

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MODİFİYE EDİLMİŞ POLİ (ETİLEN TERAFTALAT) LİFLER İLE
PROTEİNLERİN ADSORPSİYON ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

SAMET TAŞTAN

ŞUBAT 2020

Biyomühendislik Anabilim Dalında Samet TAŞTAN tarafından hazırlanan MODİFİYE EDİLMİŞ POLİ (ETİLEN TERAFTALAT) LİFLER İLE PROTEİNLERİN ADSORPSİYON ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU
Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan (Danışman) : Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU _____
Üye : Doç Dr. Nuri ÜNLÜ _____
Üye : Doç Dr. Metin ARSLAN _____

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Recep ÇALIN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

MODİFİYE EDİLMİŞ POLİ (ETİLEN TERAFTALAT) LİFLER İLE PROTEİNLERİN ADSORPSİYON ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

TAŞTAN, Samet

Kırıkkale Üniversitesi

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU

Şubat 2020, 87 sayfa

Adsorpsiyon işlemi için birçok çalışmada model protein olarak kullanılan Bovin Serum Albumin (BSA) proteini seçilmiştir. İki bölüm halinde gerçekleştirilen çalışmanın birinci bölümünde öncelikle orijinal poli (etilen teraftalat) (PET) lifin adsorpsiyon kapasitesi incelenmiştir. Daha sonra bu liflere glisidil metakrilat (GMA) monomeri değişik aşılama oranlarında aşılanmıştır. Aşılama işlemi sulu ortamda benzoil peroksit (Bz₂O₂) başlatıcısı kullanılarak yapılmıştır. Polimerizasyon işleminden önce dikloreten (DCE) içerisinde 90 °C'de 2 saat süre ile şişirilmiştir. Daha sonra liflere uygulanan çeşitli modifikasyon uygulamalarıyla liflerin adsorpsiyon kapasitesi incelenmiş ve maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip PET lif belirlenmiştir. Modifikasyon işlemlerinde heksametilen diamin (HMDA), etilen diamin (EDA) ve Cu(II) metali kullanılmıştır. İşlemler sonucunda maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip lif olarak Cu-HMDA-GMA-g-PET lif seçilmiştir.

Tez çalışmasının ikinci kısmında ise pH, dengeye gelme süresi, sıcaklık ve protein başlangıç konsantrasyonlarının adsorpsiyona etkisi incelenmiştir. Deneyler sonunda optimum pH 5, optimum sıcaklık 45 °C bulunmuştur. Dengeye ulaşma süresi ise 9 saat olarak tespit edilmiştir. Yapılan desorpsiyon işleminde ise 50 ppm konsantrasyonunda adsorbe edilen proteinin tamamına yakınının desorbe olduğu görülmüştür. Yapılan modifikasyon işlemleri ve optimum deney koşullarında gerçekleştirilen deneyde, lifin protein adsorbans yeteneğinin 47 mg/g'a çıktığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler Poli (etilen teraftalat) lif, Protein adsorpsiyonu, Bovin Serum Albumin (BSA), Aşı kopolimerizasyonu

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ADSORPTION PROPERTIES OF PROTEINS WITH MODIFIED POLY (ETHYLENE TEREPHTHALATE)

TAŞTAN, Samet

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Bioengineering, Master Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU

February 2020, 87 pages

For the adsorption process, Bovine Serum Albumin (BSA) was used as a model protein in many studies. In the first part of the study, which was carried out in two parts, the adsorption capacity of the original poly (ethylene terephthalate) (PET) fiber was examined. The glycidyl methacrylate (GMA) monomer was then grafted into these fibers at different grafting rates. Grafting was done using benzoyl peroxide (Bz₂O₂) initiator in aqueous medium. Before the polymerization process, it was swollen in dichloroethane (DCE) at 90 °C for 2 hours. Later, the adsorption capacity of the fibers was examined with various modification applications applied to the fibers and PET fiber with the maximum adsorption capacity was determined. Hexamethylene diamine (HMDA), ethylene diamine (EDA) and Cu(II) metal were used in the modification processes. As a result of the processes, Cu-HMDA-GMA-g-PET fiber was chosen as the fiber with maximum adsorption capacity.

In the second part of the thesis study, the effects of the pH, equilibration time, temperature and protein initial concentrations on adsorption were investigated. At the end of the experiments, optimum pH was 5 and optimum temperature 45 °C. The time to reach balance was determined as 9 hours. In the desorption process, almost all of the protein adsorbed at 50 ppm concentration was observed to be desorbed. In the experiment carried out under the modification processes and the optimum experimental conditions, it was determined that the protein adsorbance ability of the fiber increased to 47 mg/g.

Key Words Poly (ethylene terephthalate) fibers, Protein adsorption, Bovine Serum Albumin (BSA), Graft copolymerization

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yşrştşlmesi sırasında desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Mustafa YİğİTOğLU'na, fikirleriyle bana yol gşsteren Doç. Dr. Metin ARSLAN'a, deney ۆlřmlerinde bilgi ve tecrşbeleriyle beni aydınlatan Doç. Dr. Murat İNAL ve Dr. ۆęr. Őyesi Nuran ERDURAN'a teőekkřr ederim.

Umutsuzluğa kapıldığım zamanlarda beni motive etmesini bilen ve o olmadan kendimi eksik hissettiğim dostum sevgili Kşbra GŐNAY'a, deneylerin yşrştşlmesinde ۆnřmde bşyşk bir engel teşkil eden konaklama sorunumda yardımcı olan Safa Furkan AğA'ya, bitmek bilmeyen enerjisiyle her zaman yanımda olan Oğuzhan KARABUDAK'a ve sıkıntılı zamanlarımda bana yeniden hayat veren değerli dostlarıım ۆmer Faruk ۆZDEMİR ve Muhammed Yasin BAYINDIR'a sonsuz teőekkřr ederim.

Hayattaki en bşyşk őansım olan kardeőim Furkan TAŞTAN'a, maddi manevi yanımda olan babam Tarık TAŞTAN'a, her tşrlş olumsuzlukta dahi tebessşmşyle dşnyamı aydınlatan annem Cennet TAŞTAN'a ayrıca çok teőekkřr ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Polimerler	1
1.2. Aşı kopolimerizasyonu.....	6
1.3. Lifler.....	7
1.3.1. Poliester Lifler	8
1.3.1.1. PET Poliester Lifleri	9
1.3.1.1.1. PET Poliester Liflerinin Fiziksel Özellikleri	11
1.3.1.1.2. PET Poliester Liflerinin Kimyasal Özellikleri	12
1.4. Proteinler	13
1.4.1. Proteinlerin Genel Özellikleri.....	14
1.4.2. Serum Albumin Proteinleri.....	16
1.4.2.1. Human Serum Albumin (HSA)	17
1.4.2.2. Bovin Serum Albumin (BSA)	18
1.4.2.2.1. BSA'nın Ligand Bağlama Özelliği.....	20
1.4.2.2.2. BSA'ya pH Etkisi	21
1.4.2.2.3. BSA'nın İzomerik Formları.....	23
1.4.2.2.4. BSA'ya Sıcaklık Etkisi	24
1.4.2.2.5. BSA'nın Uygulamaları	24

1.5. Adsorpsiyon	25
1.5.1. Adsorpsiyon Türleri.....	26
1.5.1.1. Fiziksel Adsorpsiyon	26
1.5.1.2. Kimyasal Adsorpsiyon	26
1.5.1.3. İyonik Adsorpsiyon	27
1.6. Protein Adsorpsiyonu	27
1.6.1. Protein Adsorpsiyonunu Etkileyen Faktörler	29
1.6.1.1. İyonik veya Elektrostatik Etkileşimler	29
1.6.1.2. Hidrojen Bağları	29
1.6.1.3. Hidrofobik Etkileşimler	30
1.6.1.4. Yük-Transfer Etkileşimleri.....	31
1.6.2. Protein Adsorpsiyonunu Etkileyen Diğer Faktörler	31
1.6.2.1. Sıcaklık	31
1.6.2.2. İyonik Etki	31
1.6.2.3. Çok Proteinli Sistem.....	32
1.6.2.4. Zaman	32
1.7. Protein Tayin Yöntemleri.....	32
1.7.1. UV Bölgedeki Spektrofotometrik Ölçümler.....	33
1.7.1.1. 280 nm'deki Ölçümler.....	33
1.7.2. Uzak UV Bölgedeki Ölçümler	33
1.7.3. Görünür Bölgedeki Spektrofotometrik Ölçümler.....	33
1.7.3.1. Biüre Yöntemi	33
1.7.3.2. Lowry Yöntemi.....	34
1.7.3.3. Warburg-Christian Yöntemi.....	34
1.7.3.4. Bradford Yöntemi.....	34
1.8. Proteinlerin Kromatografik Yöntemlerle Saflaştırılması	35
1.8.1. Afinité Membran Kromatografisi	37
1.9. Literatür Araştırması	39

1.10. Tezin Amacı	42
2. MATERYAL YÖNTEM	43
2.1. Deneyde Kullanılan Cihaz ve Düzenekler	43
2.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar	44
2.3. Yöntem	45
2.3.1. PET liflerinin Şişirilmesi İşlemi	45
2.3.2. Aşı Kopolimerizasyon Yöntemi	45
2.3.3. GMA-g-PET Liflerin Modifikasyonu	46
2.3.4. Polimerin Karakterizasyonu	46
2.3.4.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi	46
2.3.4.2. FT-IR Analizi	47
2.3.5. Bradford Yöntemiyle Protein Miktar Tayini	47
2.3.6. BSA Kalibrasyon Grafiğinin Eldesi	48
2.3.7. Adsorpsiyon Çalışması	49
2.3.8. Adsorpsiyon için En Uygun PET lifin Seçimi	50
2.3.9. Adsorpsiyon Üzerine pH Etkisi	50
2.3.10. Adsorpsiyon Üzerine Süre Etkisi	51
2.3.11. Adsorpsiyon üzerine Sıcaklık Etkisi	51
2.3.12. Adsorpsiyona Başlangıç Konsantrasyonunun Etkisi	51
2.3.13. Desorpsiyon Çalışması	51
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	53
3.1. Aşılama Mekanizması	53
3.2. Polimerlerin Karakterizasyonu	54
3.2.1. SEM Analizi	54
3.2.1. FT-IR Analizi	55
3.3. Adsorpsiyon Çalışması	57
3.3.1. Adsorpsiyon için En Uygun PET Lif Seçimi	57
3.3.2. Adsorpsiyona pH Etkisi	60

3.3.3. Adsorpsiyona Süre Etkisi	61
3.3.4. Adsorpsiyona Sıcaklık Etkisi.....	62
3.3.5. Adsorpsiyona Başlangıç Konsantrasyonunun Etkisi	64
3.3.6. Desorpsiyon Çalışması	65
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR	70



ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

	<u>Sayfa</u>
1.1. Polimerlerin önemli kullanım yerleri.....	2
1.2. Kopolimer d üzenlenmeleri	4
1.3. Polimerizasyon yöntemleri.....	6
1.4. Liflerin elde edildiği kaynağa göre gruplandırılması.....	8
1.5. Poliesterin eldesi	8
1.6. <i>Terylene</i> sentez mekanizması.....	9
1.7. <i>Dacron</i> sentez mekanizması.....	10
1.8. PET'in ısısızal değredasyonu.....	12
1.9. Bir peptit bağının kondensasyonla oluşumu	14
1.10. Genel polipeptit yapısı.....	15
1.11. Protein konformasyonlarının şematik gösterimi	16
1.12. HSA'nın yapısı.....	17
1.13. BSA'nın alt birimleri	19
1.14. Cu(II) metalinin BSA'da bağlandığı bölge	21
1.15. Proteinin izoelektrik noktadaki net yük ü.....	22
1.16. BSA'nın izomerik formlarının yapısı	23
1.17. Farklı pH'larda BSA'nın konformasyonları	23
1.18. Protein boyutunun bir yüzeyle etkileşimine etkisi	28
1.19. Hidrojen bağı oluşturmak için etkileşime giren iki su molekülü	30
1.20. Farklı pH'larda BSA'nın konformasyonları	30
2.1. BSA kalibrasyon grafiği	49
3.1. GMA bileşiminin yapısı.....	53
3.2. GMA aşılınmış PET (GMA-g-PET) lif	54
3.3. Orijinal PET ve GMA-g-PET lifin SEM mikrografları	55
3.4. Orijinal PET, GMA-g-PET ve HMDA-GMA-g-PET liflerin FT-IR analiz sonuçları	56
3.5. HMDA bağlanmış PET life BSA'nın olası bağlanma modeli.....	57
3.6. EDA bağlanmış PET life BSA'nın olası bağlanma modeli	58
3.7. Orijinal PET ve modifiye PET liflerin GMA aşılama yüzdelere göre protein adsorpsiyon kapasitesi sonuçları.....	59
3.8. Adsorbe edilen BSA-pH grafiği	61

3.9. Adsorbe edilen BSA-süre grafiği	62
3.10. Adsorbe edilen BSA-sıcaklık grafiği	63
3.11. Adsorbe edilen BSA-protein başlangıç konsantrasyonu grafiği	64
3.12. Deorpsiyon-zaman grafiği.....	65



ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

	<u>Sayfa</u>
1.1. PET'in bazı fiziksel özellikleri.....	12
1.2. BSA'nın fizikokimyasal özellikleri.....	20
1.3. Farklı malzemelerle gerçekleştirilen BSA adsorpsiyonları	40



1. GİRİŞ

1.1. Polimerler

Polimer terimi, Yunan kökenli ‘*poli*’ (bir çok) ve ‘*meros*’ (kısım)’tan gelmektedir. Bu kelimeler birleştirildiğinde ‘bir çok parça’ anlamı çıkmaktadır. Polimerler ‘*mer*’ adı verilen bazı basit birimlerin tekrarı ile oluşan bir molekülü tanımlarlar ve monomerler adı verilen çok sayıda küçük moleküllerin birleştirilmesiyle oluşurlar. Sıklıkla yalnızca üç birimden oluşan nispeten küçük bir moleküle polimer denilebilir. Bununla birlikte, polimer terimi genel olarak büyük boyutlu bir moleküle karşılık gelir. Moleküler yapı içinde nispeten az sayıda tekrar eden birime sahip olan düşük molekül ağırlıklı ürünlere, onları polimerlerden ayırmak için ‘oligomer’ denir. Oligo sözcüğü Yunanca ‘az’ anlamına gelmektedir [1].

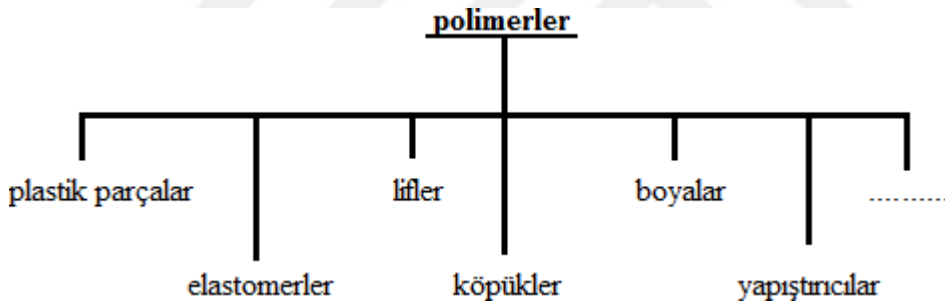
Sıradan organik bileşikler ve polimerik malzemeler arasındaki davranış farkları, esasen polimer moleküllerinin büyüklüğü ve şeklinden kaynaklanmaktadır [1]. Polimer maddeleri basit maddelerden ayıran temel farklılıkları vardır. Bunlar şu şekilde açıklanabilir:

- Küçük molekülü basit maddeler genellikle gaz veya sıvı halde bulunurken, polimerik maddeler yüksek molekül ağırlıklarından dolayı katı ve genellikle serttirler.
- Basit maddeler çözünürlerde kolay çözünürken polimerlerin çözünmesi zordur ve çözünme şekilleri de küçük moleküllerden farklıdır.
- Küçük molekülü bileşiklerin kristalleşmesi kolay ve belli bir sıcaklıkta gerçekleşirken, yüksek molekülü birleşmelerin kristalleşme süreci çok zor ve geniş bir sıcaklık aralığındadır.
- Polimerik maddeler küçük moleküllerden farklı olarak yüksek elastik kabiliyetine sahiptirler.
- Küçük molekülü basit maddelerden farklı olarak polimerler, çözeltilerinden ve eriyik hallerinden ince tabakalar meydana getirebilirler.

Polimerler bu özelliklerinden dolayı sanayinin hemen hemen bütün sahalarında kullanılmaktadır. Polimerler sertliğine, yüksek sıcaklık ve darbelere karşı

dayanıklılığına, yüksek dielektrikliğine ve korozyona karşı dayanıklılığına göre çok geniş bir yelpazede kullanım alanına sahiptirler [2]. Polimerlerin özelliklerini belirlemek adına çok önemli olan yapısal karakteristikler arasında; polimer moleküllerinin rijidlik derecesi, polimer zincirler arasındaki van der Waals ve elektrostatik bağlar, kristalimsi bölgeler oluşturan zincirlerin dereceleri ve zincirler arasındaki çapraz bağlanma dereceleri sayılabilir [3,4].

Doğal polimerlerin endüstride kullanım alanları çok eski tarihlere dayanmaktadır. En çok kullanılan doğal polimerler kauçuk, selüloz [5] ve nişastadır [6]. Tarihsel süreç içerisinde doğal polimerlerin ihtiyaçları karşılamaması üzerine bu polimerlerin bazı fiziksel özelliklerinin değiştirilmesiyle yarı sentetik polimerler kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde ise polimerler yaşantımızın içine kadar girmiştir ve plastik parçalar, kauçuk, lif, boya, köpük, yapıştırıcı gibi son ürünler olarak kullanılmaktadır (Şekil 1.1) [7].



Şekil 1.1. Polimerlerin önemli kullanım yerleri [7]

Polimer konusundaki ilk çalışmalar 19. yüzyılın ortalarına rastlar. 1839 yılında doğal kauçuk olarak bilinen silgi, Amerika’da Goodyear firması tarafından kükürt ile vulkanize edilerek daha kullanışlı bir hale getirilmiştir. Bu şekilde modifiye edilen doğal kauçuktan su geçirmez botlar, lastik ve yağmurluk gibi ürünler elde edilmiştir [2-6]. 1846 yılında Schönbein nitroselülozu, 1865 yılında ise Schutzenberger selüloz asetat adı verilen yarı sentetik polimerleri elde etmişlerdir. %100 sentetik madde olan Bakalit 1907 yılında üretilmiştir. Yine 1929 yılında Almanya’da polistiren elde edilmiştir. 1953 yılındaki polipropilen sentezi, Ziegler ve Natta’ya Nobel ödülünü

kazandırmıştır [6]. Sentetik polimerler ise monomerlerden çeşitli kimyasal yöntemlerle sentezlenen polimerlerdir. Bunlar, monomerlerden başlayarak endüstride sentezlenen polietilen, polipropilen, ve poliamit gibi polimerlerdir [2].

Sentetik polimerler biyoteknoloji ve tıpta birçok işlevi yerine getirmektedir. Hücre kültürü teknolojisi ve doku mühendisliğinde hücrelerin yapışabileceği yüzeyleri sağlarlar. Çapraz bağlı polimer ağları ilaç dağıtımı ve hücre kapsüllemeleri için kullanılır. Polimer bazlı gözenekli membranlar, implante hücreleri konakçının bağışıklık sisteminden korumak için kullanılırken, besin ve metabolik atıkların değişimini sağlarlar ve böylece hücreleri canlı ve çalışır halde tutarlar. Genetik mühendisliğinde polimerler yabancı genetik materyalin alıcı hücreye aktarılması sırasında çok önemli bir rol oynar. Bu bağlamda virüsler yoluyla hücrelere gen aktarımına ilginç ve belki de daha güvenli alternatifler sunmaktadır. Sentetik polimerler, bazı biyolojik moleküllerin fonksiyonlarını taklit etmek için de kullanılabilirler. Buna örnek olarak moleküler bir teknikle üretilen yapay enzimler verilebilir. Öte yandan sentetik polimerler, protein yer değiştirme kromatografisinde sentetik yer değiştiriciler olarak kullanılabilirler [8].

Polimerler yapılarına, oluşumlarında meydana gelen reaksiyonların tipine, fiziksel özelliklerine ve teknolojik kullanımına göre sınıflandırılabilirler [3]. Polimerleri sınıflandırmada kullanılan yöntemlerden biri polimerlerin ısı işlemlere karşı yanıtlarını benimsemek ve onları termoplastik ve termosetler olmak üzere ikiye ayırmaktır. Termoplastikler ısıtıldığında eriyen ve soğuduğunda sertleşen polimerlerdir. Termosetler ısıtıldığında erimeyen fakat yüksek sıcaklıklarda geri dönüşümsüz olarak ayrılan polimerlerdir. Bu sınıflandırma sistemi iki grup arasında bir kimyasal ayrım olması avantajına sahiptir. Termoplastikler esasen doğrusal veya hafif dallanmış polimer molekülleri içerirken, termosetler büyük ölçüde üç boyutlu geniş bir kovalent kimyasal bağlanma ağından oluşan çapraz bağlanmış polimerlerdir [4].

Polimerler doğasına göre sınıflandırıldığında doğal polimerler ve sentetik polimerler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Doğal polimerlere örnek olarak selüloz, kitin ve pamuk; sentetik polimerlere ise polietilen [9] ve poliakrilamid verilebilir. Yapısındaki elementlere göre polimerler organik ve inorganik polimerler olarak sınıflandırılırlar.

Organik polimerler organik moleküllerden oluşurken, inorganik polimerler metal ve ametaller gibi inorganik moleküllerden oluşan polimerlerdir [7,9].

