu izoterm denge durumunu net olarak açıklayamaz [29].



Şekil 4. 2 Langmuir izotermi grafiğinin ifadesi [29]

Adsorpsiyonun elverişliliğini bulmak için boyutsuz  $R_L$  (dağılım) sabiti hesaplanır ve bu sabitin 0 ile 1 arasında değerler alması elverişlilik durumunun sağlandığına işaret eder.

$$R_L = \frac{1}{(1 + K_L C_0)} \quad (4.3)$$

Çizelge 4.1  $R_L$  Değerleri ve İzoterm Tipleri [29]

$R_L$ Değerleri	İzoterm tipi
$R_L > 1$	Elverişli olmayan
$R_L = 1$	Lineer
$0 < R_L < 1$	Elverişli
$R_L = 0$	Tersinmez

$R_L$  değerleri yardımı ile izotermin tipi belirlenebilir.

#### 4.4.2 Freundlich İzotermi

Yüzeylerin homojen olmaması ve adsorplanmış moleküller arasında etkileşmelerin meydana gelmesinden dolayı bazı sistemler Langmuir izoterm denkleminde sapmalar gösterebilir. İdeal olmayan bu sistemler, çeşitli ampirik izotermlere uyabilirler. Bunlardan biri de Freundlich adsorpsiyon izotermidir. Freundlich (1926), adsorpsiyon prosesini ifade eden bir ampirik denklem geliştirmiştir. Freundlich'e göre bir adsorbentin yüzeyi üzerinde bulunan adsorpsiyon alanları heterojendir yani farklı türdeki adsorpsiyon alanlarından oluşmuştur. Freundlich eşitliği orta büyüklükteki basınç ya da konsantrasyon aralığında geçerli olan bir denklemdir ve bu izoterm genellikle çözeltilerden adsorpsiyon için kullanıldığı gibi, gazların adsorpsiyonu için de kullanılır. Yüksek basınç ve konsantrasyonlarda yanlış sonuçlar veren bu denklem aşağıdaki gibi ifade edilir.

$$q_e = K_F C_e^{\frac{1}{n}} \quad (4.4)$$

$q_e$ : Birim adsorban üzerinde adsorplanan madde miktarı (mg/g),

$C_e$ : Adsorpsiyon sonrası çözeltide kalan madde konsantrasyonu (mg/L),

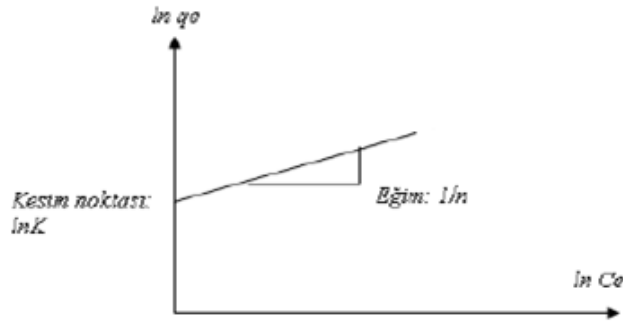
$K_F$ : Adsorpsiyon kapasitesi,

$n$ : Adsorpsiyon yoğunluğudur.

Freundlich izoterminde eşitlik her iki tarafın logaritması alınarak lineer hale getirilir.

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (4.5)$$

$\log q_e$ 'nin  $\log C_e$ 'ye göre değişiminin grafiğe dökülmesiyle  $K_F$  ve  $n$  sabitleri bulunur. Grafikten elde edilen doğrunun y eksenini kesim noktası  $\log K_F$ 'yi ve eğimi de  $1/n$ 'i verir.  $n > 1$  değeri adsorpsiyon işleminin elverişli olduğunu göstermektedir. Yüzey ne kadar heterojense,  $1/n$  değeri o kadar sıfıra yakın olur. Bu izotermin doğruluğu, heterojen adsorpsiyon sistemlerinde Langmuir izoterminde göre daha iyidir.



#### 4.4.3 Brauner – Emmett – Teller (BET) İzotermi

Çok tabakalı adsorpsiyonun açıklanabilmesi için Brunauer, Emmett ve Teller tarafından geliştirilen BET izotermi, Langmuir izoterminde göre daha kullanışlıdır. Bu model, adsorbent yüzeyde birden fazla tabaka oluşturduğunu varsaymaktadır ve bu açıdan Langmuir izoterminin her bir tabakaya uygulanmış şeklidir.

Bir adsorpsiyonun hangi izotermle daha iyi açıklandığının bulunması için deneysel olarak elde edilen veriler tüm izoterm denklemlerine uygulanıp grafiğe dökülür. Verilerin doğrusal bir grafik oluşturduğu (korelasyon katsayısının bulunmasına yardımcı olur) izoterm çeşidi o adsorpsiyon için en uygun olanıdır. Ama bir veya daha fazla izoterm de uygun olabilmektedir [29].

Özel durumlarda kullanılan bazı izotermelere örnek olarak aşağıdaki izoterm verilebilir:

- Temkin: Sorpsiyon ısısındaki düşüşün logaritmik yerine lineer düşüş gösterdiği sistemler için.

- Dubinin-Radushkevich: Karakteristik sorpsiyon eğrisinin adsorbanın gözenekli yüzeyine bağlı olduğu sistemler için.
- Toth: Örneğin karbon üzerindeki fenolik bileşikler gibi heterojen sistemler için.
- Sips: Bir molekülün iki siteyi de kapsadığı durumlarda [29].

#### 4.5 Adsorpsiyon Kinetikleri

Bir olayın mekanizmasının aydınlatılabilmesinde deneysel verilerin yorumlanması oldukça önemlidir. Bunun için olayın hız belirleme basamağının bulunması gereklidir. Kinetik çalışma adsorpsiyon hızına etki eden adsorpsiyon basamaklarının anlaşılması için önemlidir. Adsorpsiyon kinetiğinin anlaşılması ile etkin adsorban-adsorbent temas süresi yani alıkoyma süresi bulunur [30].

Bir çözeltide bulunan adsorbentın adsorban tarafından adsorplanması işlemi başlıca dört aşamada gerçekleşmektedir:

1. Gaz ya da sıvı fazda bulunan adsorbent, adsorbanı kapsayan bir film tabakası sınırına doğru difüze olur.
2. Film tabakasına gelen adsorbent buradaki durgun kısımdan geçerek adsorbanın gözeneklerine doğru ilerler.
3. Adsorbent adsorbanın gözenek boşluklarında hareket ederek adsorpsiyonun meydana geleceği yüzeye doğru ilerler.
4. En son olarak da adsorbentın adsorbanın gözenek yüzeyine tutunması meydana gelir.

Bazı kaynaklara göre 2. ve 3. basamakların çok hızlı gerçekleşmelerinden dolayı her iki basamağı tek basamakta göstermek mümkündür. Buna göre ilk basamak makrotaşınım, ikinci ve üçüncü basamaklar mikrotaşınım, son basamak ise sorpsiyon ismini almaktadır. Adsorbanın yüzeyinde yer alan merkezlerde yüzey fonksiyonel gruplarının elektronlarını adsorbent molekülleri ile paylaşımları ya da moleküllerle etkileşimi sonucu adsorpsiyon gerçekleşir. Sorpsiyon terimi, çoğunlukla fiziksel ve kimyasal adsorpsiyonun bir arada gerçekleşmesi ve birbirlerinden zor ayırt edilebilmeleri dolayısıyla kullanılır [30].



Geliştirilmiş Freundlich (The modified Freundlich), yalancı birinci (The pseudo-first-order) ve yalancı ikinci derece (The pseudo-second-order) reaksiyon hız modelleri denge süresine kadar gerçekleşen adsorpsiyon hızını açıklamada kullanılabilir.

Geliştirilmiş Freundlich denklemi Kuo ve Lotse tarafından geliştirilmiştir ve aşağıda Eşitlik 4.6 ile verilmiştir.

$$q = KC_0 t^m \quad (4.6)$$

Burada;

q: herhangi bir t zamanında adsorplanan miktar (mg/g),

C<sub>0</sub>: başlangıçtaki konsantrasyonu (mg/L),

t: Temas süresi (dk),

K: görünen hız sabiti (L/g.dk),

m: Kuo- Lotse sabiti'dir.

Yalancı birinci derece reaksiyon hızını temel alarak adsorpsiyon kinetiği için bir model geliştirmiştir. Bu model Eşitlik 4.7 ile verilmiştir.

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_e - q_t) \quad (4.7)$$

Eşitlik 4.7, t= 0 ile t aralığında ve q=0, q=q sınırları dahilinde integrali alınırsa Eşitlik 4.8 elde edilir.

$$\log\left(1 - \frac{q}{q_e}\right) = \left(\frac{k_1}{2,3}\right)t \quad (4.8)$$

Eşitlik 4.3 doğrusal ve doğrusal olmayan durumlar için yeniden düzenlenebilir. Doğrusal olmayan durumlar için Eşitlik 4.8, Eşitlik 4.9 ve doğrusal durumlar için Eşitlik 4.10 şeklini alır.

$$q = q_e - q_e \exp(-k_1 t) \quad (4.9)$$

$$\log(q_e - q) = \log(q_e) - \left(\frac{k_1}{2,3}\right)t \quad (4.10)$$

Burada;

$k_1$ : Adsorpsiyon için hız sabiti, ( $dk^{-1}$ ),

$q_e$ : Denge halinde adsorbe edilen iyonlarının miktarı, (mg/g),

$q$ : Herhangi bir  $t$  zamanında adsorplanan miktar, (mg/g).

$t$ : Temas süresi (dk)'dır.

Yalancı ikinci derece reaksiyon hız eşitliği denklemi Eşitlik 4.11 ile verilmiştir.

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2 \quad (4.11)$$

Eşitlik 4.11 integrasyon ile Eşitlik 4.12 halini alır.

$$q = \frac{k_2 q_e^2 t}{(1 + k_2 q_e t)} \quad (4.12)$$

Burada;

$k_2$ : Adsorpsiyon için ikinci derece reaksiyon hız sabiti, (g/mg.dk).

$q_e$ : Denge halinde adsorbe edilen iyonlarının miktarı, (mg/g).

$q$ : Herhangi bir  $t$  zamanında adsorplanan miktar, (mg/g).

$t$ : Temas süresi (dk)'dır [30].

### DENEYSEL KISIM

Hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) (HAP) mükemmel biyoyumluluğu, toksik olmayışı ve proteinler, enzimler gibi biyopolimerlere yüksek benzerlik göstermesi nedeniyle son yıllarda dikkat çekici olmuştur. Biyolojik moleküller HAP kristalin yüzeyiyle etkileşerek şekillerini adsorpsiyona en uygun olacak şekilde düzenlerler [33].

Bu çalışmada, katkısız olarak ve endüstriyel polimer varlığında laboratuvar ortamında üretilen HAP'lar ve laboratuvar ortamında hazırlanan BSA çözeltileri kullanılarak HAP üzerine protein adsorpsiyonu incelenmiştir. Adsorplanan BSA proteininin miktarının ölçülmesinde UV Spektrofotometresi kullanılmıştır. Bu bölümde deneylerde izlenen yöntem açıklanmıştır.

#### 5.1 Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

- Kalsiyum klorür dihidrat ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck)
- Potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (Sigma-Aldrich)
- Potasyum hidroksit (KOH) (Sigma-Aldrich)
- Endüstriyel Polimer (LS)
- Bovin serum albümin (BSA) (Sigma)
- Disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) (Sigma)
- Sodyum dihidrojen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) (Sigma)
- Etil Alkol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) (Merck)

## 5.2 Deneylerde Kullanılan Cihazlar

- Spektrofotometre: Specord 50 Analytik Jena UVS
- Santrifüj Cihazı: Sigma Santrifüj
- Etüv: MMM Ecocell
- Analitik Terazı: Ohaus Pioner
- Fırın: Lenton
- Çalkalamalı Su Banyosu: GFL 1083
- pH Kontrol Ünitesi: Eutech Instruments Alpha pH 1000
- Vakum Pompası: KNF Lab Laboport
- Su Banyosu: Polyscience
- Karıştırıcı: Heidolph MR Hei-Standard
- Pompa: Cole Parmer Instrument 7518-00
- BET Yüzey Alanı Tayin Cihazı: Contech Sorptometer 1042
- FT-IR Cihazı: Bruker Optics Alpha

## 5.3 Deneylerde Kullanılan Çözeltiler

### 5.3.1 Tampon Çözeltiler

0,2 M disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) ve sodyum dihidrojen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) çözeltilerinden pH'ı 5,7 olan tampon çözelti hazırlanmıştır.

0,01 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve 0,01 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  çözeltilerinden pH'ı 7,0 olan tampon çözelti hazırlanmıştır.

## 5.4 Kullanılan Adsorbanlar

Bu çalışmada, katkısız olarak ve endüstriyel polimer varlığında üretilen, sinterlenmemiş ve farklı sıcaklarda sinterlenmiş HAP'lar adsorban olarak kullanılmıştır.

#### **5.4.1 Kullanılan Adsorbanların (HAP) Üretimi**

Toz halindeki katkısız HAP kristalleri 0,5 M kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ) ve 0,3 M potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) çözeltilerinin karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Reaktöre konulan  $\text{CaCl}_2$  çözeltisine,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  bir pompa yardımıyla kontrollü olarak damlatılmıştır. Çözelti pH'ı 9–9,5 olacak şekilde pH kontrol ünitesine bağlı peristaltik pompa yardımıyla sisteme eklenen 0,1 M KOH çözeltisi ile sağlanmıştır. Su banyosu yardımı ile sistemin sıcaklığı  $70^\circ\text{C}$ 'de sabit tutulmuştur. Ortamdaki  $\text{CO}_2$ 'yi uzaklaştırmak için sistemden azot gazı geçirilmiş ve çözelti 300 rpm'de bir karıştırıcı ile sürekli olarak karıştırılmıştır.

İşlem tamamlandıktan sonra çözelti vakum pompası yardımı ile süzgeç kağıdından süzülmüş, elde edilen kristaller saf su ile yıkanmış ve etüvde kurutulmuştur.

Endüstriyel polimer varlığında yapılan üretimlerde ise polimer, reaksiyon başında  $\text{CaCl}_2$  ve  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  çözeltilerine belirli oranlarda eklenmiş ve aynı yol izlenmiştir.

Sinterlenecek olan katkısız haldeki veya polimer katkılı HAP'lar kül fırınında  $10^\circ\text{C}/\text{dk}$ 'lık hızla belirlenen sıcaklıklarda 3 saat sinterlenmiştir. Yapılan sinterleme ile HAP bünyesinde bulunan polimer ortamdan uzaklaştırılmıştır.

#### **5.4.2 Üretilen Adsorbanların (HAP) Karakterizasyonu**

##### **5.4.2.1 Yüzey Alanı Ölçümü (BET)**

Toz halindeki HAP kristallerinin spesifik yüzey alanları BET yüzey analiz cihazı (Costech Sorptometer 1042) ile belirlenmiştir.

Çizelge 5. 1 HAP numunelerinin BET yüzey alanları

HAP Kristalleri	Polimer Konsantrasyonu (mg/L)	Sintelerme Sıcaklığı (°C)	Bet Yüzey Alanı (m <sup>2</sup> /g)
H1	-	-	34,19
H2 <sup>1</sup>	-	-	36,18
H1S	-	650	23,04
HP5000	5000	650	17,43
HP5000(2)	5000	800	11,68
HP10000	10000	650	12,04
HP10000(2)	10000	800	10,53
HP15000	15000	650	11,44

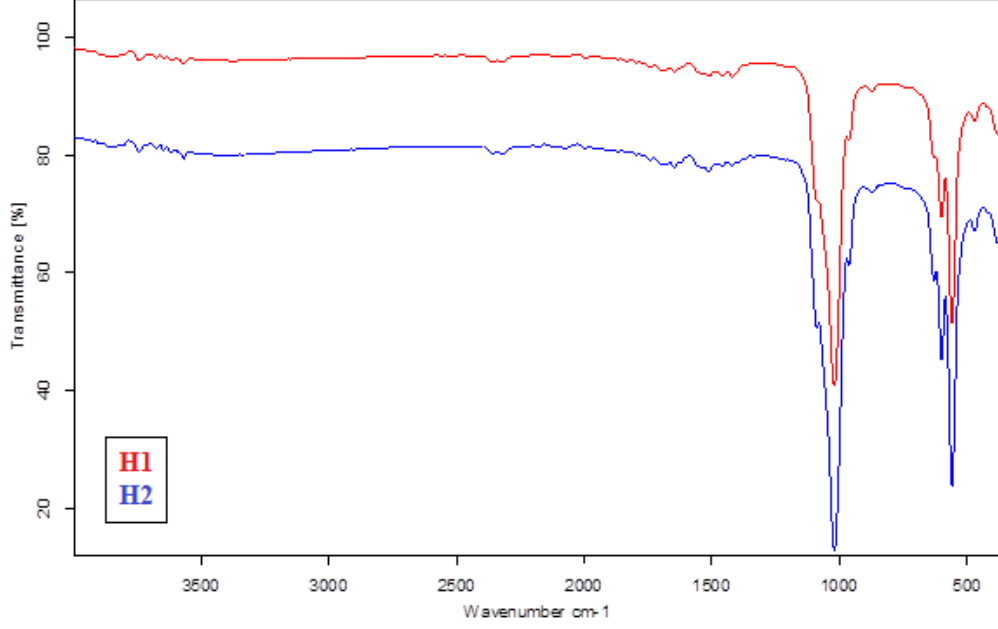
#### 5.4.2.2 FT-IR Spektrumları

Deneysel çalışmalarda elde edilen kristallerinin analizinde, Bruker Optics Alpha FT-IR Spektrometresi kullanılmış ve elde edilen veriler mevcut yazılım programı kullanılarak grafik hale dönüştürülmüş ve değerlendirilmiştir.

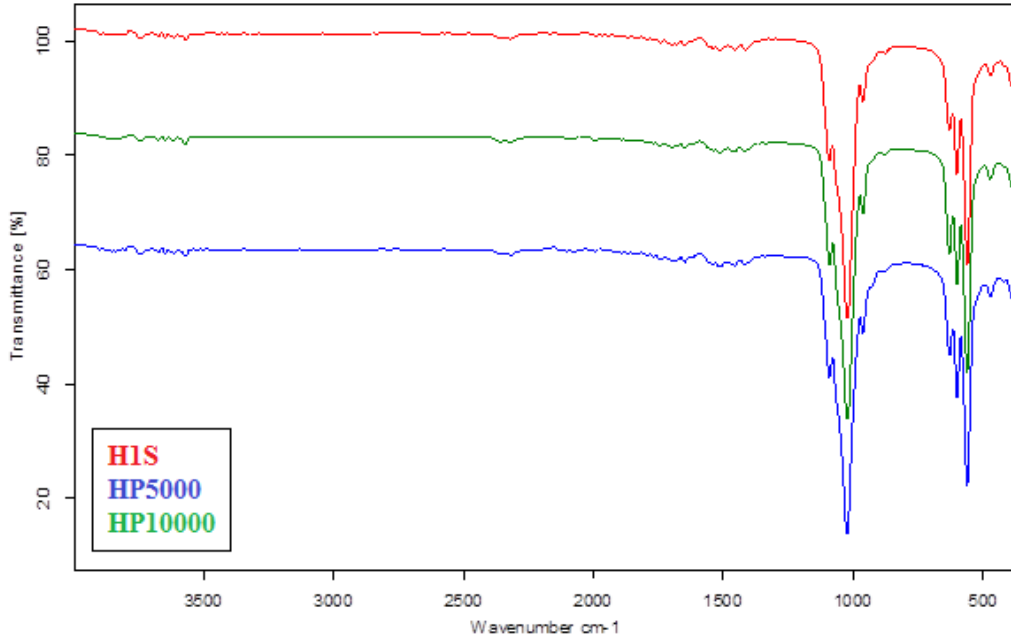
Üretilen HAP kristallerinin FT-IR analizleri yapılmış ve numunelerin HAP olduğu doğrulanmıştır. Şekil 5.1'de farklı reaktan konsantrasyonlarında üretilmiş HAP kristallerinin, Şekil 5.2'de 650°C sıcaklıkta sinterlenmiş HAP kristallerinin FT-IR spektrumları görülmektedir. Spektrumlar incelendiğinde 3400 cm<sup>-1</sup> civarındaki zayıf pikler su moleküllerinden kaynaklanmaktadır. Yaklaşık 3570 cm<sup>-1</sup> civarındaki zayıf pik ise HAP kristalindeki O-H grubunu göstermektedir. 1090 cm<sup>-1</sup>-1020 cm<sup>-1</sup> arasında PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> grubunun titreşimi ve 600-560 cm<sup>-1</sup> arasında orta şiddette O-P-O bağının üçlü bir deformasyon titreşimi görülmektedir. 960 cm<sup>-1</sup> ve 875 cm<sup>-1</sup> civarındaki zayıf pikler ise

<sup>1</sup> Ca: 1 M P: 0.6 M başlangıç konsantrasyonları ile üretilmiş katkısız HAP.

$\text{HPO}_4^{2-}$  grubuna aittir.  $630\text{ cm}^{-1}$  civarında görülen pik,  $\text{OH}^-$  grubuna ait titreşimdir.  $1650\text{ cm}^{-1}$  ve  $1415\text{-}1420\text{ cm}^{-1}$  civarında görülen zayıf titreşim  $\text{CO}_3^{2-}$  gruplarını gösterir. Bu ortamdaki  $\text{CO}_2^{2-}$ 'nin tam olarak uzaklaştırılmadığını belirtmektedir [31], [32].



Şekil 5. 1 Farklı reaktan konsantrasyonlarında üretilen HAP kristallerinin FT-IR spektrumları



Şekil 5. 2 650°C'de sinterlenen HAP kristallerinin FT-IR spektrumları

## 5.5 Deneysel Yöntem

### 5.5.1 BSA çözeltisinin hazırlanması

0,5 mg/ml BSA çözeltileri pH'ı 5,7 ve 7,0 olan tampon çözeltileri kullanılarak hazırlanmıştır.

## 5.6 Adsorpsiyon Deneyleri

### 5.6.1 Deneyin Yapılışı

Laboratuar ortamında üretilen HAP'lardan 0,075 g tartılıp 10 ml hacmindeki polipropilen tüplere konulmuştur. Üzerine pH'ı 5,7 ve 7,0 olan tampon çözeltiler ile hazırlanan 0,5 mg/ml BSA çözeltisinden 5 ml ilave edilmiş ve tüpler 37°C'de sabitlenmiş çalkalamalı su banyosunda bekletilmiştir. Belirli sürelerde tüpler alınmış 6000 rpm'de 15 dk santrifüjlenmiştir. Süzüntüde kalan BSA konsantrasyonu hazırlanan kalibrasyon grafiği vasıtasıyla UV'de 280 nm.'de ölçülmüştür.

Temas süresinde (t) adsorplanan BSA miktarı; q (mg/g) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$q=(C_0-C_t)V/m \quad (5.1)$$

$C_0$  : Başlangıç çözelti konsantrasyonu (mg/ml)

$C_t$  : t anındaki çözelti konsantrasyonu (mg/ml)

V : Çözelti hacmi (ml)

m : Kuru haldeki adsorban ağırlığı (g)

t anında adsorban yüzeyindeki % adsorpsiyon miktarını hesaplamak için ise:

$$\% \text{ Adsorpsiyon} = (C_0 - C_t)100/(C_0) \quad (5.2)$$

eşitliği kullanılır.

$C_0$ : Başlangıç anındaki çözelti konsantrasyonu (mg/ml)

$C_t$ : t anındaki çözelti konsantrasyonu (mg/ml)



### DENEYSEL SONUÇLAR

#### 6.1 pH 7,0 Tampon Çözeltisi Kullanılarak Yapılan Adsorpsiyon Deneylei

##### 6.1.1 BSA Proteini Kalibrasyon Grafiğinin Oluşturulması

BSA'nın kalibrasyon grafiğı UV-Görünür Alan Spektrofotometre cihazı için oluşturulmuştur. BSA çözeltisi karakteristik pikini 280 nm'de vermektedir ve kalibrasyon grafiğı bu dalga boyunda elde edilen değerler ile oluşturulmuştur. pH'ı 7,0 olan çözelti ile konsantrasyonu 0,1–1,2 mg/ml arasında değışen BSA çözeltileri hazırlanmıştır. Referans olarak tampon çözelti okutulurak her bir konsantrasyon için 280 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Çözelti konsantrasyonlarına karşılık gelen absorban değerleri ile de kalibrasyon grafiğı oluşturulmuştur.

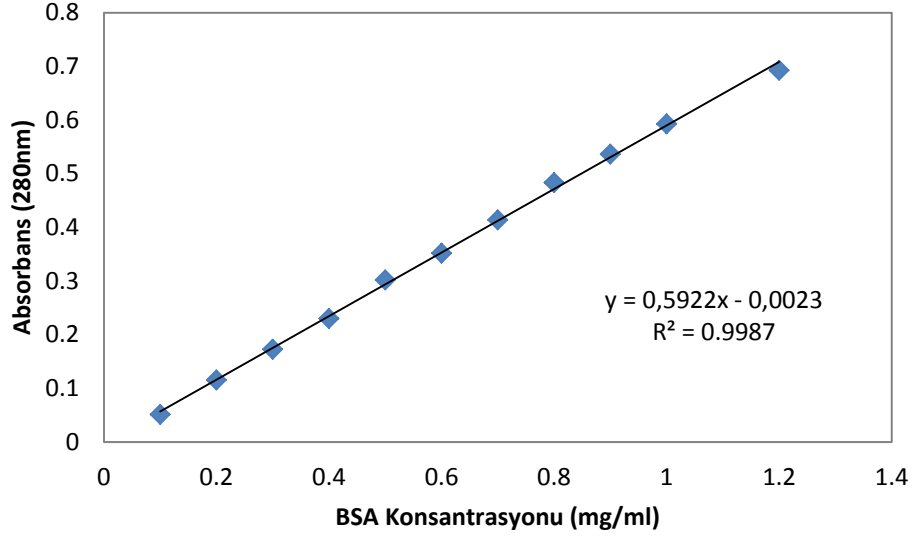
Çizelge 6. 1 BSA protein çözeltisi için konsantrasyon değerleri ve bunlara karşılık gelen absorbands değerleri

Konsantrasyon (mg/ml)	Absorbans Değerleri (280 nm)
0,10	0,0513
0,20	0,1156
0,30	0,1727
0,40	0,2302
0,50	0,3021
0,60	0,3519
0,70	0,4139
0,80	0,4834
0,90	0,5365
1,00	0,5928
1,20	0,6929

Standart çözelti konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbands değerleri ile oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 6.1’de gösterilmiştir. Absorbans değerlerinin konsantrasyon ile ilişkisini gösteren eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$A_{280} = -0,023 + 0,5922x \quad (R^2 = 0,9987) \quad (6.1)$$

Eşitlik 6.1’de  $A_{280}$ ; 280 nm’de ki absorbands değerlerini,  $C_{BSA}$ ; BSA konsantrasyonunu göstermektedir.



Şekil 6. 1 BSA pH 7,0 kalibrasyon grafiği

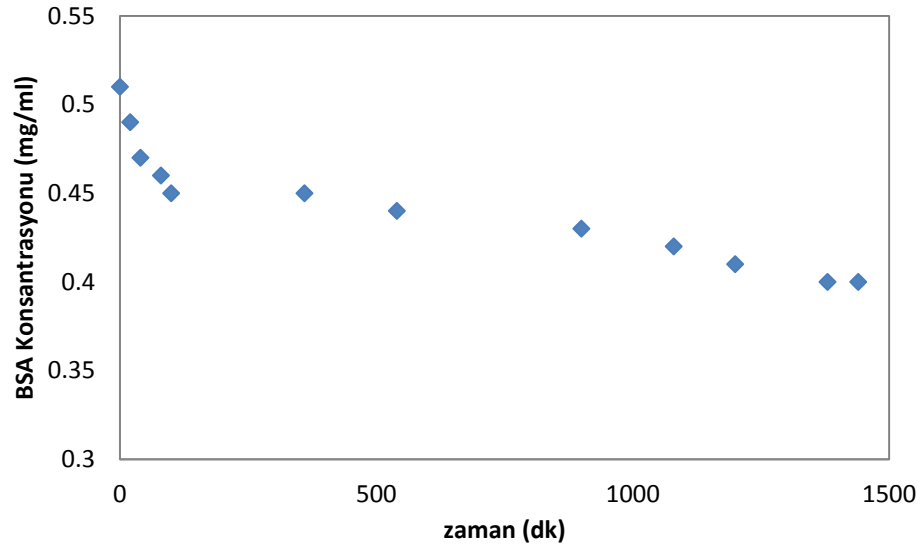
### 6.1.2 HAP Üzerine BSA Protein Adsorpsiyonunun Etkisinin İncelenmesi

Farklı adsorbanların pH 7,0 tampon çözeltilerden BSA adsorpsiyonuna etkisinin incelendiği deneylerde, adsorban olarak katkısız üretilmiş ve sinterlenmiş ; 5000 ve 10000 mg/L polimer varlığında üretilmiş ve sinterlenmiş HAP numuneleri kullanılmıştır.

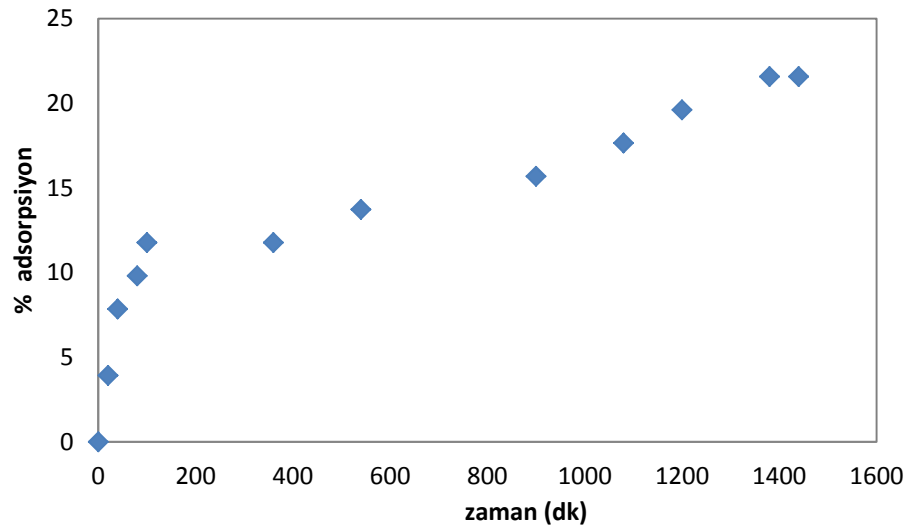
Adsorban olarak 650°C'de sinterli katkısız HAP (H1) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.2'de verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.2'de, BSA'nın % adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.3'de ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 6. 2 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1S)

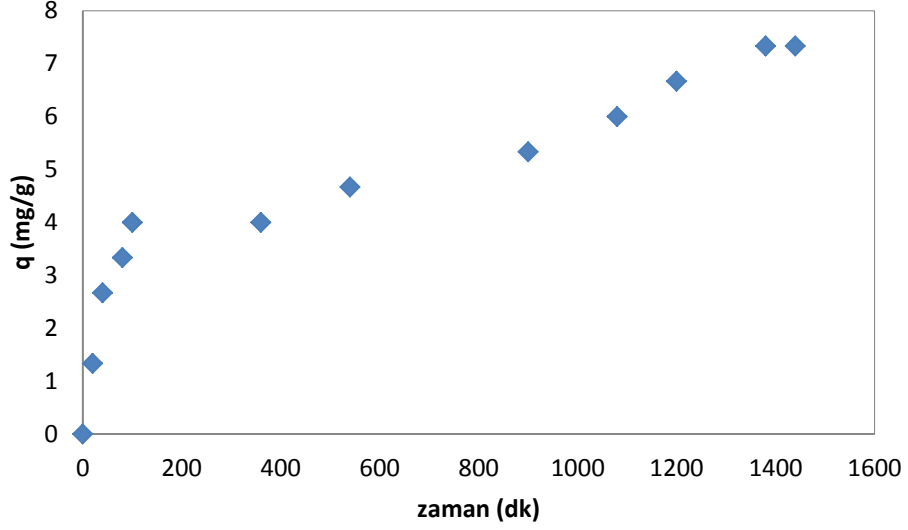
<b>Zaman (dk)</b>	<b>BSA Konsantrasyonu (mg/ml)</b>	<b>q (mg/g adsorban)</b>	<b>Adsorpsiyon (%)</b>
0	0,51	-	-
20	0,49	1,3333	3,9216
40	0,47	2,6667	7,8431
80	0,46	3,3333	9,8039
100	0,45	4,0000	11,7647
360	0,45	4,0000	11,7647
540	0,44	4,6667	13,7255
900	0,43	5,3333	15,6863
1080	0,42	6,0000	17,6471
1200	0,41	6,6667	19,6078
1380	0,40	7,3333	21,5686
1440	0,40	7,3333	21,5686



Şekil 6. 2 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: H1S)