Zincirin fiziksel ve kimyasal yapısına göre polimerler; düz zincirli, dallanmış ve çapraz bağlı polimerler olarak sınıflandırılırlar. Uzaydaki yapılarına göre ise izotaktik, sindiotaktik ve ataktik olarak ayrılırlar. Polimerleri zincir yapısındaki monomer sayısına göre sınıflandırmakta mümkündür [10]. Bir makromolekül oluşturmak için tek bir monomer kullanıldığında ürün normal bir polimer olarak adlandırılan homopolimerdir. Kopolimer terimi ise birden fazla monomer çeşidinin bir araya gelmesiyle oluşur. Kopolimer kelimesi, molekülleri iki veya daha fazla farklı tipte monomer veya yineleme birimi içeren polimerleri tanımlamak için kullanılır. Her biri, polimer zinciri boyunca yinelenen birimlerin belirli bir düzenleme biçimiyle karakterize edilen birkaç kopolimer kategorisi vardır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Kopolimerlerin düzenlenmeleri: (a) rastgele kopolimer (b) ardışık kopolimer (c) blok kopolimer ve (d) aşırı kopolimer

Rastgele kopolimer yapısında farklı monomerlerin veya tekrarlayan birimlerin nispeten rastgele dağılımına sahip olan kopolimer rastgele kopolimer olarak adlandırılır. A ve B ile iki farklı monomerin temsil edildiği rastgele kopolimer şu şekilde ifade edilir.

-A-B-B-B-B-A-A-A-B-A-B-A-B-B-A-A-A-B-B-A-B-A-B-B-

Diğer üç kopolimer yapısı; art arda kopolimer, bloklü kopolimer ve aşı kopolimer olarak bilinmektedir. Art arda kopolimerde iki monomer, polimer zinciri boyunca düzenli bir şekilde değişir.

-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-A-B-

Bir blok kopolimer, zincir içinde her bir monomerin bir veya daha uzun kesintisiz sekansına sahip lineer bir polimerdir.

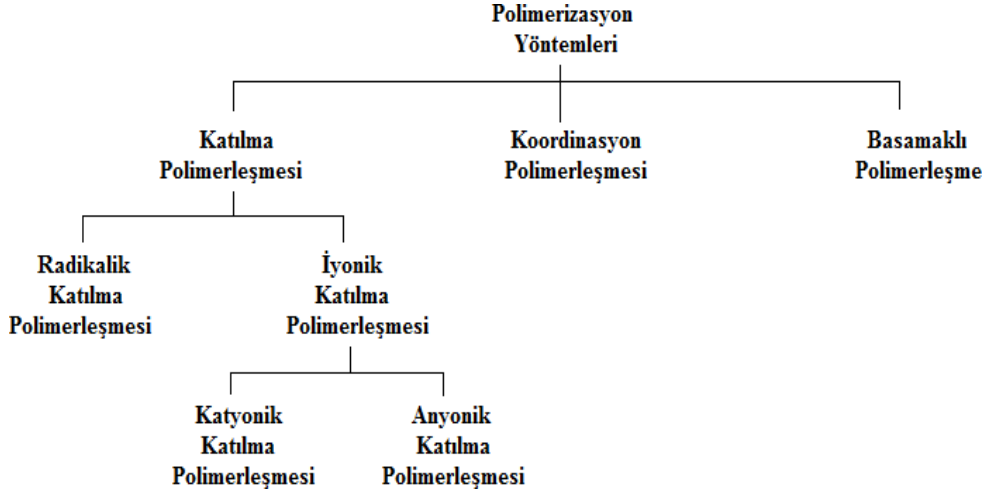
-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-B-B-B-B-B-B-B-B-B-B-B-B-B-

Bir aşı kopolimeri, diğer bir monomerin veya daha fazla yan zincire bağlanmış bir monomer tipinde omurgalı dallanmış bir kopolimerdir.

-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-
|
-B-B-B-B-B-B-B-

Polimerler ayrıca molekül kütlesine göre de sınıflandırılmaktadırlar [1,11].

Polimerler, monomerlerin çeşitli kimyasal tepkimeler sonucu biraraya gelmesiyle oluşurlar ve bu olaya polimerizasyon denir. Polimerizasyon yöntemlerindeki farklılıklar polimerlerin sentezlenme yöntemindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Polimerizasyon yöntemleri

1.2. Aşılı Kopolimerizasyonu

Aşılı ve blok kopolimerleri, kopolimer zincirindeki iki farklı monomerin her birinin uzun dizilerini içerir. Bir blok kopolimer, iki monomerin dizilerini kopolimer zinciri boyunca kesintisiz bir düzende içerirken; bir aşılı kopolimeri ikinci monomerin uzun dizilerinin bir veya daha fazla dalına sahip bir monomer dizisini içerir. Aşılı ve blok kopolimer gibi yapıların sentezlenmesi için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Aşılı kopolimerizasyon yöntemlerinin çoğu radikalik polimerizasyon yöntemlerini içerir. Bununla birlikte aşılı kopolimerizasyonunda iyonik polimerizasyonunda rolü vardır. Aşılı kopolimerizasyonu homojen sistemlerin yanında heterojen olarak gerçekleştirilir. Aşılı kopolimerlerinin sentezi için üç yöntem vardır. Bunlar :

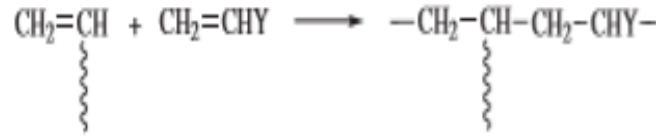
- Aşılama iki farklı polimerde fonksiyonel gruplar arasındaki reaksiyonu içerir.



- Aşılama monomerin polimerleşmesini başlatan fonksiyonel gruplara sahip bir polimeri içerir. Burada 'M' ifadesi monomeri temsil etmektedir.



- Aşılama yoluyla bir makromonomerin, genellikle bir vinil makromonomerinin polimerizasyonunu veya kopolimerizasyonunu içerir.



Aşılama çeşitli reaksiyon koşullarında birçok polimerin birlikte kullanılabilmesi nedeniyle kullanışlıdır [12].

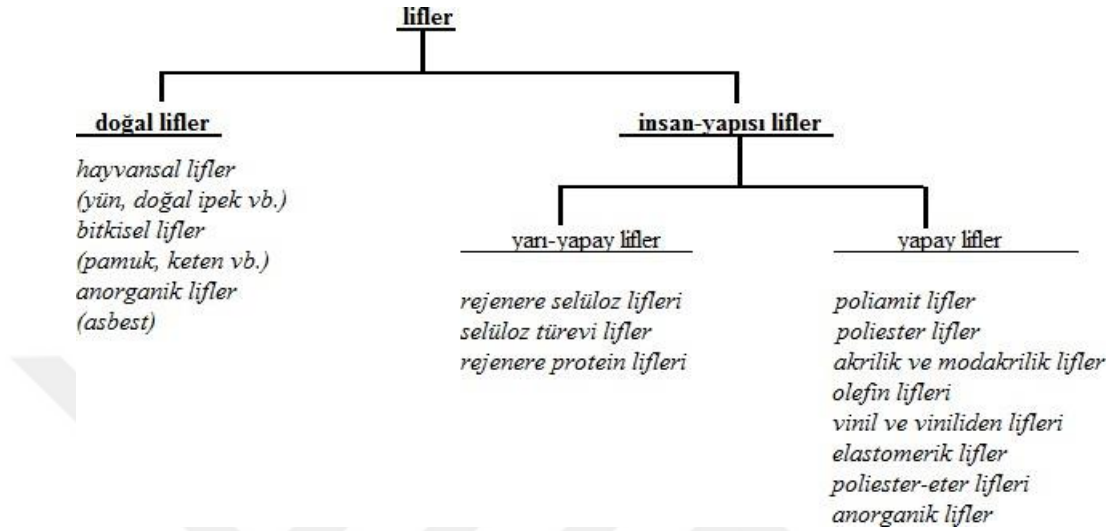
1.3. Lifler

Bir materyali lif olarak sınıflandırabilmek için materyalin uzunluk/çap oranının en az 100 dolayında olması gerekir. Bundan dolayı geometrik özellikler içerisindeki uzunluk ve kesit kavramları önem arz etmektedir. Lifler elde edildikleri kaynağa göre sınıflandırılırlar. Bunlar doğal, yarı sentetik ve sentetik liflerdir.

Doğal lifler direkt olarak doğadan elde edilirler. Bu liflerin eldesinde insan emeği yoktur. Hayvansal lifler doğal liflerin önemli bir kısmını oluştururlar ve bu liflere yün, angora, doğal ipek ve kaşmir örnek olarak verilebilir.

Yarı sentetik liflerin üretiminde doğadan sağlanan polimerler kullanılır. Doğada en bol bulunan polimer bitkilerin ve ağaçların temel yapısını oluşturan selülozdur. Chardonnet ipeği, insan yapımı ilk yarı sentetik liftir.

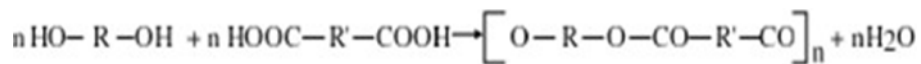
Yapay lifler, polimerinin sentezinde tamamen insan emeği olan liflerdir. Bu liflere poliamit lifler, poliester-eter lifler, olefin lifleri, inorganik lifler, vinil ve viniliden lifleri ile poliester lifler örnek olarak verilebilir [7,13,14].



Şekil 1.4. Liflerin elde edildiği kaynağa göre gruplandırılması [9]

1.3.1. Poliester Lifler

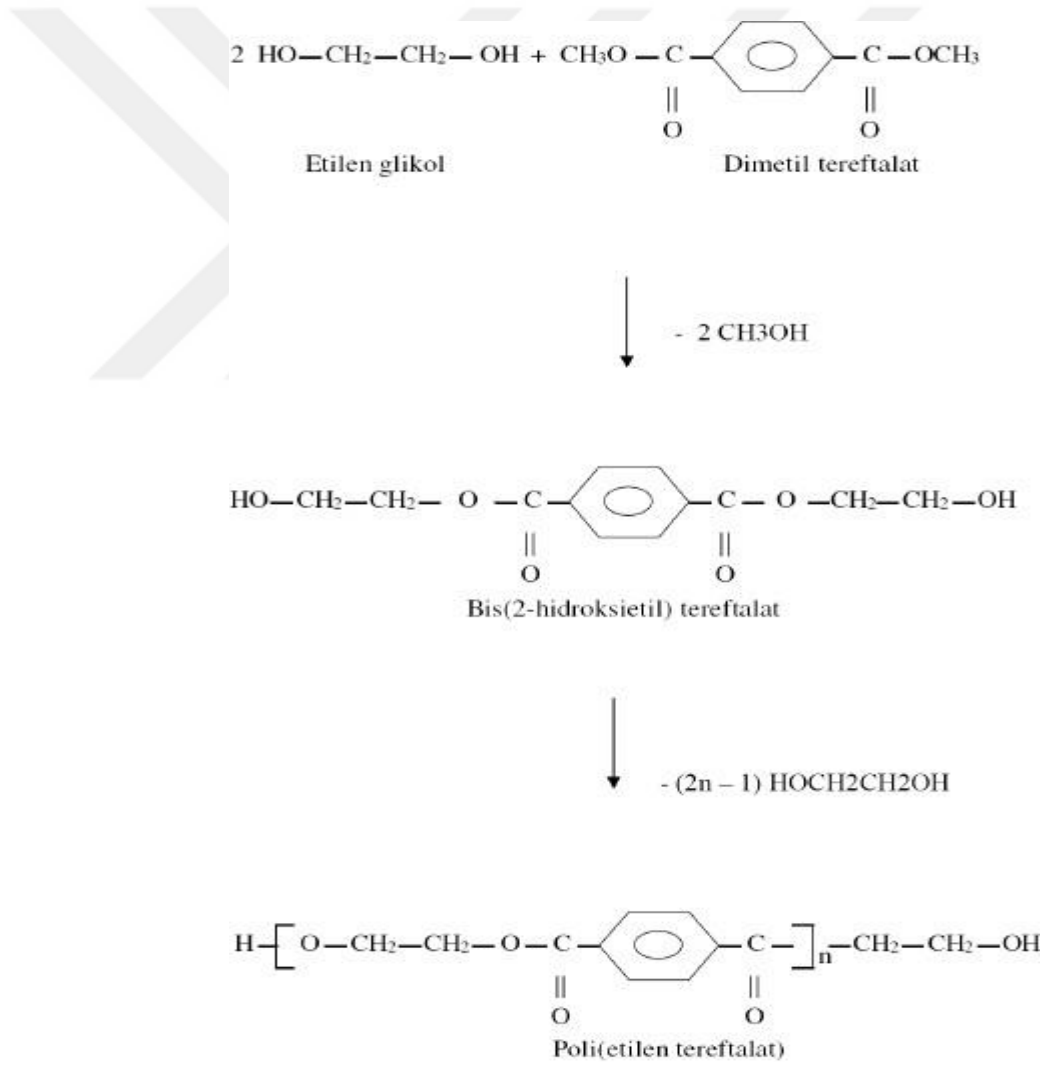
Poliesterler, bir dialkol ile bir dikarboksilik asitin kondenzasyonu sonucu oluşan uzun zincirli polimerlerdir (Şekil 1.5.) [7,15-17]. Poliester lifler, özellikle poli(etilen teraftalat) (PET) lif, dünya çapında en geniş üretim hacmine sahip liflerdir. Poli(etilen naftalat) (PEN), poli(bütilen teraftalat) (PBT), poli(propilen teraftalat) (PPT), poli(laktik asit) (PLA), termotropik poliesterler gibi poliesterler, poli(etilen teraftalat) (PET) liflere kıyasla daha önemsiz bir üretim hacmine sahiptirler [15].



Şekil 1.5. Poliesterin eldesi [17]

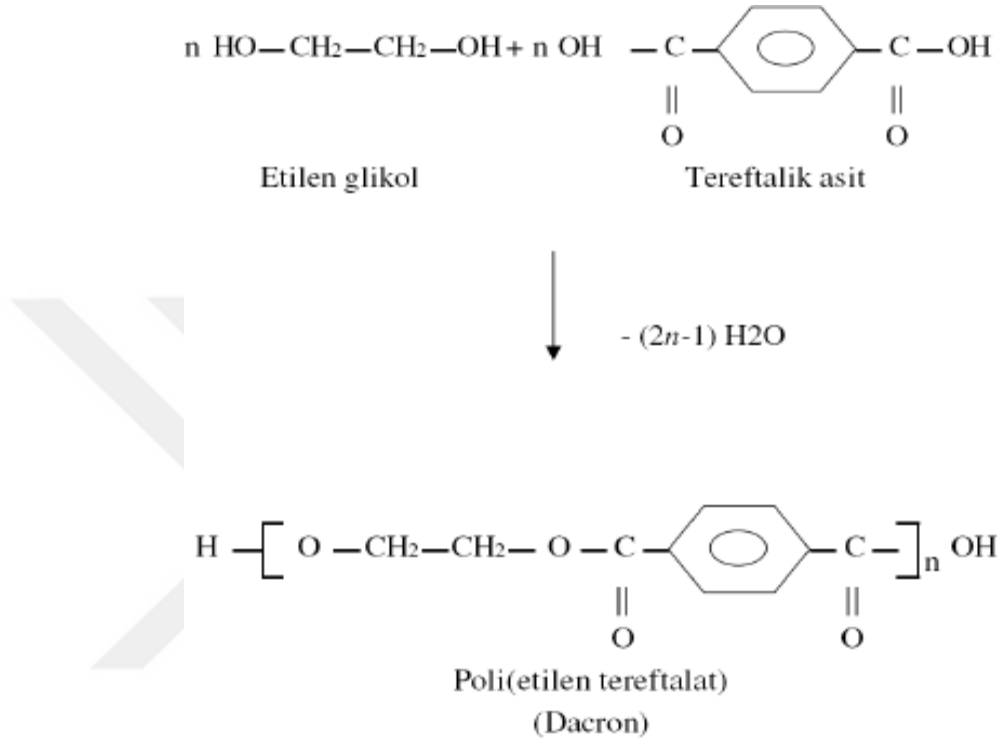
1.3.1.1. PET Poliester Lifleri

Poliesterlerden lif yapmaya yönelik ilk arařtırmalar 1930'lu yıllarda Carothers tarafından yapılmıřtır [7]. Ancak Carothers'in sentezlediđi alifatik poliesterler dūřuk erime noktaları ve dūřuk molekūl ađırlıkları nedeniyle lif ūretimi için yetersiz kalmıřtır. Ayrıca, Carothers sentezlediđi poliesterlerin ūzelliklerinin alifatik naylonlarla karřılařtırıldıđında daha zayıf olduđunu gūrmüřtūr [7,15]. Daha Sonraları 1940'ların bařında İngiltere'de Whinfield ve Dickson'dan oluřan bir ekip tarafından performans açısından çok daha iyi bir lif elde edilmiřtir (*Terylene*) (řekil 1.6).



şekil 1.6. *Terylene* sentez mekanizması

1953 yılında ise ABD’de Dacron (Şekil 1.7) denilen poliester lifin sentezlenip piyasaya sürülmesiyle bu liflerin ticarileşmesi hız kazanmıştır [7]. Dacron ve Terylene’in çıkış maddeleri ayrıdır ancak; iki lifinde polimeri poli(etilen tereftalat) (PET)’tir [16].



Şekil 1.7. Dacron sentez mekanizması [16,17]

PET liflerin diğer liflere göre daha baskın bir şekilde üretilmesinin nedenleri; düşük maliyeti, uygun bir şekilde işlenebilirliği ve yüksek performans göstermesidir. Düşük maliyetin temeli, ksilenlerin tereftalik aside dönüşümünün yüksek verimliliğinde yatmaktadır. PET liflerin yüksek performansı kristal veya kristal olmayan birimlerin bu liflere bağlanabilir olmasından ve bazı mekanik özelliklerinin kontrol edilebilmesinden kaynaklanmaktadır [15]. Yüksek mukavemet gösteren PET lifler, hortumlar gibi lastik ürünlere takviye amacıyla kullanıldığı gibi tekstil endüstrisinde ve diğer endüstriyel uygulamalarda kullanılır [18].

PET poliester lifleri tekstil endüstrisinde kullanılan en önemli sentetik liflerden biridir [19]. PET lifler güneş ışığına, mikroorganizmalara, güçlü asitlere ve

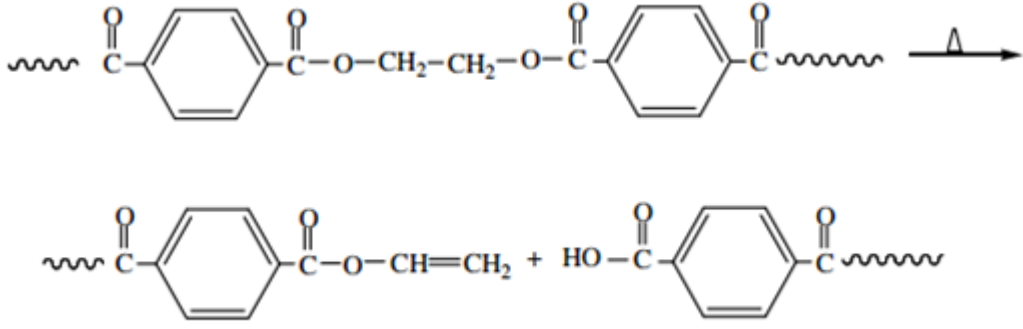
oksitleyici ajanlara karşı iyi bir direnç gösterirler [20]. Bu özelliklere rağmen PET lifler, düşük nem bölgesi bulundurması ve reaktif fonksiyonel grupların bulunmaması nedeniyle istenilen şekilde kullanılamaması gibi bazı dezavantajlara sahiptir [21]. İstenilen bazı fonksiyonel gruplar; metil metakrilat [22,23], akrilik asit [24], akrilamit [25], akrilonitril [26], gibi farklı monomerlerle aşılama yoluyla PET liflerin yüzeyine bağlanabilir [22].

1.3.1.1.1. PET Poliester Liflerinin Fiziksel Özellikleri

PET liflerinin yoğunluğu 1,36-1,45 g/cm³'tür. Bu değer PET lifteki kristalin bölge oranlarıyla değişmekle birlikte bu oran fazla olduğunda yoğunluk yüksek, az olduğunda ise düşüktür. PET lifler termoplastik polimerlerdir ve sıcakta mukavemet özellikleri değişmektedir [18,20]. Erime noktası 252-256 °C'dir. Filamentlerin mukavemeti 4-7 g/denye, kesikli liflerin mukavemeti ise 4-5 g/denye'dir. PET liflerin elastik özellikleri yüksek, nem tutma yetenekleri ise düşüktür (%100 bağıl nemde %1). Mekanik kararlılıkları ve aşınmaya karşı dirençleri yüksektir. Tamamen hidrofobik karakterdedirler ve bu sayede ısladıklarında dayanıklılıklarında bir azalma görülmez [17].

Aşınma dirençleri naylon hariç, diğer yapay ve doğal liflere göre daha fazladır. Tutuşması zordur ve alev uzaklaştırıldığında yanmaya devam etmez. Işık etkisi, bakteri ve böceklerle karşı dayanıklı olup degradasyona uğramazlar [30]. Mikroskop altında incelendiklerinde kesitli şeffaf cam boru şeklindedir. 200°C civarında yumuşama gösterirler. Bükülme ve kıvrılmaya karşı direnç göstermeleri buruşmaya karşı dayanıklılıklarını artırır [17].