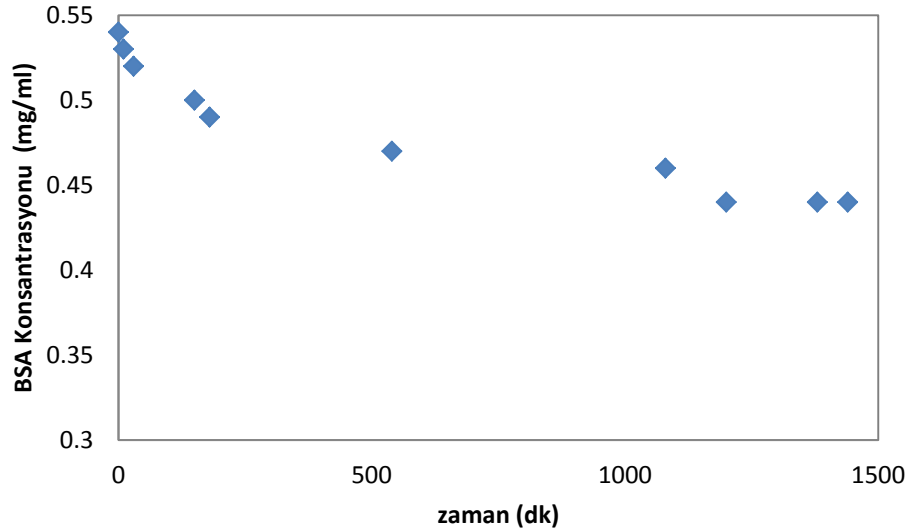
Şekil 6. 3 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1S)



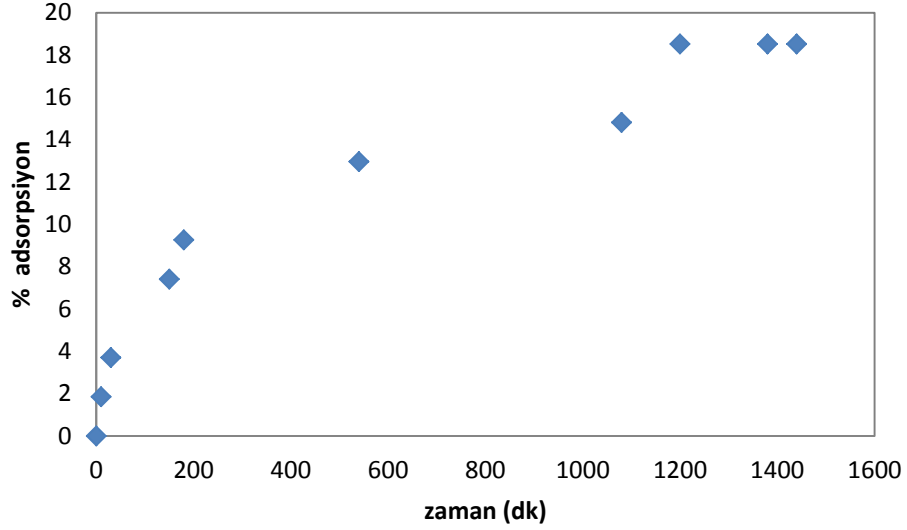
Şekil 6. 4 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1S)  
Adsorban olarak 650°C’de sinterli 5000 mg/L polimer katkılı HAP (HP5000) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.3’te verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.5’te BSA’nın %adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.6’da ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.7’de gösterilmiştir.

Çizelge 6. 3 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000)

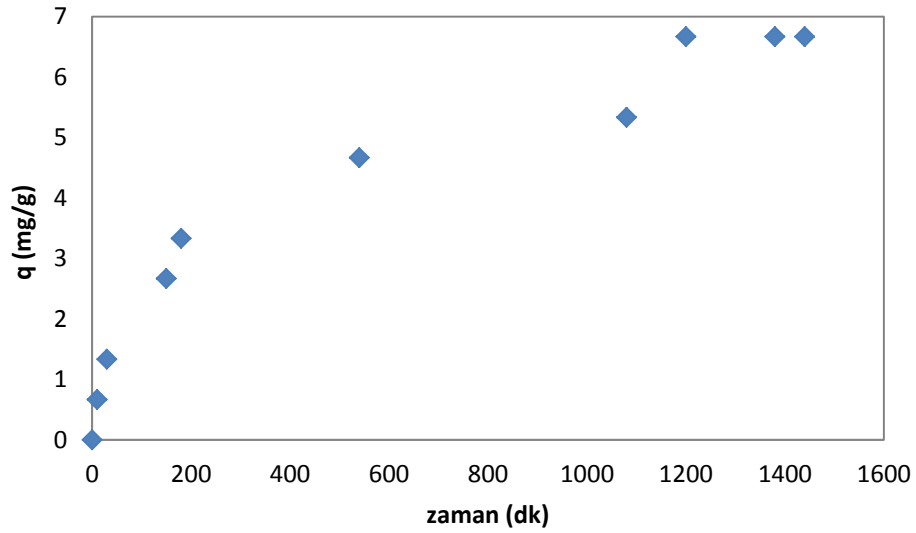
Zaman (dk)	BSA Konsantrasyonu (mg/ml)	q (mg/g adsorban)	Adsorpsiyon (%)
0	0,54	-	-
10	0,53	0,6667	1,8519
30	0,52	1,3333	3,7037
150	0,5	2,6667	7,4074
180	0,49	3,3333	9,2593
540	0,47	4,6667	12,9630
1080	0,46	5,3333	14,8148
1200	0,44	6,6667	18,5185
1380	0,44	6,6667	18,5185
1440	0,44	6,6667	18,5185



Şekil 6. 5 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP5000)



Şekil 6. 6 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000)



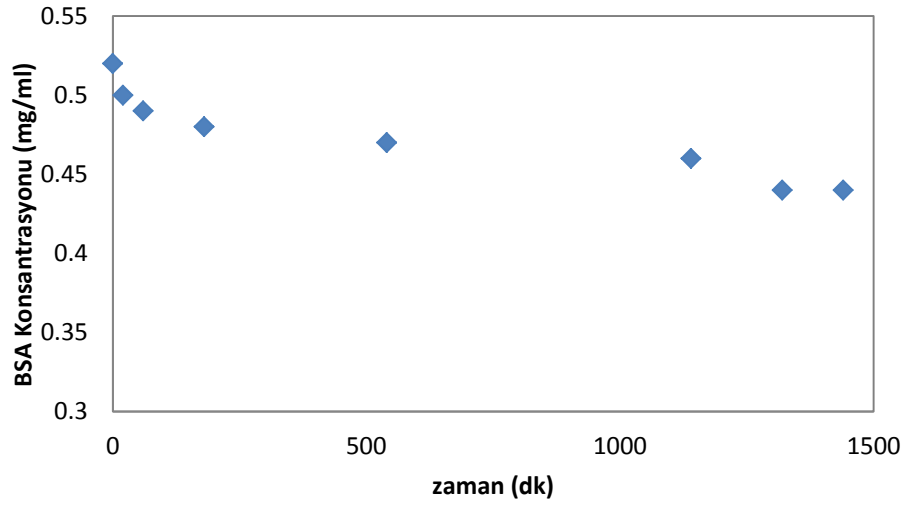
Şekil 6. 7 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000)

Adsorban olarak 800°C'de sinterli 5000 mg/L polimer katkılı HAP (HP5000(2)) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.4'te verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.8'de, BSA'nın %adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.9'da ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.10'da gösterilmiştir.

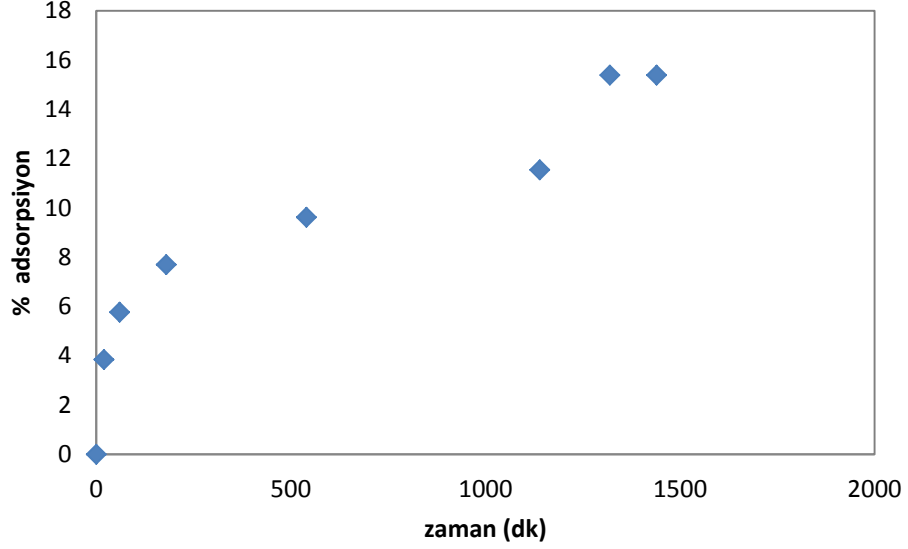


Çizelge 6. 4 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000(2))

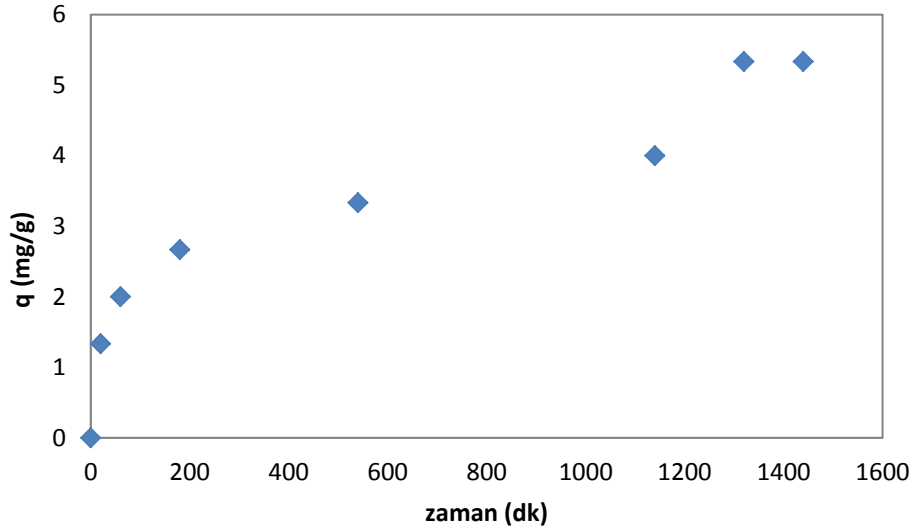
Zaman (dk)	BSA Konsantrasyonu (mg/ml)	q (mg/g adsorban)	Adsorpsiyon (%)
0	0,52	-	-
20	0,50	1,3333	3,8462
60	0,49	2,0000	5,7692
180	0,48	2,6667	7,6923
540	0,47	3,3333	9,6154
1140	0,46	4,0000	11,5385
1320	0,44	5,3333	15,3846
1440	0,44	5,3333	15,3846



Şekil 6. 8 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP5000(2))



Şekil 6. 9 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000(2))

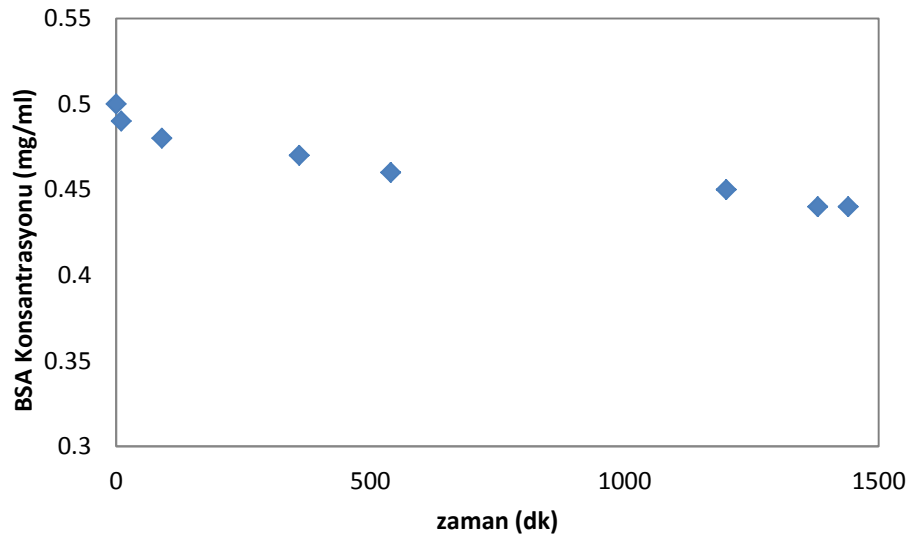


Şekil 6. 10 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000(2))

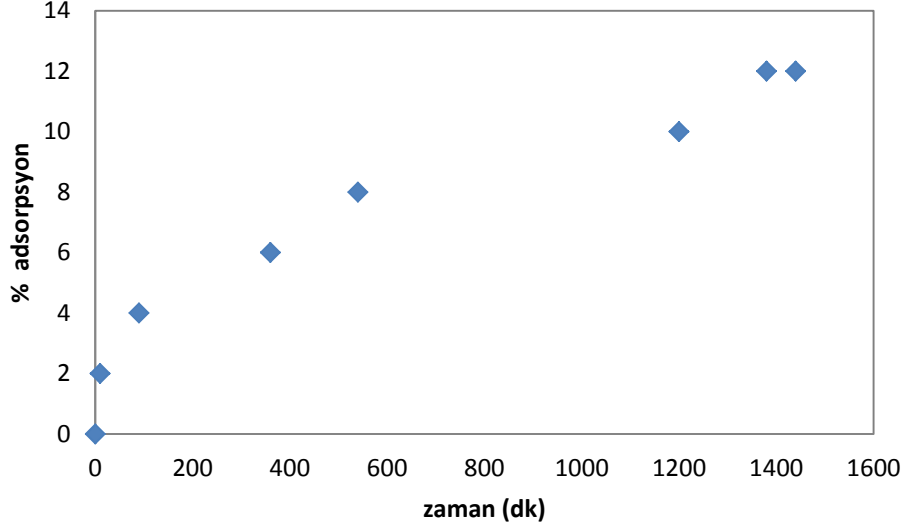
Adsorban olarak 650°C'de sinterli 10000 mg/L polimer katkıli HAP (HP10000) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.5'te verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.11'de, BSA'nın %adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.12'de ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.13'te gösterilmiştir.

Çizelge 6. 5 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000)

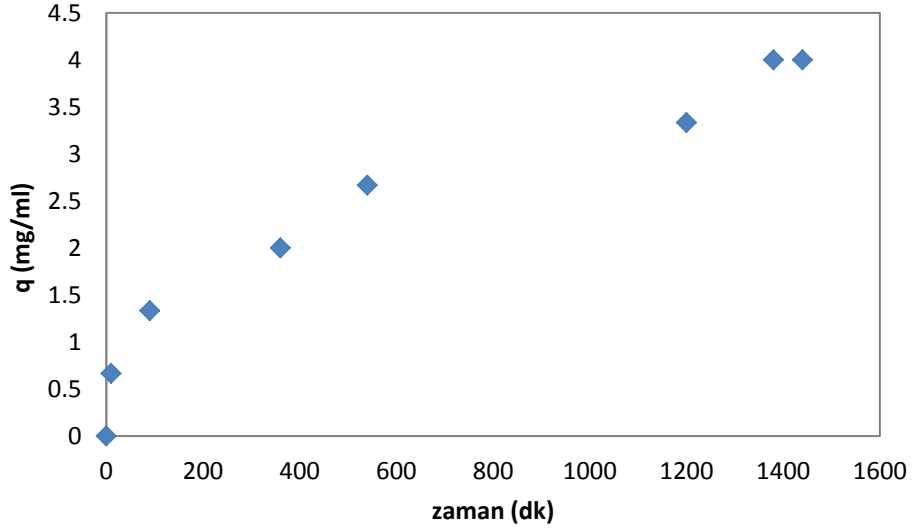
Zaman (dk)	BSA Konsantrasyonu (mg/ml)	q (mg/g adsorban)	Adsorpsiyon (%)
0	0,50	-	-
10	0,49	0,6667	2,0000
90	0,48	1,3333	4,0000
360	0,47	2,0000	6,0000
540	0,46	2,6667	8,0000
1200	0,45	3,3333	10,0000
1380	0,44	4,0000	12,0000
1440	0,44	4,0000	12,0000



Şekil 6. 11 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP10000)



Şekil 6. 12 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000)

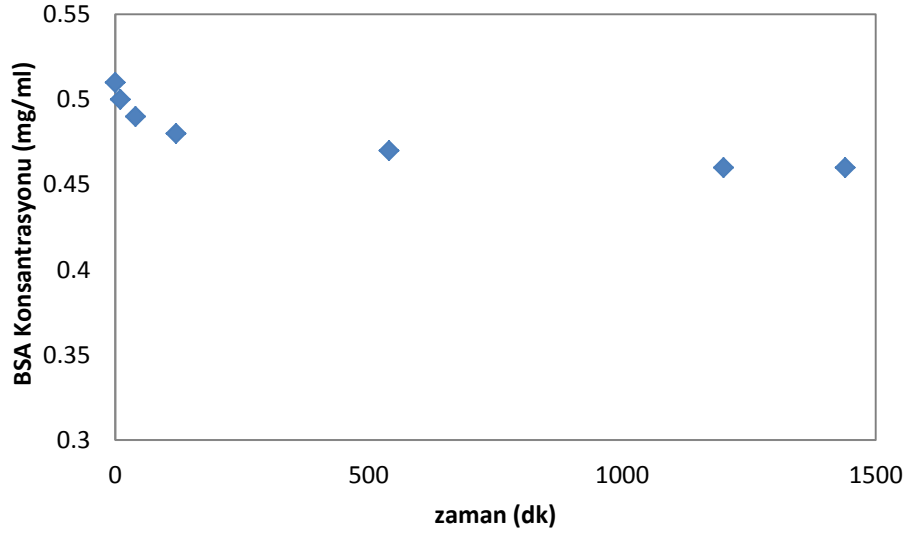


Şekil 6. 13 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000)

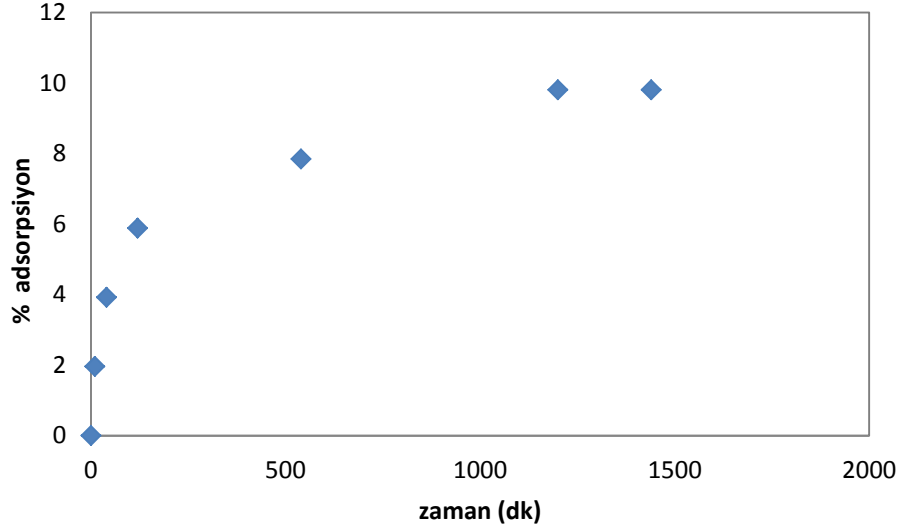
Adsorban olarak 800°C'de sinterli 10000 mg/L polimer katkılı HAP (HP10000(2)) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.6'da verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.14'de, BSA'nın %adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.15'te ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.16'te gösterilmiştir.

Çizelge 6. 6 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000(2))

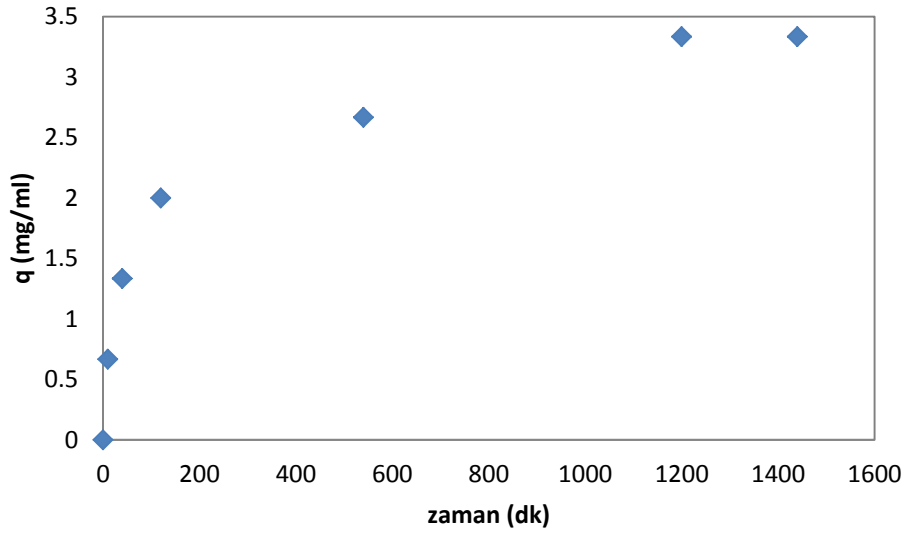
Zaman (dk)	BSA Konsantrasyonu (mg/ml)	q (mg/g adsorban)	Adsorpsiyon (%)
0	0,51	-	-
10	0,50	0,6667	1,9608
40	0,49	1,3333	3,9216
120	0,48	2,0000	5,8824
540	0,47	2,6667	7,8431
1200	0,46	3,3333	9,8039
1440	0,46	3,3333	9,8039



Şekil 6. 14 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP10000(2))



Şekil 6. 15 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000(2))



Şekil 6. 16 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000(2))

## 6.2 pH 5,7 Tampon Çözeltisi Kullanılarak Yapılan Adsorpsiyon Deneyi

### 6.2.1 BSA Proteini Kalibrasyon Grafiğinin Çizilmesi

BSA'nın kalibrasyon grafiği UV-Görünür Alan Spektrofotometre cihazı için oluşturulmuştur. BSA çözeltisi karakteristik pikini 280 nm'de vermektedir ve kalibrasyon grafiği bu dalga boyunda elde edilen değerler ile oluşturulmuştur. pH'ı 5,7 olan çözelti ile konsantrasyonu 0,1–1,2 mg/ml arasında değişen BSA çözeltileri

hazırlanmıştır. Referans olarak tampon çözelti okutularak her bir konsantrasyon için 280 nm’de absorban değerleri okunmuştur (Çizelge 6. 7). Çözelti konsantrasyonlarına karşılık gelen absorban değerleri ile de kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur.

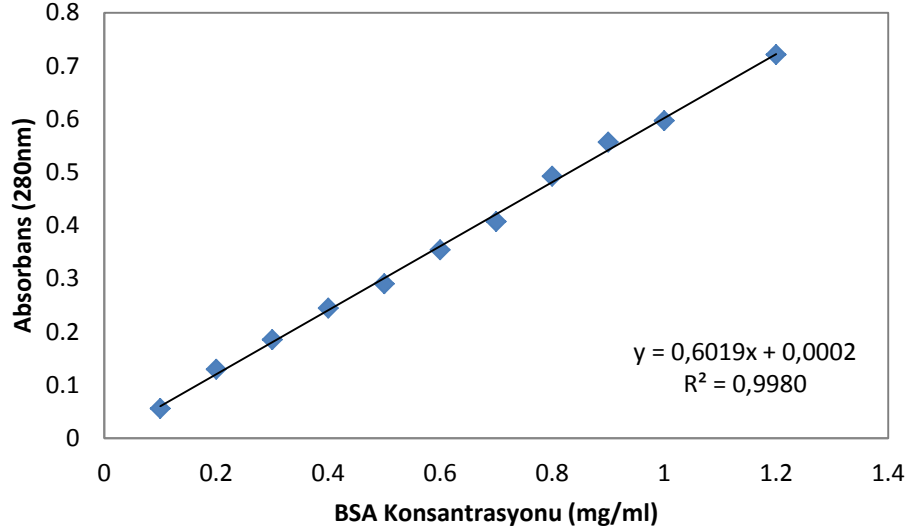
Çizelge 6. 7 BSA protein çözeltisi için konsantrasyon değerleri ve bunlara karşılık gelen absorban değerleri

<b>Konsantrasyon (mg/ml)</b>	<b>Absorbans Değerleri (280 nm)</b>
0,10	0,0560
0,20	0,1295
0,30	0,1853
0,40	0,2445
0,50	0,2904
0,60	0,3542
0,70	0,4073
0,80	0,4925
0,90	0,5568
1,00	0,5969
1,20	0,7212

Standart çözelti konsantrasyonlarına karşılık gelen absorban değerleri ile oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 6.17’de gösterilmiştir. Absorbans değerlerinin konsantrasyon ile ilişkisini gösteren eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$A_{280} = 0,0002 + 0,6019x \quad (R^2 = 0,9980) \quad (6.2)$$

Eşitlik 7.1’de  $A_{280}$ ; 280 nm’de ki absorban değerlerini,  $C_{BSA}$ ; BSA konsantrasyonunu göstermektedir.



Şekil 6. 17 BSA pH 5,7 kalibrasyon grafiği

### 6.2.2 HAP Üzerine BSA Protein Adsorpsiyonunun Etkisinin İncelenmesi

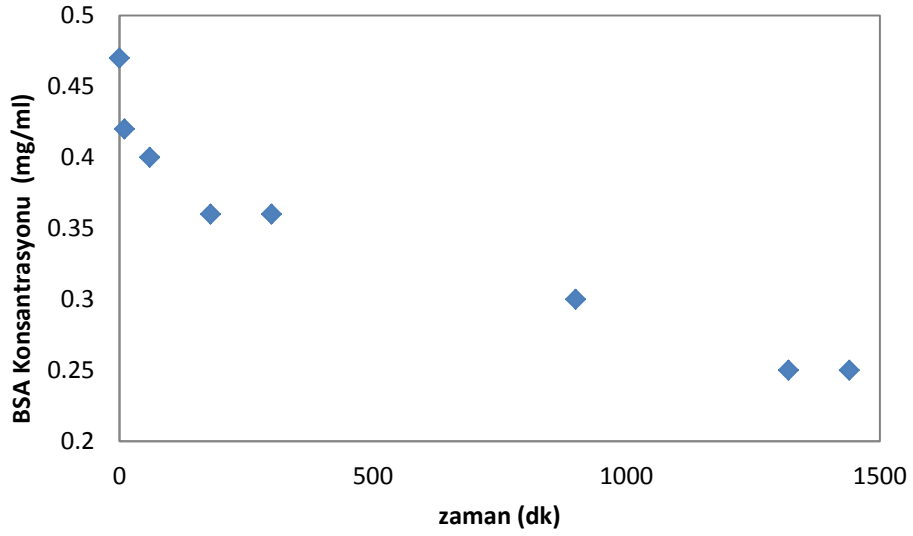
Farklı adsorbanların pH 5,7 tampon çözeltilerden BSA adsorpsiyonuna etkisinin incelendiği deneylerde, adsorban olarak katkısız, 5000, 10000 ve 15000 mg/L polimer varlığında üretilmiş HAP kullanılmıştır.

Adsorban olarak sintersiz ve katkısız HAP (H1) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.8’de verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.18’de, BSA’nın %adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.19’da ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.20’de gösterilmiştir.

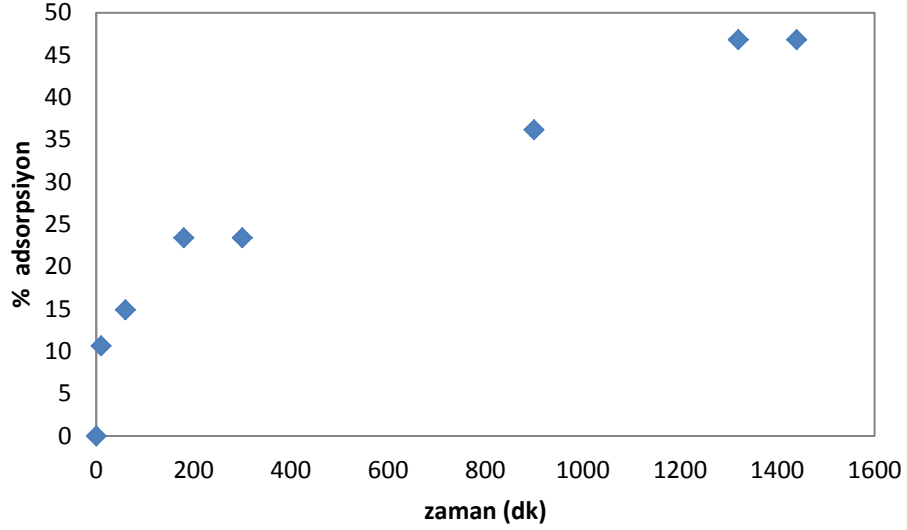


Çizelge 6. 8 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1)

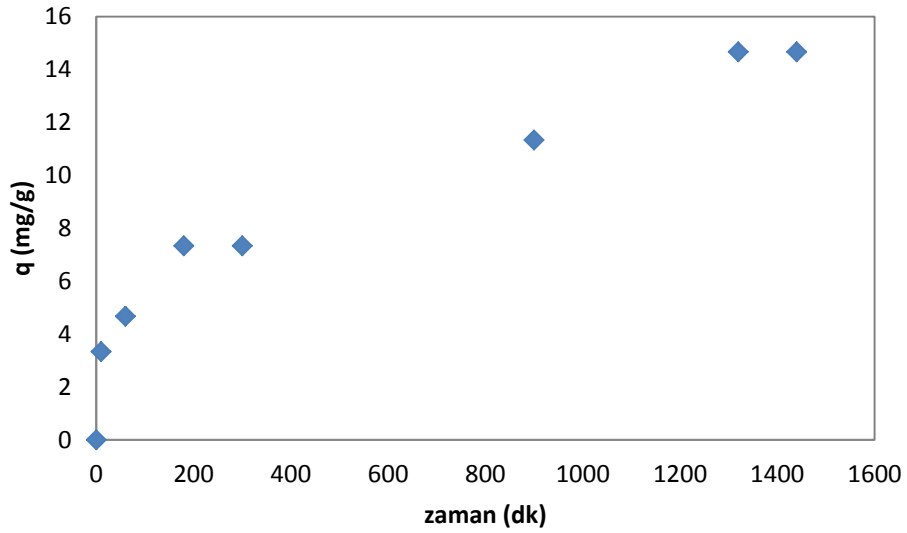
Zaman (dk)	BSA Konsantrasyonu (mg/ml)	q (mg/g adsorban)	Adsorpsiyon (%)
0	0,47	-	-
10	0,42	3,3333	10,6383
60	0,4	4,6667	14,8936
180	0,36	7,3333	23,4043
300	0,36	7,3333	23,4043
900	0,3	11,3333	36,1702
1320	0,25	14,6667	46,8085
1440	0,25	14,6667	46,8085



Şekil 6. 18 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: H1)



Şekil 6. 19 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1)

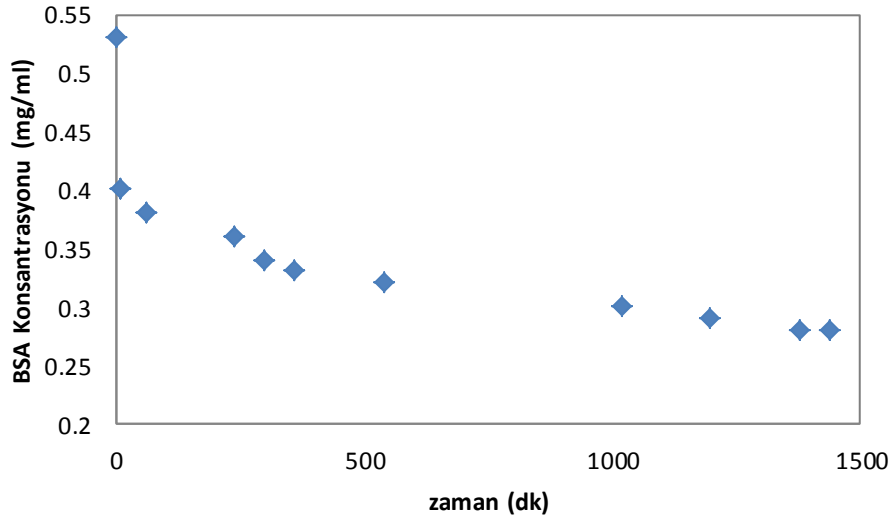


Şekil 6. 20 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1)

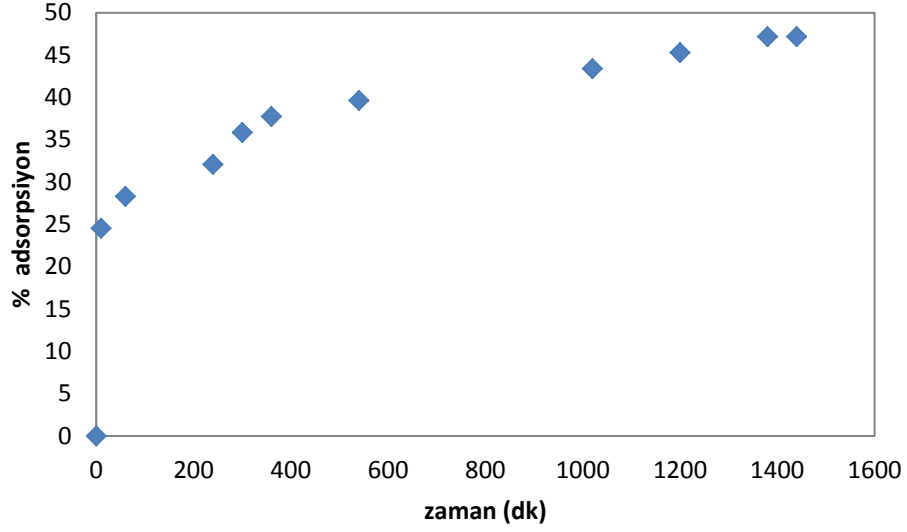
Adsorban olarak farklı başlangıç konsantrasyonlarında üretilen, sintersiz ve katkısız HAP (H2) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.9'da verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.21'de, BSA'nın %adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.22'de ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.23'de gösterilmiştir.