PET lifler erime sıcaklıklarının üstündeki sıcaklıklarda degrade olurlar. PET liflerde ısıl degradasyon ester bağlarında rastgele zincir kopması şeklinde olur. PET'in ısıl degradasyon tekimesinin aşağıdaki gibi olduğu belirtilmiştir (Şekil 1.8) [27].



Şekil 1.8. PET'in ısısal degradasyonu [19]

PET'in camsı geçiş sıcaklığı ise 80°C'dir. Aşağıdaki çizelgede PET'in bazı fiziksel özellikleri belirtilmiştir [27].

Çizelge 1.1. PET'in bazı fiziksel özellikleri [27]

Uzama (%)	12-60
Esneklik (%)	90-96 (%2 uzamada)
PET yoğunluğu (amorf g/cm ³)	1,335
PET lif yoğunluğu (Tamamen kristal, g/cm ³)	1,38-1,40
Camsı geçiş sıcaklığı (amorf, °C)	67
Camsı geçiş sıcaklığı (Kristaliteye bağlı, °C)	80-115
Erime noktası (°C)	258-260

1.3.1.1.2. PET Poliester Liflerinin Kimyasal Özellikleri

PET lifler yüksek bir simetri düzeyine sahip olduklarından trans-trans konformasyonunda bulunmayı tercih etmektedirler. Trans-trans konformasyonunda

karbonil gruplarını oluşturan dipollerin zıt yönde uzanmaları, birbirlerini doyurmalarını ve böylece daha düşük enerji düzeyi, daha stabil bir molekül yapısı ve daha yüksek bir erime noktası sonuçlarını doğurmaktadır [7,17]. Poliester liflerinin mukavemetini arttırmak için yapılan germe-çekme işleminde kristalinite ile birlikte kimyasal reaktiflere ilgisizlikte artar. Bu nedenle poliester lifleri soğukta ve sıcakta zayıf asit çözeltilerine karşı dayanıklıdır [27,28]. Derişik organik asitlerden oda sıcaklığında etkilenmezler. Poliester liflerinin selülozik liflerden farkedirilmesi bu özellikten yararlanır.

Sabunlara ve deterjanlara karşı dayanıklı olan PET lifler, içerdikleri ester bağları nedeniyle kuvvetli bazlara karşı dayanıksızdırlar. Özellikle sodyum hidroksit (NaOH) gibi kuvvetli organik bazların etkisinin yüzeyinden başladığı ve yüzeyindeki makromoleküller sabunlaşarak parçalandıkça bazen etkisinin içeriye doğru ilerlediği araştırmalarda gözlenmiştir. Bu durum, lifte kopma dayanımında azalma yaratmaktadır. Bu azalma daha çok elyaf liften yapılan poliester liflerde gözlemlenir. Çünkü bu tür liflerde liflerin birbirine tutunmaları azalmaktadır [27,28].

Yükseltgen ve indirgen maddelere karşı iyi dayanım gösterirler. Sodyum klorit, hidrojen peroksit gibi yükseltgen maddeler ve sodyum hidrojen sülfid (bisülfid), sodyum ditiyonit (hidrosülfid) gibi indirgen maddelerle ağır koşullar altında yapılan deneyler sonucunda bile liflerin dayanımında neredeyse hiç bir azalma meydana gelmediği görülmüştür [29].

PET lifler yakıldıklarında erirler ve isli bir alev çıkarırlar. Dumanları karakteristik, aromatik, tatlımsı kokudur. Kimyasal reaktiflerden etkilenmeyen yapısı, boyama işleminde de kendisini gösterir. Poliester lifler, boyar maddelerle kimyasal reaksiyona girmezler. PET lifler camsı geçiş sıcaklıklarının üzerindeki sıcaklıklarda iyi bir verim ile boyanamamaktadırlar [30].

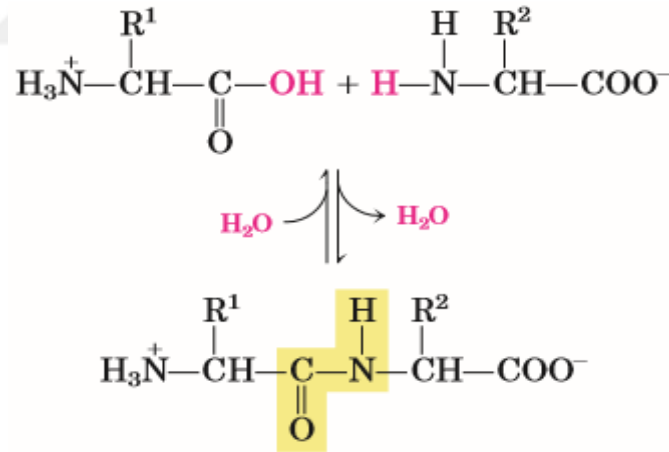
1.4. Proteinler

Protein sözcüğü Yunanca'da 'ilk yer' anlamına gelen '*proteios*' sözcüğünden gelir. Çoğu hücrede kuru ağırlığın %50'sinden fazlasını oluştururlar. Proteinler, organizmaların yaptığı hemen hemen her işte rol oynar [31]. Hücrelere yapısal destek

olma, çeşitli bileşiklerin taşınması, organizmada bir yerden diğer bir yere sinyal iletimi, hareket, yabancı maddelere karşı savunma yapma gibi görevleri vardır. Çok farklı görevler üstlenebilme yetenekleri, kendilerine özgü üç boyutlu konformasyonel bir yapıya sahip olmalarından ileri gelir [32]. Her bir protein hayatın devam ettirilmesi için gerekli biyokimyasal reaksiyonlarda hayati bir öneme sahiptir [33].

1.4.1. Proteinlerin Genel Özellikleri

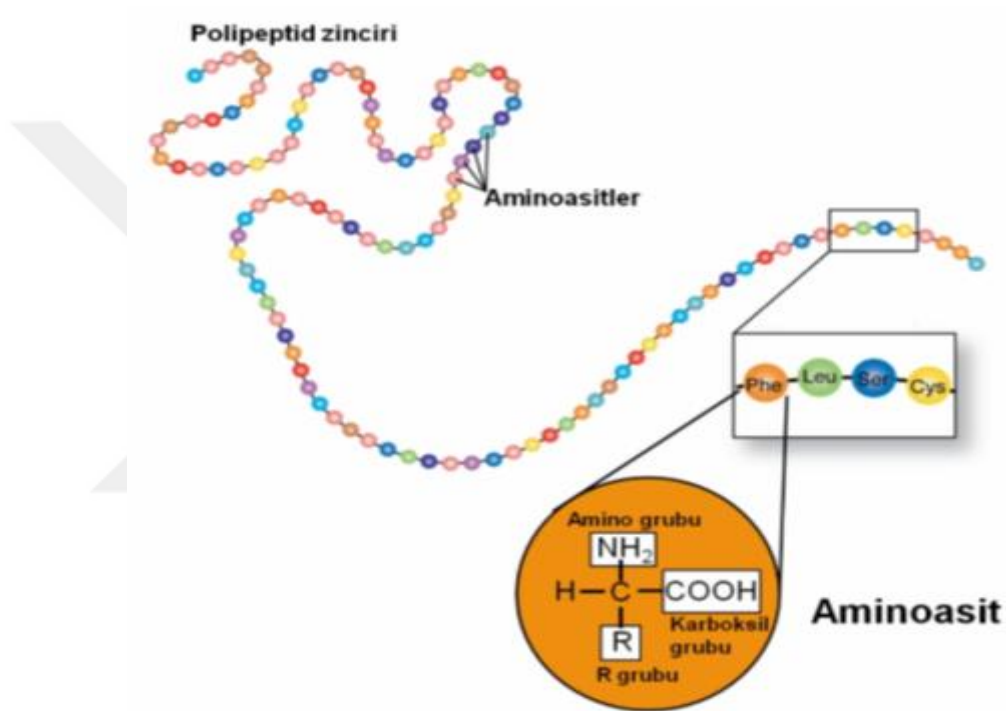
Peptidler ve proteinler, aminoasitlerin polimerleridir. Proteinlerin yapıtaşları olarak bilinen 20 çeşit aminoasit vardır [34]. Aminoasitlerin hepsinde merkezdeki karbon atomuna bağlanmış bir karboksil grubu, bir amino grubu ve bir de yan grup (R: radikal) bulunur. İki aminoasit molekülü peptit bağıyla kovalent olarak birbirine bağlandığında dipeptit denilen yapı oluşur. Peptit bağı, bir aminoasidin α -karboksil grubundan dehidrasyonla, yani su elementlerinin uzaklaştırılması ve ardından diğer aminoasidin α -amino grubunun çıkarılması ile gerçekleşir (Şekil 1.9) [35].



Şekil 1.9. Bir peptit bağının kondensasyonla oluşumu [35]

Dipeptitlerin oluşumuna benzer şekilde, üç aminoasit peptit bağı ile birleştiğinde tripeptit, dört aminoasit birleştiğinde tetrapeptitleri oluşturur. Birkaç aminoasitin birleşmesiyle oluşan bu yapılara 'oligopeptit' denir. Aminoasit sayısı arttığında ise

bu yapı 'polipeptit' adını alır (Şekil 1.10). Proteinler ise binlerce aminoasitten oluşmaktadır [36]. Protein ve polipeptit terimleri bazen birbirinin yerine kullanılır ancak; bu yapıların molekül kütleleri 10.000'den az olduğunda polipeptit, fazla olduğunda ise protein olarak adlandırılır. Proteinler 100 ila birkaç bin aminoasit kalıntısından oluşabilirler. Bazı proteinler tek polipeptit zincirinden oluşurken, çok alt birimli proteinler kovalent şekilde olmayan etkileşimlerle bağlanmış daha fazla polipeptitten oluşabilirler [37].



Şekil 1.10. Genel polipeptit yapısı

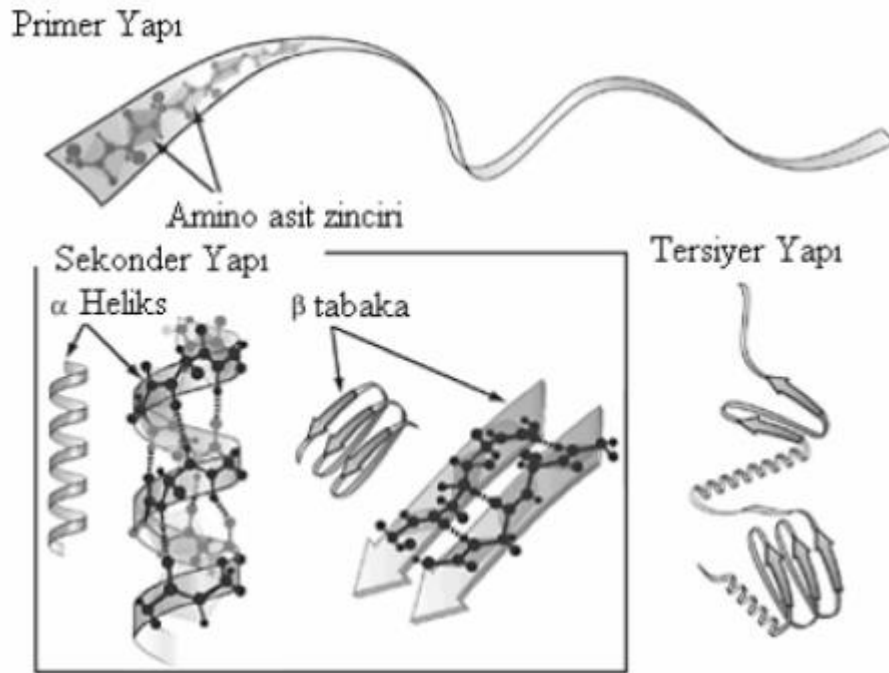
Bir polipeptit zincirinde, aminoasit kalıntılarının peptit bağları ve disülfür bağlarıyla birbirine bağlanmasına proteinin birincil yapısı denir. Her proteinin kendine özgü birincil yapısı ve aminoasit sayısı vardır. Proteinlerin birincil yapısı o proteinin kendine has üç boyutlu yapısına nasıl dönüştüğünü ve bu üç boyutlu yapının proteinin işlevini nasıl değiştirdiğini belirler [35-37].