Çizelge 6. 9 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H2)

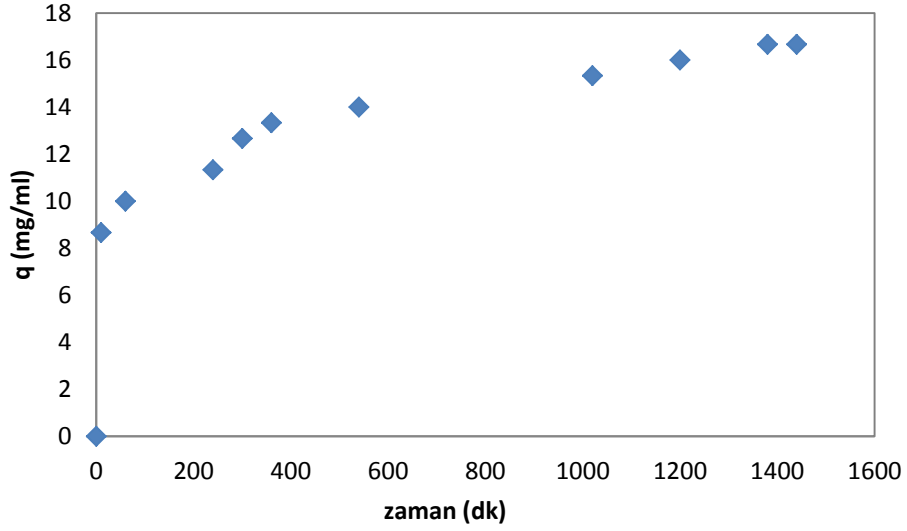
Zaman (dk)	BSA Konsantrasyonu (mg/ml)	q (mg/g adsorban)	Adsorpsiyon (%)
0	0,53	-	-
10	0,40	8,6667	24,5283
60	0,38	10,0000	28,3019
240	0,36	11,3333	32,0755
300	0,34	12,6667	35,8491
360	0,33	13,3333	37,7358
540	0,32	14,0000	39,6226
1020	0,30	15,3333	43,3962
1200	0,29	16,0000	45,2830
1380	0,28	16,6667	47,1698
1440	0,28	16,6667	47,1698



Şekil 6. 21 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: H2)



Şekil 6. 22 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: H2)

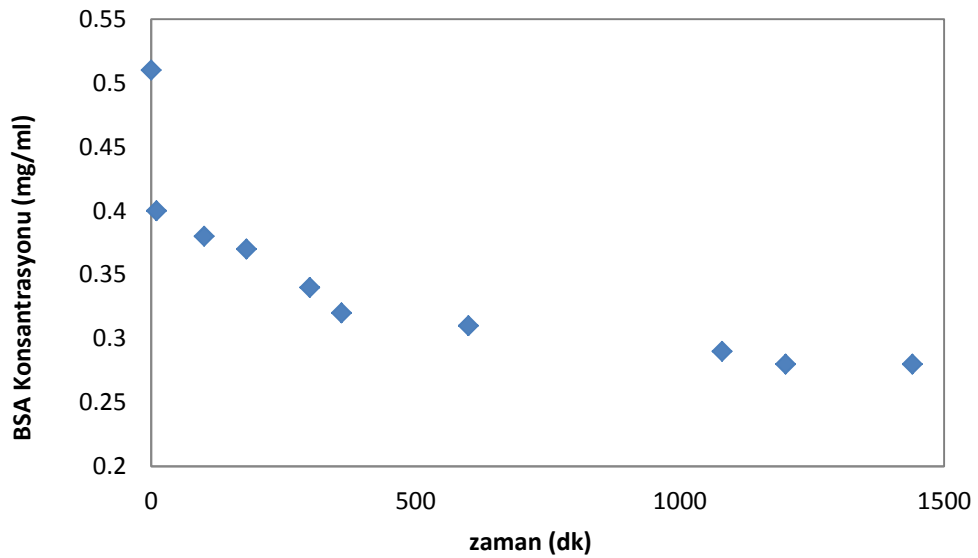


Şekil 6. 23 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H2)

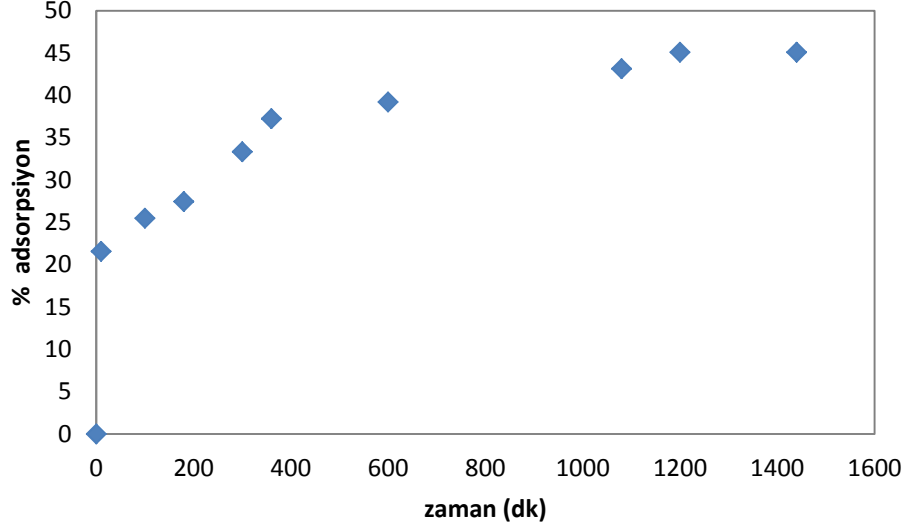
Adsorban olarak 650°C'de sinterli katkısız HAP (H1S) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.10'da verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.24'de, BSA'nın %adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.25'te ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.26'da gösterilmiştir.

Çizelge 6. 10 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1S)

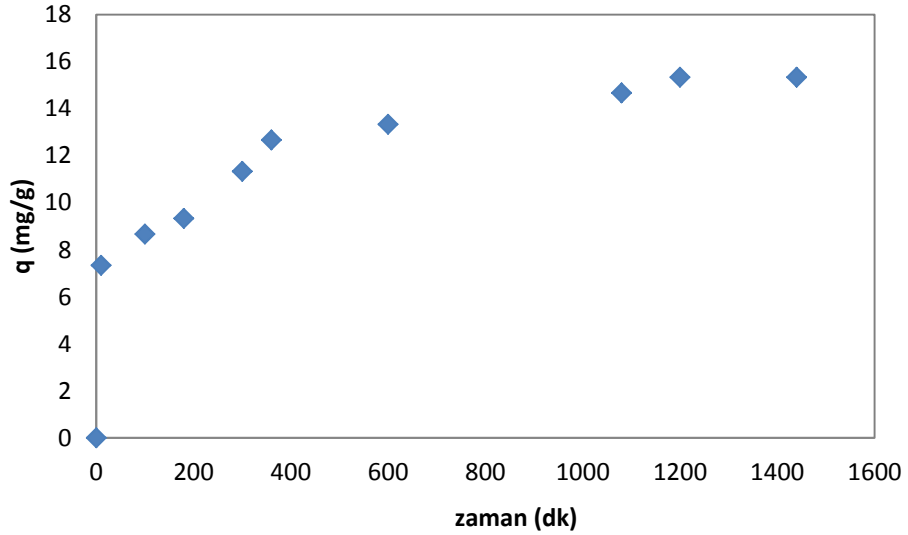
Zaman (dk)	BSA Konsantrasyonu (mg/ml)	q (mg/g adsorban)	Adsorpsiyon (%)
0	0,51	-	-
10	0,40	7,3333	21,5686
100	0,38	8,6667	25,4902
180	0,37	9,3333	27,4510
300	0,34	11,3333	33,3333
360	0,32	12,6667	37,2549
540	0,31	13,3333	39,2157
1080	0,29	14,6667	43,1373
1200	0,28	15,3333	45,0980
1440	0,28	15,3333	45,0980



Şekil 6. 24 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: H1S)



Şekil 6. 25 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1S)

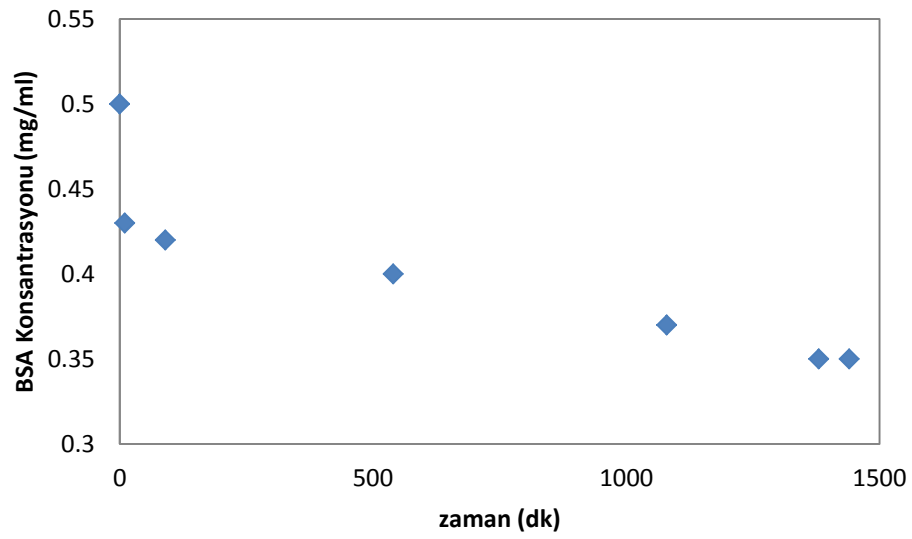


Şekil 6. 26 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: H1S)

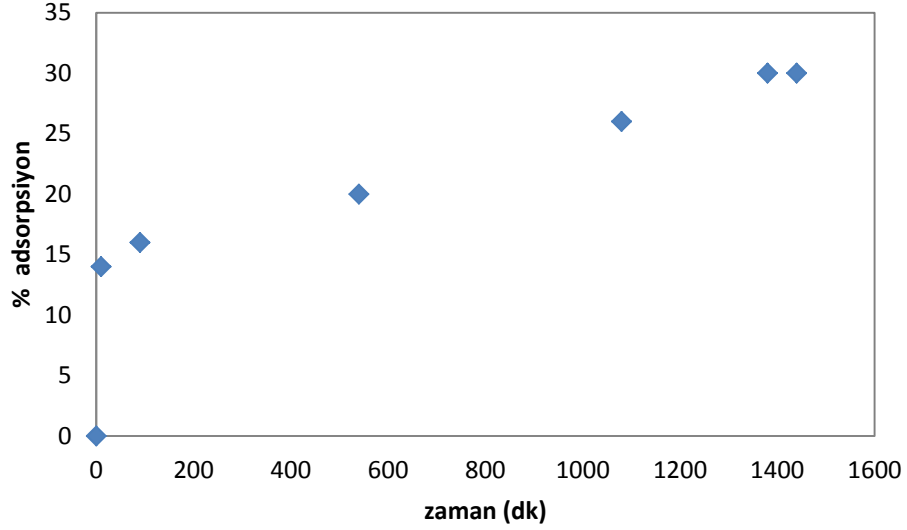
Adsorban olarak 650°C'de sinterli 5000 mg/L polimer katkıli hidroksiapatit (HP5000) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.11'de verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.27'te, BSA'nın %adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.28'te ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.29'da gösterilmiştir.

Çizelge 6. 11 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000)

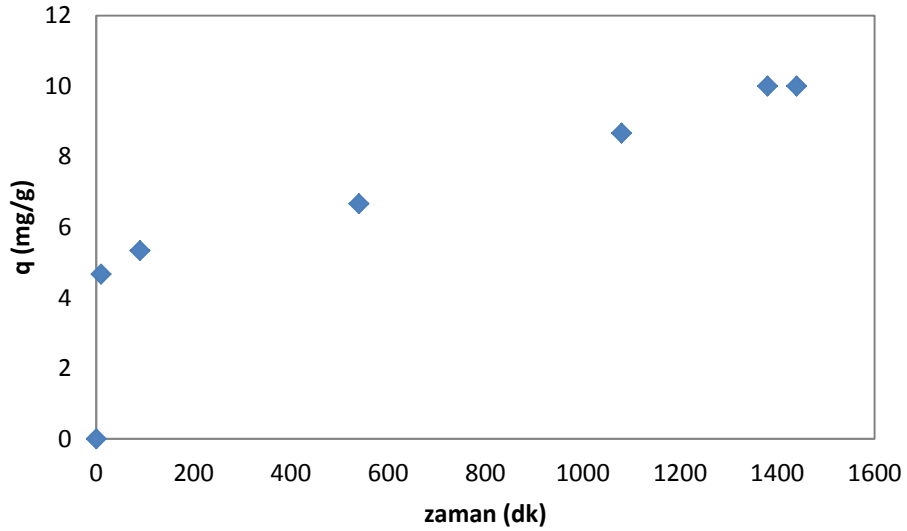
Zaman (dk)	BSA Konsantrasyonu (mg/ml)	q (mg/g adsorban)	Adsorpsiyon (%)
0	0,50	-	-
10	0,43	4,6667	14,0000
90	0,42	5,3333	16,0000
540	0,40	6,6667	20,0000
1080	0,37	8,6667	26,0000
1380	0,35	10,0000	30,0000
1440	0,35	10,0000	30,0000



Şekil 6. 27 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP5000)



Şekil 6. 28 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000)



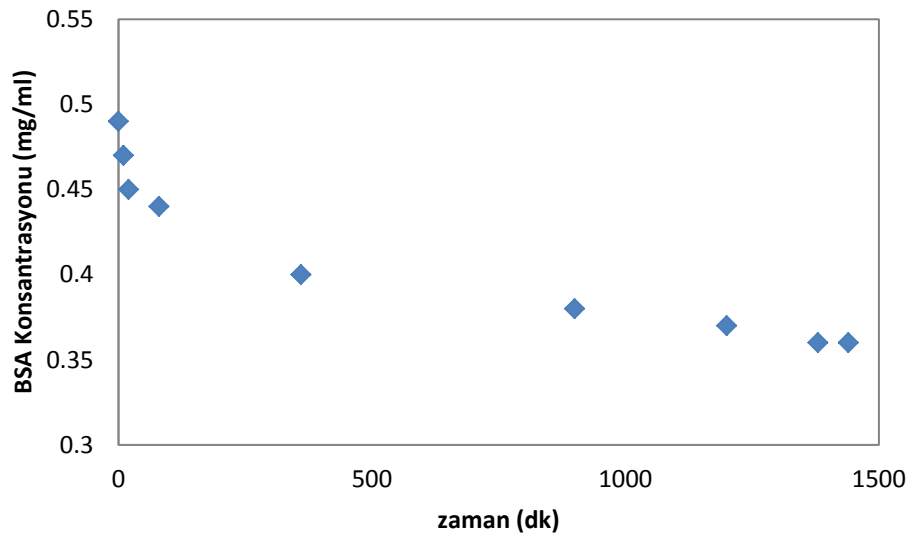
Şekil 6. 29 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP5000)

Adsorban olarak 650°C'de sinterli 10000 mg/L polimer katkıli HAP (HP10000) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.12'de verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.30'da, BSA'nın %adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.31'de ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.32'de gösterilmiştir.

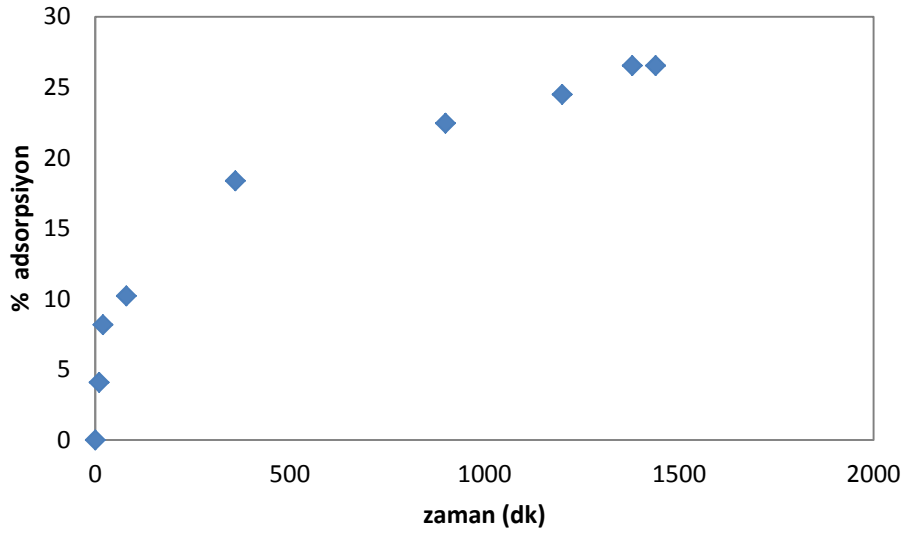


Çizelge 6. 12 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000)

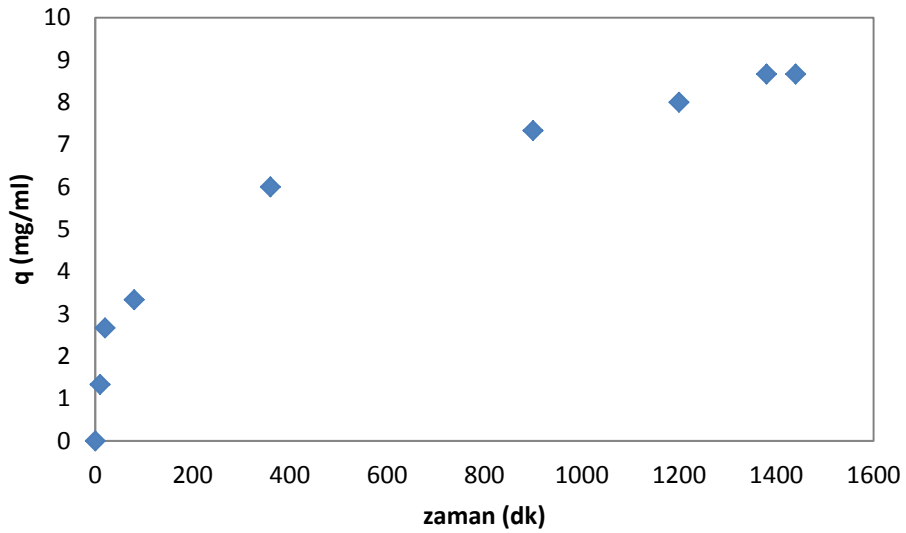
Zaman (dk)	BSA Konsantrasyonu (mg/ml)	q (mg/g adsorban)	Adsorpsiyon (%)
0	0,49	-	-
10	0,47	1,3333	4,0816
20	0,45	2,6667	8,1633
80	0,44	3,3333	10,2041
360	0,40	6,0000	18,3673
900	0,38	7,3333	22,4490
1200	0,37	8,0000	24,4898
1380	0,36	8,6667	26,5306
1440	0,36	8,6667	26,5306



Şekil 6. 30 BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi (adsorban: HP10000)



Şekil 6. 31 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000)

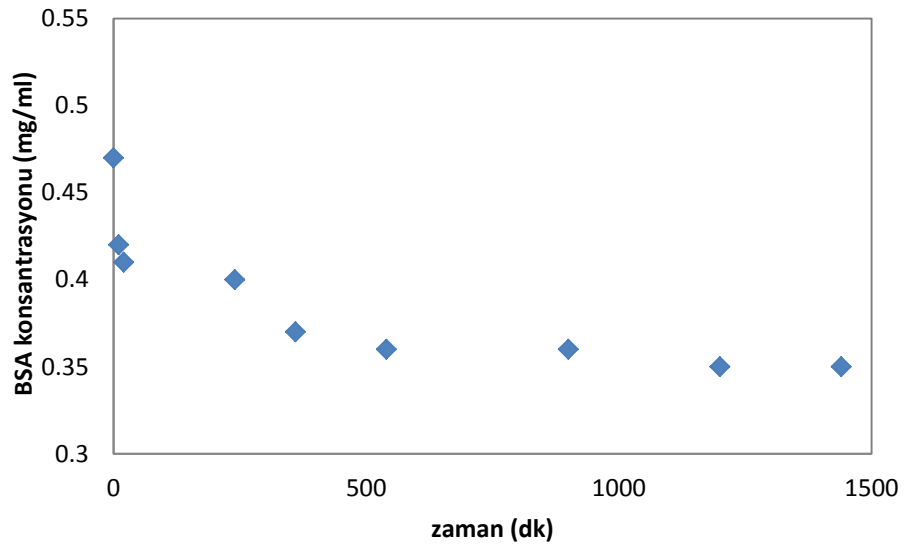


Şekil 6. 32 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP10000)

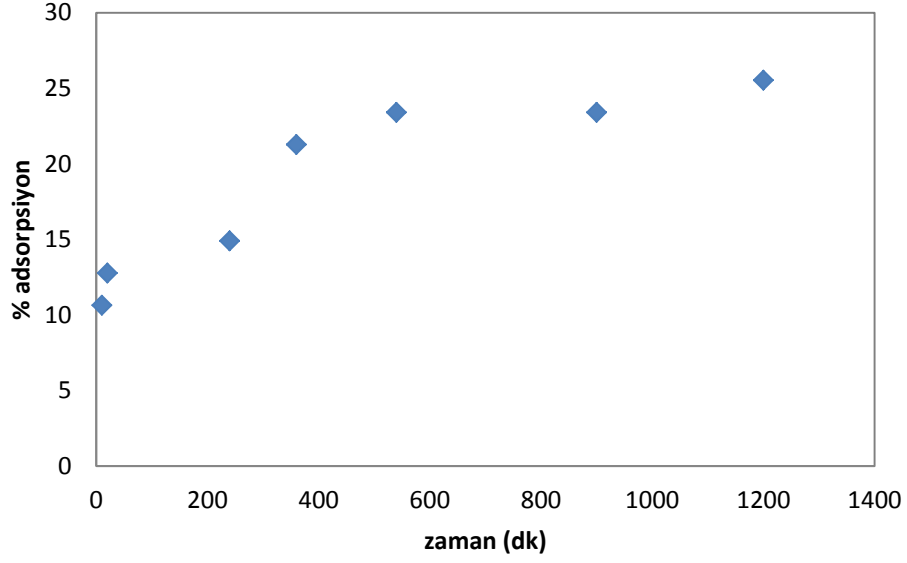
Adsorban olarak 650°C'de sinterli 15000 mg/L polimer katkılı HAP (HP15000) kullanılarak yapılan deneylerde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.13'te verilmiştir. Çözeltideki BSA konsantrasyonunun zamanla değişimi Şekil 6.33'te, BSA'nın % adsorpsiyonunun zamanla değişimi Şekil 6.34'de ve 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi ise Şekil 6.35'de gösterilmiştir.

Çizelge 6. 13 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP15000)

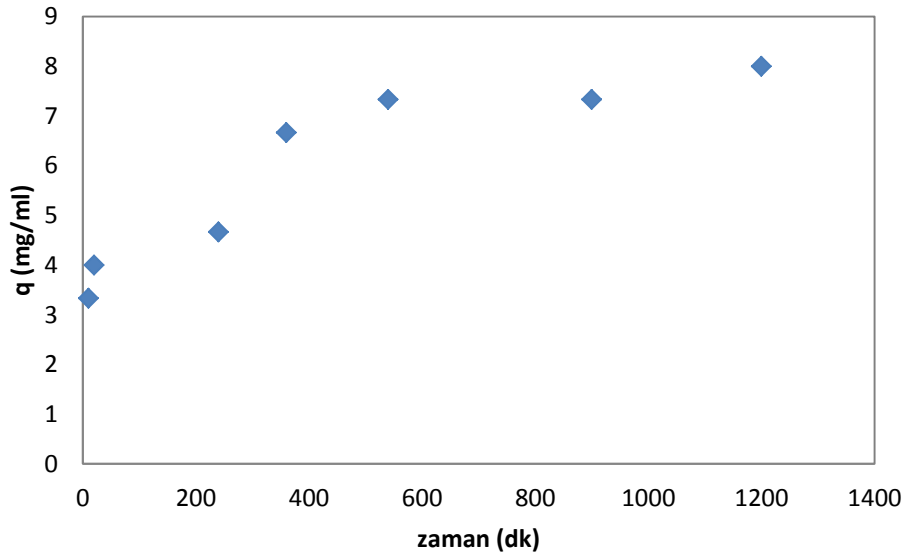
Zaman (dk)	BSA Konsantrasyonu (mg/ml)	q (mg/g adsorban)	Adsorpsiyon (%)
0	0,47	-	-
10	0,42	3,3333	10,6383
20	0,41	4,0000	12,7660
240	0,40	4,6667	14,8936
360	0,37	6,6667	21,2766
540	0,36	7,3333	23,4043
900	0,36	7,3333	23,4043
1200	0,35	8,0000	25,5319
1440	0,35	8,0000	25,5319



Şekil 6. 33 BSA konsantrasyonun zamanla değişimi (adsorban: HP15000)



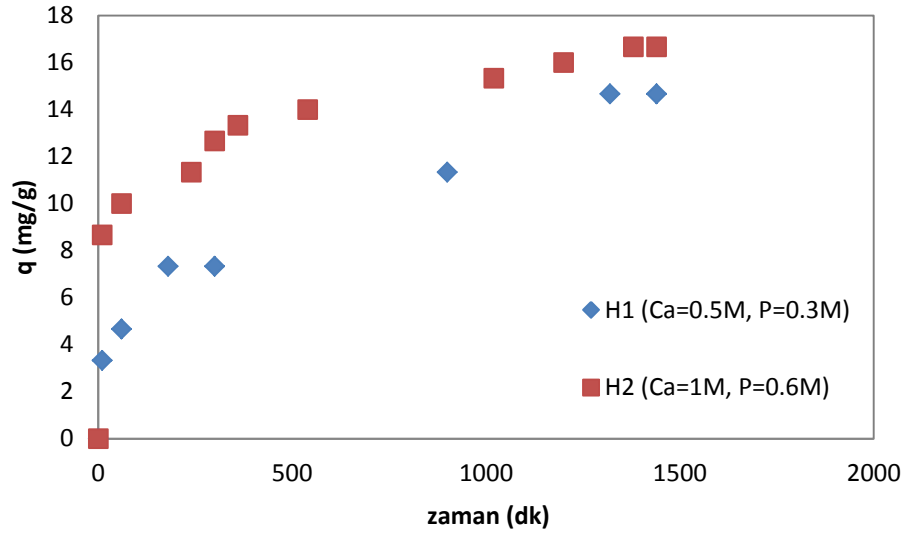
Şekil 6. 34 Adsorpsiyon miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP15000)



Şekil 6. 35 1 g adsorbanın adsorbladığı BSA miktarının zamanla değişimi (adsorban: HP15000)

### 6.3 Farklı Başlangıç Konsantrasyonlarında Elde Edilen Adsorbanların Adsorpsiyon Kapasitesinin Karşılaştırılması

Ca/P=1,67 olacak şekilde başlangıç konsantrasyonları değiştirilerek elde edilen adsorbanların BSA adsorpsiyonuna etkisi pH 5,7'de gerçekleştirilen deneyler için Şekil 6.36'da verilmiştir.

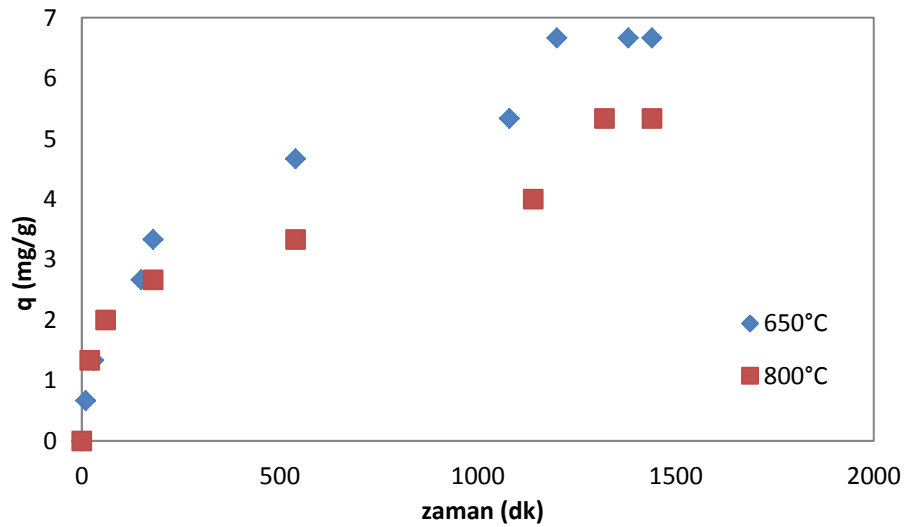


Şekil 6.36 Reaktan konsantrasyonunun BSA adsorpsiyonuna etkisi

Şekil 6.36'da görüldüğü gibi reaktan konsantrasyonu arttıkça HAP kristallerinin BSA adsorpsiyon kapasitesi artmıştır.

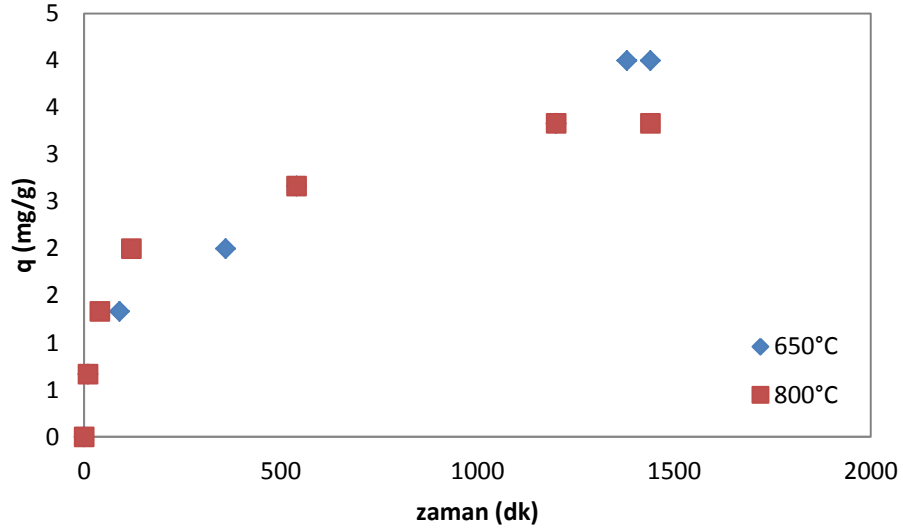
#### 6.4 Adsorbanın Sinterleme Sıcaklığının Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi

5000 mg/L polimer varlığında üretilmiş, 650°C ve 800°C'de sinterlenmiş HAP kristalleri ile pH 7,0'da gerçekleştirilen adsorpsiyon deneylerinde sinterleme sıcaklığının BSA adsorpsiyonuna etkisi Şekil 6.37'de gösterilmiştir.



Şekil 6.37 Sinterleme sıcaklığının BSA adsorpsiyonuna etkisi (adsorban:HP5000)

10000 mg/L polimer varlığında üretilmiş, 650°C ve 800°C'de sinterlenmiş HAP kristalleri ile pH 7,0'da gerçekleştirilen adsorpsiyon deneylerinde sinterleme sıcaklığının BSA adsorpsiyonuna etkisi Şekil 6.38'de gösterilmiştir.