Proteinlerin ikincil yapısı ise, aminoasitlerin kısmen kararlı bir yapıya sahip tekrarlayan yapısal düzenlemelere yol açan dizilişidir. Proteinlerin yan zincirlerinin

konformasyonunu veya uzaysal düzenlenmelerini açıklayan yapı ikincil yapıdır. İkincil yapının birkaç tipi protein yapısında yaygın olarak bulunmaktadır. Bunlardan ikisi α -sarmal ve β -konformasyonlarıdır (Şekil 1.11). Diğer genel tür ise β dönüştür.

Bir proteindeki atomların hepsinin toplam üç boyutlu düzenlenmesi proteinlerin üç boyutlu yapısını belirler. Proteinlerdeki polipeptit zincirlerinin birbiriyle etkileşen bölümleri, bölmeler arasındaki zayıf etkileşimler ile kendilerine özgü üçüncül konumlarında tutulurlar.

Bazı proteinler birbirleriyle aynı veya farklı olabilen en az iki tane polipeptit zinciri içerirler. Protein alt birimlerinin üç boyutlu halde kompleksler halinde düzenlenmesi ise proteinlerin dördüncül yapısını oluşturur [36-38].



Şekil 1.11. Protein konformasyonlarının şematik gösterimi [39]

1.4.2. Serum Albumin Proteinleri

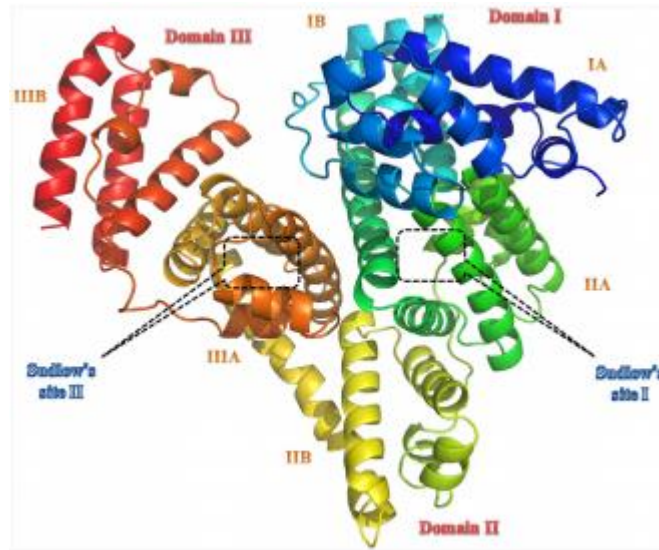
Albumin, plazma basıncını ayarlama ve beslenme dengesini sağlamada önemli rol

oynayan globüler bir proteindir. Kanda bulunan farklı bileşikler albumin bağlanarak taşınırlar. Ayrıca insan sağlığı, kan plazmasında veya diğer biyolojik sıvılarda bulunan serum albumin konsantrasyonuyla yakından ilgilidir [40]. Serum albumin proteinleri, kanda en çok bulunan (%52-62) suda çözünür plazma proteinleridir [41,42]. Bu proteinlerde genel olarak yaklaşık 585 aminoasit kalıntısından oluşan tek bir polipeptit zinciri vardır. Serum albuminler dolaşım, beslenme ve fizyolojik işlevlerini; farklı iyonları, yağ asitlerini, vücuttaki farmasötikler gibi küçük molekülleri taşımak ve dağıtmak için taşıyıcı görevi gören temel biyomakromoleküller olarak yapar. Human serum albumin (HSA) ve bovin serum albumin (BSA) proteinleri, farklı araştırma alanlarında kullanılan en değerli serum albuminleridir [42].

1.4.2.1. Human Serum Albumin (HSA)

Human Serum Albumin (HSA) insan kan dolaşım sisteminde bol miktarda bulunan ana proteindir. Molekül ağırlığı 66.8 kDa olup tek zincirli bir polipeptit zincirinden oluşur [43-45].

Bu kalp şeklindeki proteinin yapısı, her biri A ve B olarak adlandırılan iki alt birim içeren üç homolog alana sahip üç boyutlu yapıda katlanan 586 aminoasitten oluşur.



Şekil 1.12. HSA'nın yapısı [40]

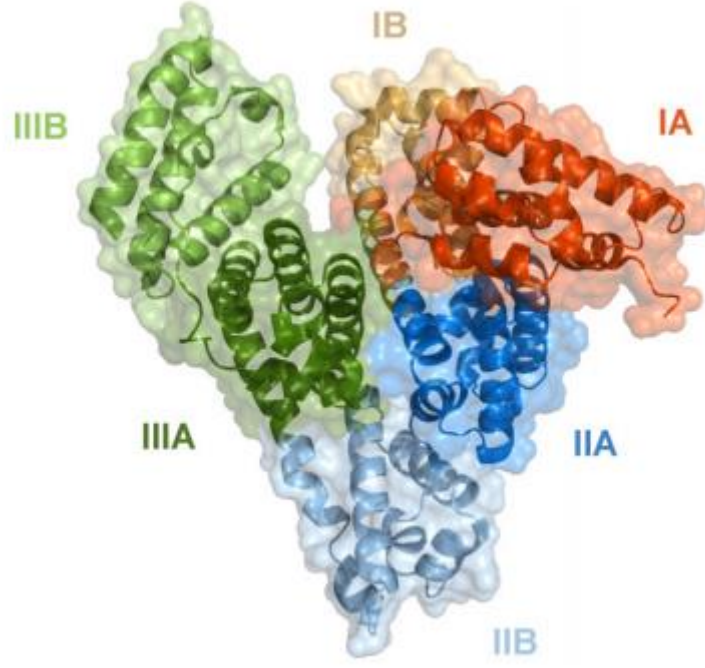
Küçük moleküllerin ve terapötik kimyasalların çoğunun bu albumin bölgelerine bağlandığı belirlenmiştir, ancak son çalışmalarda bu tür moleküllerin HSA'ya bağlanması için başka bölgelerde tanınmaktadır [46-49].

HSA steroidlerin, yağ asitlerinin, bilirubin ve porfirin gibi maddelerin bu proteine bağlanması ve taşınması ile ilgili geniş bir fonksiyona sahiptir [46]. Daha da önemlisi, çeşitli maddelerin veya biyomoleküllerin hedef hücrelere ya da organlara etkin bir şekilde iletilmesi için albumin esaslı nanoparçacıkların geliştirilmesi ve üretilmesine özel bir şekilde odaklanılmıştır [47]. Öyle ki, Abraxane, 2005 yılında ABD Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından onaylanan albumin bazlı nanopartiküllerin karakteristik bir örneği olarak düşünülebilir. Abraxane temel olarak metastatik meme kanserinden muzdarip hastaların tedavisi için kullanılır [50].

1.4.2.2. Bovin Serum Albumin (BSA)

Sığır serum albumin ayrıca BSA veya 'Fraksiyon V' olarak bilinmektedir. BSA ineklerden elde edilen bir serum albumin proteinidir. Tam uzunluktaki BSA öncü protein 607 aminoasitten oluşur. N-terminal ucunda bulunan 18 aminoasit öncü proteinden kesilir. Bu nedenle başlangıçtaki protein ürünü 589 aminoasit kalıntısı içerir. Ek bir 6 aminoasit, 583 aminoasit içeren olgun bir BSA protein verecek şekilde ayrılır. BSA'nın yapısı HSA'ya çok benzediği için yaygın olarak HSA yerine bir model protein olarak kullanılmıştır [51]. HSA'ya benzer şekilde BSA tek bir polipeptit zincirinden oluşur [52]

17 adet çapraz bağlı sistein (Cys) aminoasit kalıntılarında oluşan disülfid köprüleri BSA'nın yapısını stabilize eder. Moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 66.8 kDa'dır ve yapısı kalp şeklindedir. Üç homolog domaine sahiptir ve benzersiz bağlanma bölgelerine sahip A ve B olmak üzere iki alt birimden oluşur (Şekil 1.13) [53,54].



Şekil 1.13. BSA'nın alt birimleri [55,56]

Alt birimlerden IB ve IIA'da BSA proteini Trp-134 ve Trp-212 olmak üzere iki adet Triptofan aminoasit kalıntısı içerir [55]. BSA'nın tahmin edilen α -heliks yapısı oranı %54 iken, tahmin edilen β formu oranı ise %18'dir. Yapılan X-ışını saçılması deneylerinden elde edilen verilere göre BSA'nın 140x40x40 Å boyutlarında bir elips olduğu saptanmıştır ve daha sonra yapılan araştırmalarda bu veriyi destekler nitelikte olmuştur [57].

BSA'nın diğer fizikokimyasal özellikleri aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. BSA'nın fizikokimyasal özellikleri [58]

Moleküler Ağırlık (Da)	66430
İzoelektrik Nokta (pI)	4.7
Difüzyon Katsayısı (m ² /s)	5.9x10 ⁻¹¹
Optik Absorbans A ^{1g/l} 279 nm	0.63
Hacim (Protein kristal yapısı) u _c (nm ³)	84.5
Toplam Yük	
pH 4	+25
pH 5	~0
pH 7.4	-17

1.4.2.2.1. BSA'nın Ligand Bağlama Özelliği

Serum albuminler; çok çeşitli metabolitler, ilaçlar, besin maddeleri, metaller ve diğer moleküller için taşıyıcı protein özelliği gösterirler ve olağanüstü ligand bağlama kapasitesine sahip çok işlevli proteinlerdir. Ligand bağlama özellikleri nedeniyle albuminler geniş klinik, farmasötik ve biyokimyasal uygulamalarda kullanılmaktadır. Albuminin en önemli özelliklerinden biri çok sayıda çeşidi bulunan ligandlara karşı tersinir bağlanma kabiliyetlerinin olmasıdır. BSA plazma taşınımında çözünmez yağ asitlerinin başlıca taşıyıcısıdır. BSA serbest oksijen radikallerinin ayrılması ve bilirubin gibi çeşitli toksik lipofilik metabolitlerin inaktif edilmesi gibi pek çok işleve sahiptir. Ayrıca pridoxil fosfat, sistein, glutatyon, ve Cu(II), Ni(II), Hg(II), Ag(II) ve Au(I) gibi çeşitli metallerle kovalent bağ oluşturur [58].