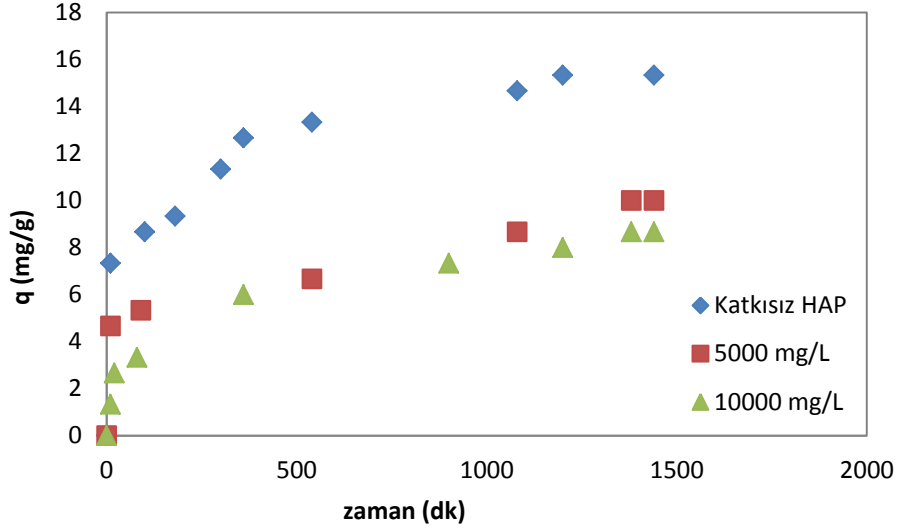


Şekil 6. 38 Sinterleme sıcaklığının BSA adsorpsiyonuna etkisi (adsorban:HP10000)

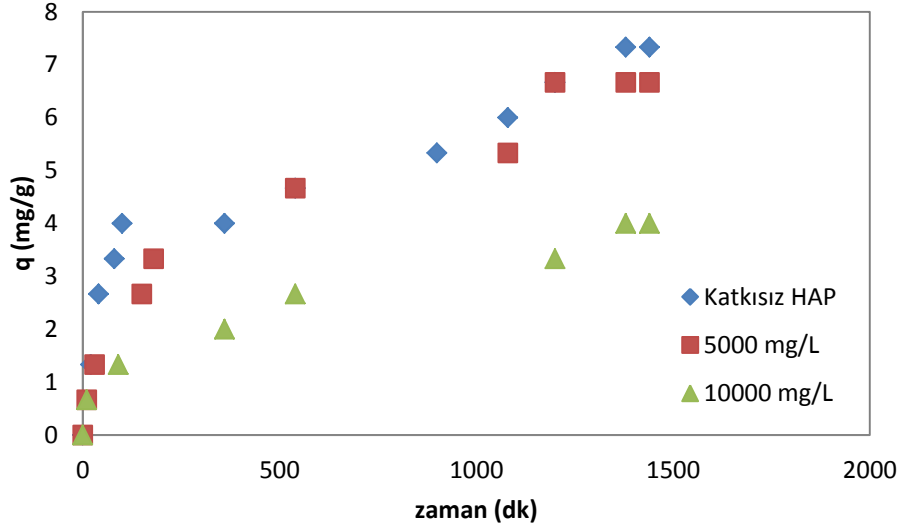
Sinterleme işlemi adsorbanın spesifik yüzey alanını azalttığı için Şekil 6.37 ve Şekil 6.38'de görüldüğü gibi adsorbanın adsorpsiyon kapasitesini de düşürmüştür.

### 6.5 Adsorbanın Katkı Maddesinin Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi

Polimer varlığında üretilmiş ve 650°C'de sinterlenmiş adsorbanlar ile gerçekleştirilen adsorpsiyon deneylerinde endüstriyel polimer konsantrasyonunun BSA adsorpsiyonuna etkisi pH 5,7'de gerçekleştirilen deneyler için Şekil 6.39'da; pH 7,0'da gerçekleştirilen deneyler için ise Şekil 6.40'da gösterilmiştir.



Şekil 6. 39 Katkı maddesi konsantrasyonunun pH 5,7'de BSA adsorpsiyonuna etkisi

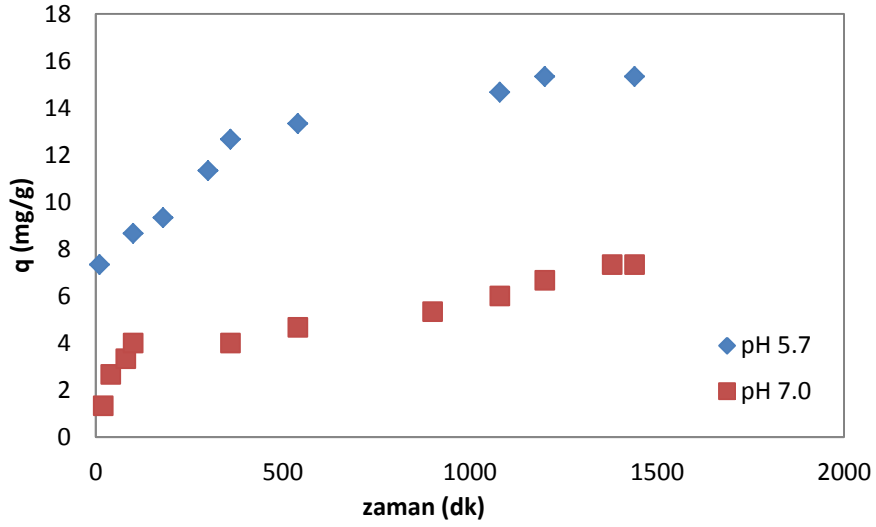


Şekil 6. 40 Katkı maddesi konsantrasyonunun pH 7,0'da BSA adsorpsiyonuna etkisi

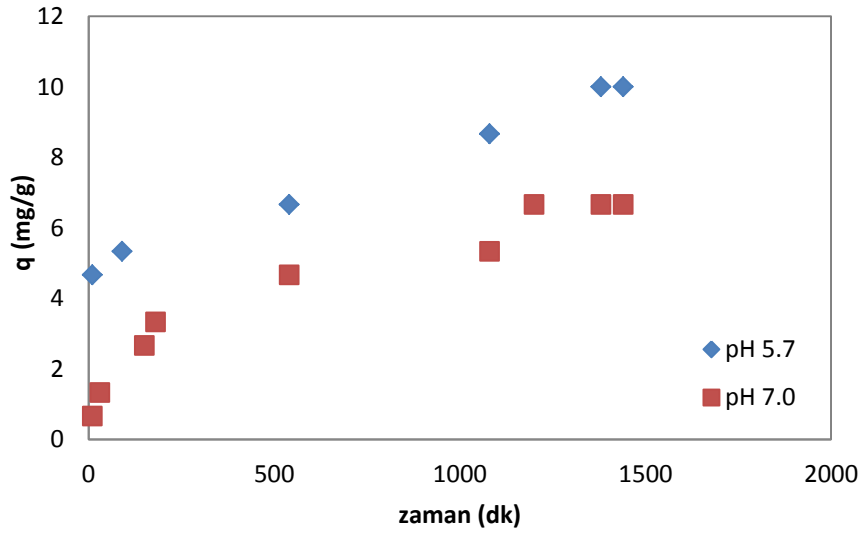
Polimerik katkı maddesi varlığında üretilen adsorbanların sinterleme işlemi sonrasında polimerin uzaklaştırılması ile spesifik yüzey alanları da azalmıştır. Polimer konsantrasyonu arttıkça bu azalma daha fazla olmuştur. Bu nedenle adsorbanların üretimi esnasında katkı maddesi olarak kullanılan polimer konsantrasyonu arttırıldıkça adsorpsiyon kapasitesi de düşmüştür.

## 6.6 pH'in Adsorpsiyona Etkisi

pH 5,7 ve pH 7,0'da farklı şartlarda üretilen adsorbanlarla gerçekleştirilen adsorpsiyon deneylerinde 1 gram adsorbanın adsorpladığı BSA miktarları Şekil 6.41, Şekil 6.42, Şekil 6.43, Şekil 6.44, Şekil 6.45 ve 6.46'da gösterilmiştir.

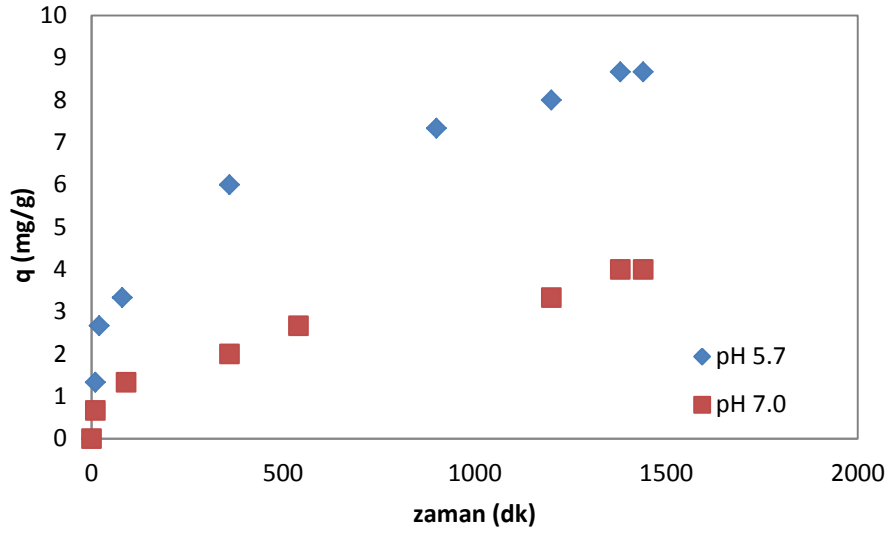


Şekil 6. 41 Çözelti pH'nın BSA giderimine etkisi (adsorban:H1S)



Şekil 6. 42 Çözelti pH'nın BSA giderimine etkisi (adsorban:HP5000)





Şekil 6. 43 Çözelti pH'nın BSA giderimine etkisi (adsorban:HP10000)

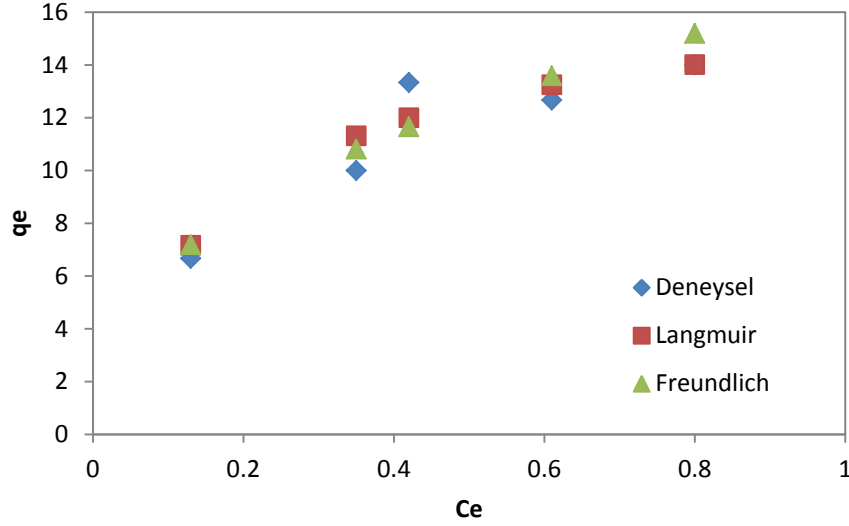
Şekil 6.41, Şekil 6.42 ve Şekil 6.43'te görüldüğü gibi çözelti pH'ının 7,0'dan 5,7'ye düşürülmesi ile adsorbanların BSA adsorpsiyon kapasiteleri artmıştır.

### 6.7 Adsorpsiyon İzotermelerinin İncelenmesi

Langmuir ve Freundlich adsorpsiyon izoterm model denklemleri kullanılarak HP5000 adsorbanının 37°C'de pH 5,7'de farklı BSA konsantrasyonlarında adsorpsiyon izotermi incelenmiştir. pH 5,7'de gerçekleştirilen adsorpsiyon deneylerinde elde edilen sonuçlar Çizelge 6.14'de ve Şekil 6.44'te verilmiştir.

Çizelge 6. 14 Denge değerleri

$C_e$ (mg/ml)	$q_e$ (deneysel) (mg/g adsorban)	$q_e$ (Langmuir hesaplanan) (mg/g adsorban)	$q_e$ (Freundlich hesaplanan) (mg/g adsorban)
0,13	6,6667	7,1614	7,1845
0,35	10,0000	11,3141	10,8085
0,42	13,3333	11,9994	11,6525
0,61	12,6667	13,2492	13,5911
0,8	14,0000	14,0156	15,1990



Şekil 6. 44 Adsorpsiyon İzoterminin

Langmuir ve Freundlich izoterm model denklemlerinden hesaplanan değerler Çizelge 6.15'te verilmiştir.

Çizelge 6. 15 Langmuir ve Freundlich sabitleri

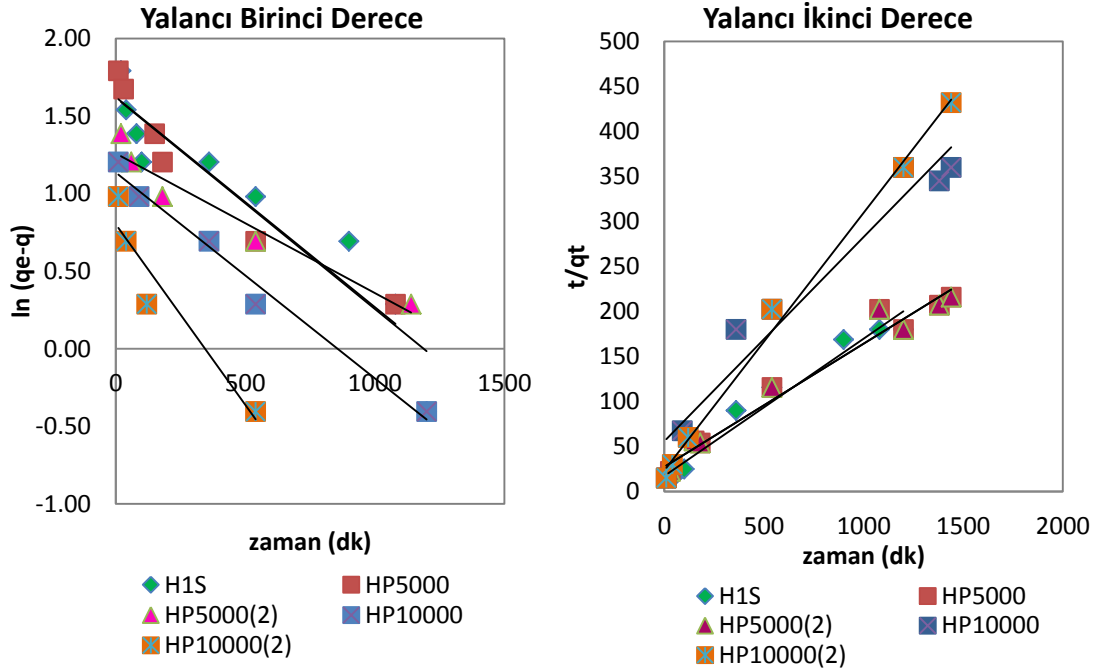
Langmuir İzoterminin		Freundlich izoterminin	
$K_L$ (ml/mg)	4,6312	$K_F$ (ml/mg)	16,1917
$Q_{max}$ (mg/g)	17,6991	1/n	0,4181
$R_L$	0,1761	n	2,3918
$R^2$	0,9640	$R^2$	0,9049

HAP üzerine BSA adsorpsiyonunda Langmuir izoterminin Freundlich izoterminin göre daha uygun olduğu saptanmıştır. Langmuir izoterminde bulunan  $R_L$  değerinin  $0 < R_L < 1$  arasında olması BSA'nın HP5000 adsorbantı üzerine adsorpsiyonuna elverişli olduğunu göstermektedir.

## 6.8 Adsorpsiyon Kinetiklerinin İncelenmesi

Farklı şartlarda üretilen adsorbanlarla 37°C'de pH 5,7 ve pH 7,0'da gerçekleştirilen adsorpsiyon deneylerinin kinetik incelenmesi yalancı birinci derece ve yalancı ikinci derece kinetik model denklemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

pH 7,0'da gerçekleştirilen adsorpsiyon deney sonuçlarının kinetik model denklemlerine göre incelenmesi Şekil 6.45'te gösterilmiştir. Bu denklemlere göre hesaplanan kinetik parametreler ise Çizelge 6.16'da gösterilmiştir.