BSA üzerinde çeşitli metal bağlanma bölgeleri bulunur. Bu metallerden Cu(II) iyonunun BSA aminoasit dizisinde bağlandığı bölge Şekil 1.14'te gösterilmiştir.

10	20	30	40	50
MKWVTFISLL	LLFSSAYSRG	VFRRDTHKSE	IAHRFKDLGE	EHFKGLVLIA
60	70	80	90	100
FSQYLQQCPF	DEHVKLVNEL	TEFAKTCVAD	ESHAGCEKSL	HTLFGDELCK
110	120	130	140	150
VASLRETYGD	MADCCEKQEP	ERNECFLSHK	DDSPDLPLK	PDPNTLCDEF
160	170	180	190	200
KADEKKFWGK	YLYEIARRHP	YFYAPELLYY	ANKYNGVFQE	CCQAEDKGAC
210	220	230	240	250
LLPKIETMRE	KVLASSARQR	LRCASIQKFG	ERALKAWSVA	RLSQKFPKAE
260	270	280	290	300
FVEVTKLVTD	LTKVHKECCH	GDLLECADDR	ADLAKYICDN	QDTISSKLKE
310	320	330	340	350
CCDKPLLEKS	HCIAEVEKDA	IPENLPPLTA	DFAEDKDVCK	NYQEAKDAFL
360	370	380	390	400
GSFLYEYSRR	HPEYAVSVLL	RLAKEYEATL	EECCAADDPH	ACYSTVFDKL
410	420	430	440	450
KHLVDEPQNL	IKQNCDFEK	LGEYGFQNAL	IVRYTRKVPQ	VSTPTLVEVS
460	470	480	490	500
RSLGKVGTRC	CTKPESERMP	CTEDYLSLIL	NRLCVLHEKT	PVSEKVTKCC
510	520	530	540	550
TESLVNRRPC	FSALTPDETY	VPKAFDEKLF	TFHADICTLP	DTEKQIKKQT
560	570	580	590	600
ALVELLKHKP	KATEEQLKTV	MENFVAFVVK	CCAADDKEAC	FAVEGPKLVV

STQTALA

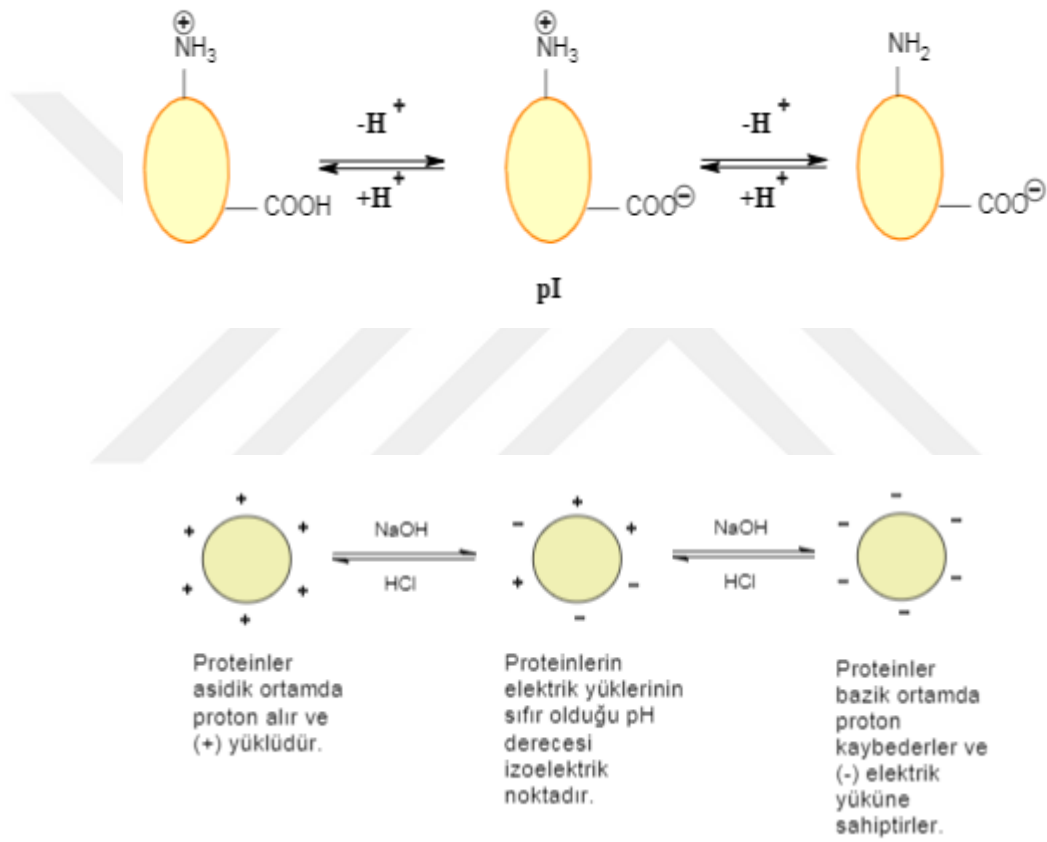
Şekil 1.14. Cu(II) metalinin BSAaminoasit dizisinde bağlandığı bölge [55,56]

1.4.2.2.2. BSA'ya pH Etkisi

Proteinlerin yapısında asidik ve bazik aminoasitler bulunduğundan amfoterik özellik gösterirler. Proteinler proton alırlar ya da proton verirler. Asidik ortamlarda proteinler ekstra protona sahip olduklarından net pozitif bir yüke, bazik ortam koşullarında ise net negatif yüke sahiptirler. Aminoasitlerin net elektrik yüklerinin sıfır olduğu pH değerine 'izoelektrik nokta' (pI) adı verilmektedir.

Proteinler aminoasit kompozisyonlarına bağlı olarak farklı izoelektrik noktalarına

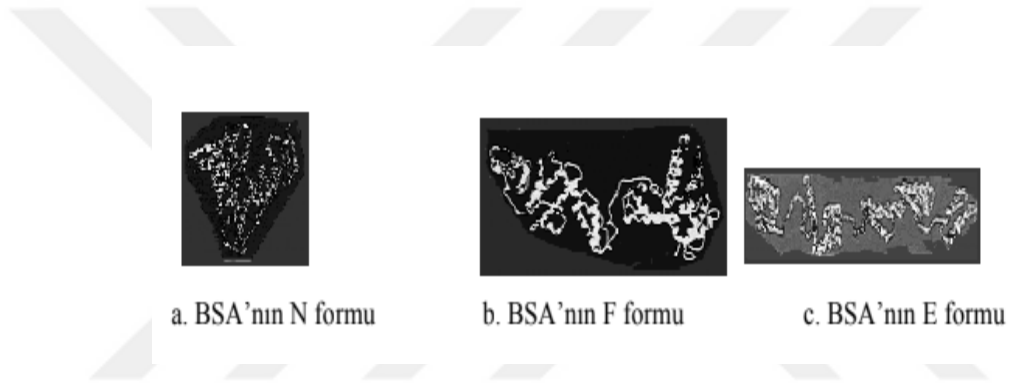
sahiptirler ve $\text{pH} = \text{pI}$ değerinde iyonlaşmış olmalarına rağmen dış ortama karşı nötral yapıda bulunmaktadır. İzoelektrik noktalarından daha düşük pH ortamında net pozitif yüke, izoelektrik noktalarından daha yüksek pH ortamında ise negatif yüke sahiptirler (Şekil 1.15.) [59,60]. BSA proteini poliamfolit özellik gösterir ve bu proteinin izoelektrik noktası 4.7 civarındadır [61]. Serum albuminler pH değişiklikleri ile geri döndürülebilir konformasyonel izomerizasyona uğrar. BSA'nın izomerik formları Şekil 1.16 ve Şekil 1.17'de gösterilmiştir.



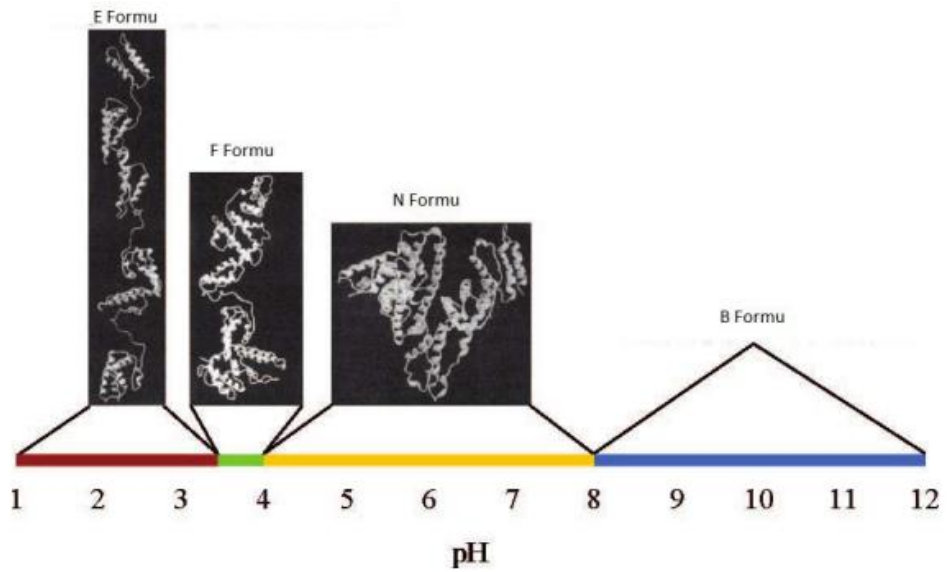
Şekil 1.15. Proteinin izoelektrik noktadaki (pI) net yükü

1.4.2.2.3. BSA'nın İzomerik Formları

N-F geçiş alanı domain III'ün açılmasını içerir. F oluşumu viskozitedeki önemli bir artışla çok düşük çözünürlükle ve sarmal içerikteki önemli bir kayıpla karakterize edilmektedir (Şekil 1.16). 4'ün altındaki pH değerlerinde albumin, domain II'nin heliksine bağlı olan domain I'in içindeki heliksin kaybı ile başka bir genişlemeye uğrar. Bu genişlemiş form (E) yüksek bir intrinsik viskoziteye sahip form olarak bilinir ve hidrodinamik aksel oranında ortalama 4'ten 9'a olan bir artış gösterir. pH 9'da albumin temel form (B) biçimine dönüşür. Albumin çözeltisi pH 9'da ve düşük iyonik güçte 3°C'de 3-4 gün için korunursa (A) formu olarak bilinen başka bir izomerizasyon oluşur (Şekil 1.17).