Şekil 6. 45 pH 7,0 için yalancı birinci derece ve yalancı ikinci derece reaksiyon kinetik modelleri

Çizelge 6. 16 pH 7,0 için yalancı birinci ve ikinci derece adsorpsiyon kinetik parametreleri

**Yalancı Birinci Derece**

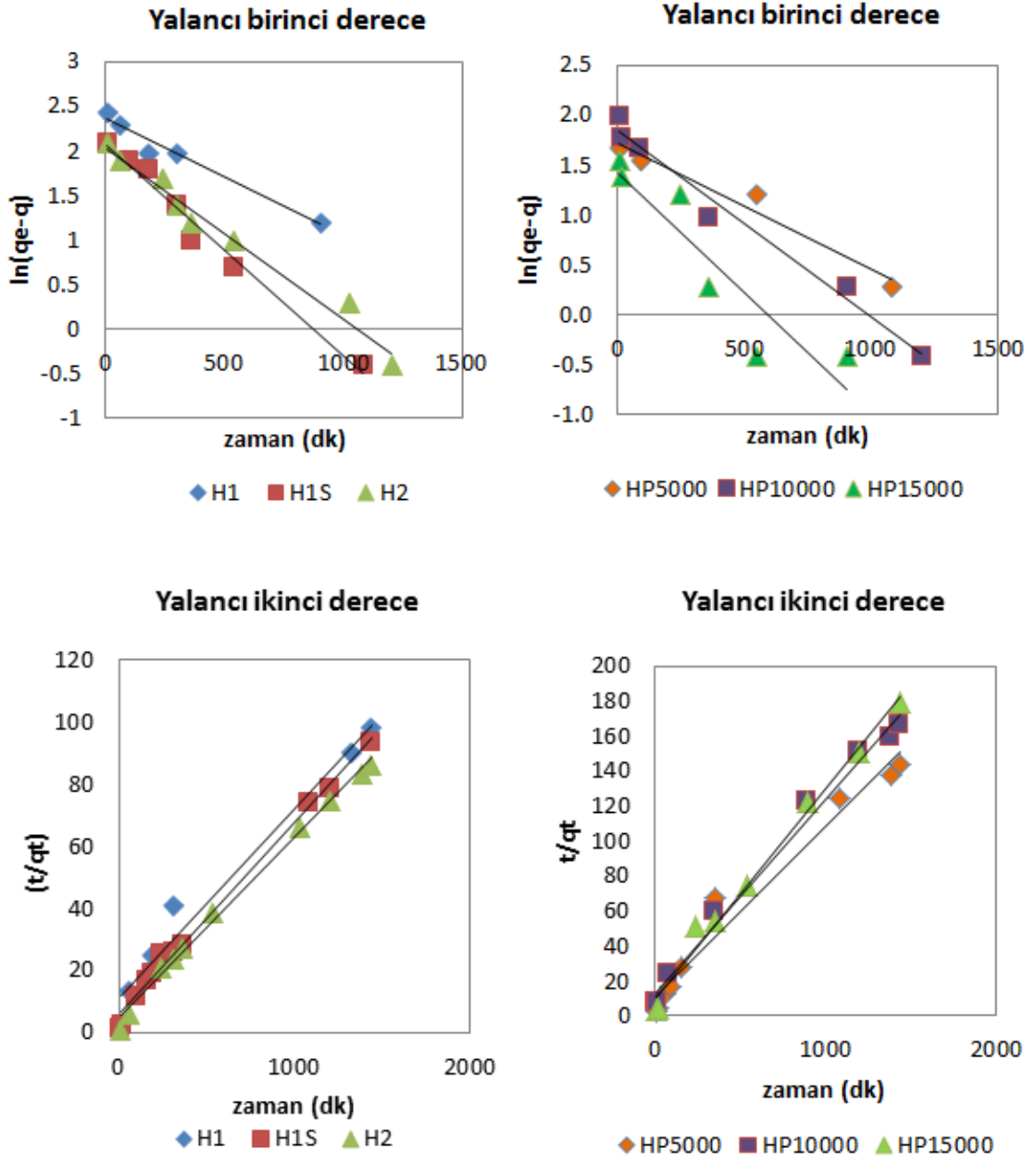
Adsorban	$q_e$ , deneysel (mg/g)	$q_e$ , hesaplanan (mg/g)	$k_1 \times 10^3$ (1/dak.)	$R^2$
H1S	7.3333	5.0460	1.4	0.8896
HP5000	6.6667	5.0627	1.4	0.9238
HP5000(2)	5.3333	3.5240	0.9	0.9416
HP10000	4.0000	3.1137	1.3	0.9820
HP10000(2)	3.3333	2.2309	2.3	0.9089

**Yalancı İkinci Derece**

Adsorban	$q_e$ , deneysel (mg/g)	$q_e$ , hesaplanan (mg/g)	$k_2$ (g/mg dak.)	$v_0$ (mg/g dak.)	$R^2$
H1S	7.3333	6.5531	$14.0 \times 10^{-4}$	0.0601	0.9679
HP5000	6.6667	7.3153	$6.8 \times 10^{-4}$	0.0364	0.9717
HP5000(2)	5.3333	7.3153	$6.8 \times 10^{-4}$	0.0364	0.9717
HP10000	4.0000	4.4092	$9.2 \times 10^{-4}$	0.0179	0.9474
HP10000(2)	3.3333	3.4953	$3.5 \times 10^{-3}$	0.0428	0.9949

Çizelge 6.16'de görüldüğü gibi pH 7,0'da gerçekleştirilen deneyler için yalancı ikinci derece kinetik model denklemi daha uygundur. Fakat 650°C'de sinterlenen HP10000 adsorbanı yalancı birinci derece kinetik model denklemi ile daha yüksek korelasyon katsayısı ( $R^2=0,9820$ ) elde edilmiştir.

pH 5,7'de gerçekleştirilen adsorpsiyon deney sonuçlarının kinetik model denklemlerine göre incelenmesi Şekil 6.46'da gösterilmiştir. Bu denklemlere göre hesaplanan kinetik parametreler ise Çizelge 6.17'de gösterilmiştir.



Şekil 6. 46 pH 5,7 için yalancı birinci derece ve yalancı ikinci derece reaksiyon kinetik modelleri

Çizelge 6. 17 pH 5,7 için yalancı birinci ve ikinci derece adsorpsiyon kinetik parametreleri

<b>Yalancı Birinci Derece</b>					
<b>Adsorban</b>	<b>q<sub>e</sub>, deneysel (mg/g)</b>	<b>q<sub>e</sub>, hesaplanan (mg/g)</b>	<b>k<sub>1</sub>x10<sup>3</sup> (1/dak.)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	
H1	14,6667	10,6228	1,3	0,9719	
H2	16,6667	7,6385	1,9	0,9792	
H1S	15,3333	8,0037	2,4	0,9779	
HP5000	10,0000	5,5483	1,2	0,9679	
HP10000	8,6667	6,3636	1,9	0,9824	
HP15000	8,0000	4,2068	2,4	0,8460	
<b>Yalancı İkinci Derece</b>					
<b>Adsorban</b>	<b>q<sub>e</sub>, deneysel (mg/g)</b>	<b>q<sub>e</sub>, hesaplanan (mg/g)</b>	<b>k<sub>2</sub> (g/mg dak.)</b>	<b>v<sub>0</sub> (mg/g dak.)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
H1	14,6667	16,3934	3,3x10 <sup>-4</sup>	0,0887	0,9727
H2	16,6667	17,2117	7,0x10 <sup>-4</sup>	0,2074	0,9942
H1S	15,3333	16,1812	6,5x10 <sup>-4</sup>	0,1702	0,9913
HP5000	10,0000	10,2775	9,3x10 <sup>-4</sup>	0,0982	0,9712
HP10000	8,6667	9,0009	10 x10 <sup>-4</sup>	0,0810	0,9895
HP15000	8,0000	8,2988	16 x10 <sup>-4</sup>	0,1109	0,9891

Çizelge 6.17'da görüldüğü gibi pH 5,7'de gerçekleştirilen adsorpsiyon deneyleri genel olarak iki model denklemine de uygunluk göstermiştir. Fakat yalancı ikinci derece model denklemi ile çok daha yüksek korelasyon katsayıları (R<sup>2</sup>) elde edilmiştir.

## BÖLÜM 7

---

### SONUÇLAR

Son yıllarda yapılan çalışmalar doğrultusunda, hidroksiapatit (HAP) mükemmel biyoyumluluğu, toksik olmayışı ve proteinler, enzimler gibi biyopolimerlere yüksek benzerlik göstermesi nedeniyle önem kazanmıştır.

Bu çalışmada, reaktan konsantrasyonlarını değiştirerek ve katkı maddesi ilave ederek farklı şartlarda üretilen hidroksiapatitler üzerine BSA proteininin tutuklanması ve BSA adsorpsiyonuna ortam pH'ının, hidroksiapatitin polimer katkısının ve sinterleme sıcaklığının etkilerini incelenmiştir.

Deneyler pH 5,7 ve 7,0'da, 37°C sabit sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda gerçekleşmiş olup, BSA konsantrasyonu 0,5 mg/ml olan çözeltiler kullanılmıştır.

Ca/P=1,67 olacak şekilde başlangıç konsantrasyonları değiştirilerek elde edilen adsorbanlarla yapılan deneylerde reaktan konsantrasyonu arttıkça HAP kristallerinin BSA adsorpsiyon kapasitesinin arttığı gözlemlenmiştir.

Sinterleme işlemi adsorbanın spesifik yüzey alanını azalttığı için adsorbanın adsorpsiyon kapasitesini de düşürdüğü görülmüştür.

Polimerik katkı maddesi varlığında üretilen adsorbanların sinterleme işlemi sonrasında polimerin uzaklaştırılması ile spesifik yüzey alanlarının azaldığı ve polimer konsantrasyonu arttıkça bu azalmanın daha fazla olduğu görülmüştür. Bu nedenle adsorbanların üretimi esnasında katkı maddesi olarak kullanılan polimer konsantrasyonu arttırıldıkça adsorpsiyon kapasitesi de düşmüştür.

Elde edilen sonuçlar adsorpsiyon kinetik modelleri (yalancı birinci derece ve yalancı ikinci derece) ve adsorpsiyon izotermleriyle açıklanmıştır.

Konsantrasyona bağı olarak yapılan çalışma sonuçlarının Langmuir ve Freundlich adsorpsiyon izoterm modellerine uygunluğu incelenmiş ve sonuçların Langmuir izoterm modeline daha uygun olduğu, kinetik çalışma sonuçlarında ise BSA adsorpsiyon kinetiğinin genelde yalancı ikinci derece kinetiğine daha uygun olduğu görülmüştür.



## KAYNAKLAR

- 
- [1] Mueller, B., Zacharias, M., Rezwan, K., (2010). "Bovine Serum Albumin and Lysozyme Adsorption on Calcium Phosphate Particles", *Advanced Engineering Materials*, 12: B53-B61.
  - [2] Chen, X., Wang, Q., Shen, J., Pan, H., Wu, T., (2007). "Adsorption of Leucine-Rich Amelogenin Protein on Hydroxyapatite (001) Surface Through – COO-Claws", *J. Phys. Chem. C*, 111:1284–1290.
  - [3] Kandori, K., Mukai, M., Fujiwara, A., Yasukawa, A., Ishikawa, T., "Adsorption of Bovine Serum Albumin and Lysozyme on Hydrophobic Calcium Hydroxyapatites", *Journal of Colloid and Interface Science*, 212: 600–603.
  - [4] Kandori, K., Fudo, A., Ishikawa, T., (2000). "Adsorption of Myoglobin onto Various Synthetic Hydroxyapatite Particles", 2:2015–2020.
  - [5] Kandori, K., Fudo, A., Ishikawa, T., (2001). "Study on The Particle Texture Dependence of Protein Adsorption by Using Synthetic Micrometer-sized Calcium Hydroxyapatite Particles", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 24:145–153.
  - [6] Liu, Z., Zhan, J., Ding, F., Yuan, N., (2002). "Impacts of The Surface Charge Property on Protein Adsorption on Hydroxyapatite", *Chemical Engineering Journal*, 87:181–186.
  - [7] Kawasaki, K., Kambara, M., Matsumura, H., Norde, W., (2003). "A Comparison of the Adsorption of Saliva Proteins and Some Typical Proteins onto The Surface of Hydroxyapatite, 32: 321 – 334.
  - [8] Peşmen, A. (1994). Polimerik Ara Yüzeylelerdeki Protein Adsorpsiyon Kinetiği ve Biyofilm Oluşumunun ATR-FTIR Tekniği ve Mikroskopik Yöntemlerle İncelenmesi, Yüksek Mühendislik Tezi, HÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, 58 s.
  - [9] Memiş, E. (2002). Polihidroksietil Metakrilat (PHEMA) Boncuklara Ve Poliüretan Bazlı Membranlara Sığır Serum Albümin (BSA) Adsorpsiyonu, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara 48 s.
  - [10] Bioinformatics Organizations, [www.bioinformatics.org](http://www.bioinformatics.org), 06 Nisan 2012.
  - [11] Pamuk, F. (2000). *Biyokimya*, Gazi Kitabevi, Ankara.

- [12] Montgomery, R., Conway, T.W., Spector, A.A., ve Chappell, D. (2000). *Biyokimya, Proteinler*, 6. basım, Palme Yayıncılık, Ankara.
- [13] Lundblad, R. L., (2009). *Application of Solution Protein Chemistry to Biotechnology*.
- [14] Efimova, Y. M. (2006). *Proteins at Surfaces*, Degree of Doctor, Delft University of Technology, Boca Raton, CRC Press, Netherlands.
- [15] Langel, Ulo; Bartfai, Tamas; Cravatt, Benjamin F., (2009). *Introduction to Peptides And Proteins*, CRC Press, Boca Raton, USA.
- [16] Peters, T., (2006). *All about Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications*, Academic Press, San Diego.
- [17] Arslandağ, İ., (2006). *Hidroksiapatitin Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı*, Yıldız Teknik Üniversitesi Lisans Tezi, İstanbul.
- [18] Ekmen, M., (2009). *Hidroksiapatit Kristallerinin Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı*, Yıldız Teknik Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- [19] Murugan R., Ramakrishna S., (2005). *Development of Nanocomposites for Bone Grafting*, *Composite Science and Technology*, 65:2385-2406.
- [20] Yetiz, E., (2009). *Gözenekli Hidroksiapatitten İlaç Salımının İncelenmesi*, Yıldız Teknik Üniversitesi Lisans Tezi, İstanbul.
- [21] Doğan Ö., (2005). *Nano Boyutlu Hidroksiapatit Kristalizasyonunun Polielektrolitlerle Kontrolü*, Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- [22] Öner M., Doğan Ö., (2005). "Inhibitory Effect Of Polyelectrolytes On Crystallization Kinetics Of Hydroxyapatite", *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, Volume 50, Issues 1–3, 2005, Pages 39–51.
- [23] Simon, V., Lazăr, D., Turcu, L.V.F., Mocuta, H., Magyari, K., Prinz, M., Neumann, M. and Simon, S., (2009). "Atomic Environment In Sol-Gel Derived Nanocrystalline Hydroxyapatite", *Mat. Sci. Eng. B*, 165, 247-251.
- [24] Barroug, A. ve Glimcher, M.J., (2002). "Hydroxyapatite Crystals as a Local Delivery System for Cisplatin: Adsorption and Release of Cisplatin in Vitro", *Journal of Orthopaedic Research*, 20:274–280.
- [25] Weber W.J.Jr., (1972). *Physicochemical Process For Water Quality Control*, Wiley, New York.
- [26] Şencan, A., (2006). *Sulu Çözelti ve Deri Atıksuyundan Cr+6 İyonunun Aktif Çamur Biyokütlesi ile Biyosorpsiyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- [27] Fırat, B., (2007). *Atık Sulardan Kurşun (II) ve Bakır(II) İyonlarının Yumurta Kabuğu ile Uzaklaştırılması ve Optimum Koşulların Belirlenmesi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gazi Üniversitesi.
- [28] Bozgeyik, K., (2006). *Titanyum Dioksit Üzerine Bovin Serum Albümin Adsorpsiyonu*, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.

- [29] Tok, S., (2000). Doğal Zeolit (Klinoptilit) ile Bakır Adsorpsiyonu, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [30] Weng, C., Tsai, C., Chu S. ve Sharma, Y. C., (2006). "Adsorption Characteristics of Copper(II) onto Spent Activated Clay", Separation and Purification Technology, 54:187–19.
- [31] Gomez-Morales, J., Torrent-Burgues, J., Boix, T., Fraile, J. ve Rodriguez-Clemente, R., (2001). "Precipitation of Stoichiometric Hydroxyapatite by a Continuous Method", Cryst. Res. Technol., 36(1): 15 – 26.
- [32] Koutsopoulos, S., (2002 ). "Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Crystals: A Review Study on The Analytical Methods", Wiley Periodicals, Inc. 600 – 612.
- [33] Tomoda, K., Ariizumi H., Nakaji, T., Makino, K., (2010). "Hydroxyapatite Particles As Drug Carriers for Proteins", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 76:226–235.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Müge ÇAPAR  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 20.06.1986  
**Yabancı Dili** : İngilizce, İtalyanca, Almanca  
**E-posta** : caparmuge@gmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
<b>Y. Lisans</b>	Kimya Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	
<b>Lisans</b>	Kimya Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2009
<b>Lise</b>	Fen Bilimleri	İstiklal Makzume Anadolu Lisesi	2004