Şekil 1.16. BSA'nın izomerik formlarının yapısı [62]



Şekil 1.17. Farklı pH'larda BSA'nın konformasyonları [65]

1.4.2.2.4. BSA'ya Sıcaklık Etkisi

Bovin Serum Albumin, ısıtılma işlem gördüğünde iki yapısal değişim aşamasından geçer. 65°C'ye kadar olan ısıtmada meydana gelen yapısal değişiklik tersinir iken bu sıcaklığın üzerinde meydana gelen yapısal değişiklikler tersinmezdir [62].

Şekil değişikliği başlangıç sıcaklığının 58,1 °C ve denatürasyon sıcaklığının 62 °C'de olduğu Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) ile bulunmuştur [63,64].

1.4.2.2.5. BSA'nın Uygulamaları

BSA, ELISA (Enzim Bağımlı İmmunosorbent Tahlili), immunoblotlar ve immunohistokimya dahil birçok biyokimyasal uygulamaya sahiptir. BSA; küçük, stabil ve orta derecede reaktif olmayan bir protein olduğundan immunohistokimya genellikle bloke edici olarak kullanılır. Hücrelerdeki antijenleri tanımlamak için antikorların kullanıldığı bir yöntem olan immunohistokimya uygulamaları sırasında, doku bölgeleri spesifik olmayan bağlanma bölgelerine bağlanmak için genellikle BSA blokerları ile inkübe edilir. BSA'nın spesifik olmayan bağlanma bölgelerine bağlanması, antikorların ilgilenilen antijenlere bağlanma şansını artırır. BSA ayrıca hücre ve mikrobiyal kültürde bir besin maddesi olarak kullanılır [66].

Moleküler biyolojide BSA, DNA'nın enzimatik olarak parçalanması sırasında bazı enzimleri stabilize etmek ve enzimin reaksiyon tüplerine, pipet uçlarına ve diğer tüplere yapışmasını önlemek için kullanılır. Ayrıca bilinmeyen bir protein miktarını bilinen BSA miktarları ile karşılaştırarak belirlemek mümkündür. BSA, gerekli olan enzimlerin stabilizasyonu ve nükleazların yokluğunun gerekli olduğu enzimatik reaksiyonlar için idealdir. Yine moleküler biyolojide BSA, PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) deneylerinde düşük saflıktaki PZR'nin verimini artırır [67-69].

BSA genellikle *in vitro* biyolojik çalışmalarda ve diğer birçok biyokimyasal uygulamalarda düşük maliyeti nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır [70,71].

1.5. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon, bir maddenin diğeri bir madde yüzeyinde veya iki faz arasındaki ara yüzeyde konsantrasyonunun artması ya da bir başka ifadeyle moleküllerin temas ettikleri yüzeydeki çekme kuvvetlerine bağılı olarak o yüzeye birleşmesidir. Bu tanımda kullanılan ara yüzey bir sıvı ile bir gaz, katı veya bir başka sıvı arasındaki temas yüzeyi olabilir. Başka bir tanımlama ile adsorpsiyon, yüzeye saldırma kuvvetlerinden dolayı moleküllerin yüzeylere yapışması olayıdır [72].

Yüzeye tutunan madde için adsorbat terimi kullanılır. Bu madde sıvı ya da gaz olabilir. Tutunulan madde ya da adsorblayan madde ise adsorbent olarak tanımlanır. Katı veya sıvı olabildiği gibi doğal veya yapay olarakta sınıflandırılabilir.

Adsorpsiyon işleminin tersine adsorplanan maddenin ortama geri verilmesine yani yüzeyde derişiminin azalmasına işleme ise desorpsiyon denir.

Adsorbanın yüzeyine moleküller adsorplandıkça yeni moleküllerin adsorpsiyonu için daha az yer kalır ve sonuçta adsorban madde etkin adsorpsiyon özelliğini kaybeder. Adsorban maddeye etkin adsorpsiyon özelliğini yeniden kazandırma işlemine 'geri kazanım' denir.

Adsorpsiyon bir yüzey işlemi olduğu için adsorplama gücü yüzey özelliklerinin önemli bir fonksiyonudur. Adsorbentin yüzey özellikleri arasında adsorpsiyon işlemini etkileyen en önemli parametre yüzey alanı değeridir. Artan yüzey alanı değeri ile adsorpsiyon miktarı artış gösterir. Dolayısıyla, gözenekli malzemeler veya çok ufak parçalara bölünmüş katılar yüksek adsorpsiyon kapasitesi sağlamaktadırlar [73].

Spesifik yüzey alanı 10 ile 1500 m²/g arasında değişen gözenekli malzemeler adsorbent olarak kullanılabilir. Sıkça kullanılan adsorbentler arasında aktif kömür, silika (SiO₂), alumina (Al₂O₃), zeolit ve moleküler elekler yer almaktadır. Bir katı tarafından adsorplanan madde miktarı; adsorbe eden ve edilenin yapısına, adsorbe edenin yüzey özelliklerine, adsorbe edilenin derişimine, işlem sıcaklığına ve basınca bağılıdır [74].

1.5.1. Adsorpsiyon Türleri

1.5.1.1. Fiziksel Adsorpsiyon

Adsorban ve adsorbent molekülleri arasında zayıf van der Waals kuvvetleri etkili olup bu iki molekül arasında herhangi bir elektron alışverişi veya elektron paylaşımının söz konusu olmadığı adsorpsiyon çeşididir. Sıcaklık ile genelde azalmaktadır. Tamamen tersinir özellikte olup adsorbe olan molekül yüzey üzerinde hareketli bir konumdadır. Ayrıca adsorpsiyon ısısı fiziksel adsorpsiyonda 10 kcal/mol'den daha düşüktür.

Fiziksel adsorpsiyon, özellikle düşük derişim aralıklarında ayırmanın gerekli olduğu durumlarda önemli endüstriyel ayırma işlemlerinin temelini teşkil etmektedir. Su buharının havadan veya diğer gazlardan uzaklaştırılması, endüstriyel gaz karışımı içerisindeki karbondioksit, kükürtdioksit gibi safsızlıkların giderilmesi, gaz ve sıvı karışımlardan istenmeyen kokuların uzaklaştırılması, şeker çözeltilisinin renginin giderilmesi gibi endüstriyel ayırma işlemlerinde fiziksel adsorpsiyon yöntemi kullanılmaktadır.

1.5.1.2. Kimyasal Adsorpsiyon

Adsorban ve adsorbent molekülleri arasında karşılıklı elektron alışverişi veya elektron paylaşımının olduğu daha kuvvetli kimyasal bağların oluştuğu adsorpsiyon çeşididir. Tersinmez özelliktedir. Adsorban molekülleri yüzey üzerinde hareket etmezler. Adsorpsiyon genellikle sıcaklıkla birlikte artmaktadır. Kimyasal adsorpsiyonda adsorpsiyon ısısı 40 kcal/mol'den daha büyüktür. Kimyasal adsorpsiyona genellikle katı-katalizörlü reaksiyon sistemlerinde karşılaşılır. Adsorpsiyon enerjisi adsorbe edilenin molü başına 20-100 kilokalori arasındadır. Bu değerler olayın ekzotermik ve endotermik olmasına bağlı olarak kimyasal reaksiyonlardaki reaksiyon ısısı ile yaklaşık aynı değerdedir. Kimyasal adsorpsiyon 'aktif adsorpsiyon' olarak da tanımlanır ve genellikle heterojen katalizörler ile etkileşimlerle meydana gelir [75].

1.5.1.3. İyonik Adsorpsiyon

Zıt elektrik yüklerine sahip adsorbat ile adsorbent yüzeyinin birbirini çekmesi ile oluşmaktadır [76].

1.6. Protein Adsorpsiyonu

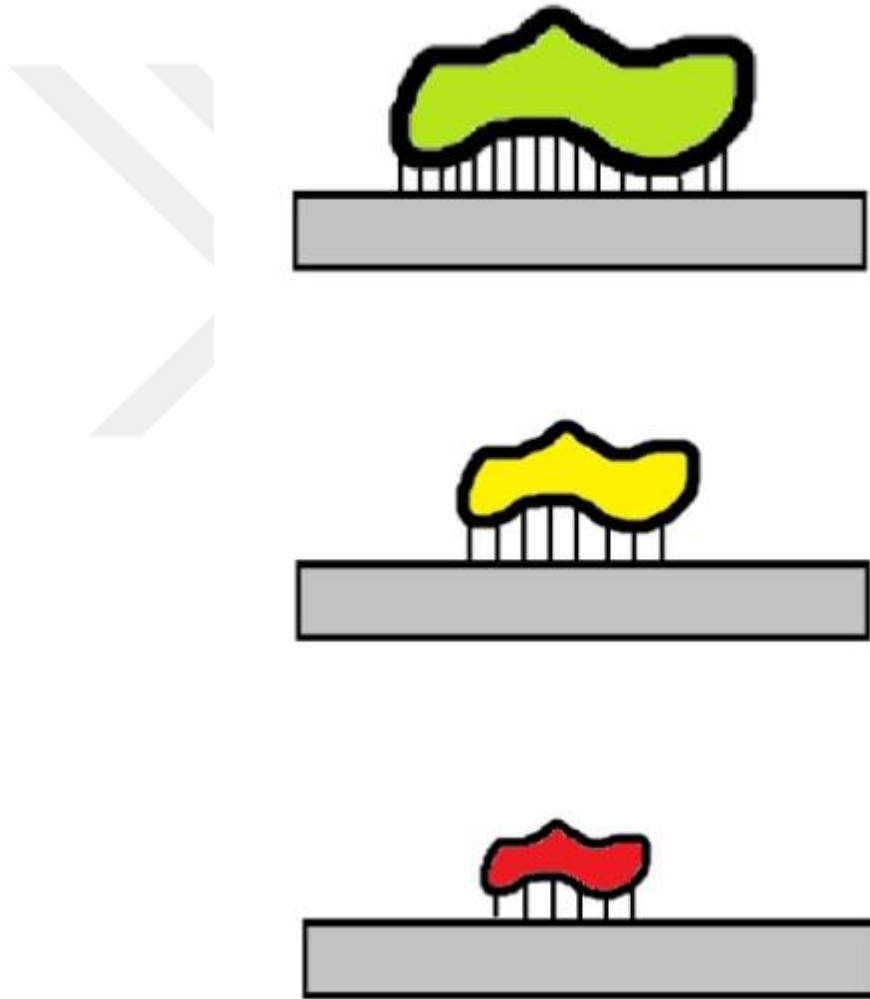
Protein adsorpsiyonu proteinlerin katı yüzeylere yapışmasını ifade eder. Bu işlem, gıda işleme edüstrisinde özellikle sütün işlenmesi, şarap ve bira yapımında önemlidir. Bazı durumlarda protein adsorpsiyonu şaraplarda olduğu gibi gıda kalitesini artırmak için kullanılır. Protein adsorpsiyonunun arkasındaki ana itici güçler; yüzey enerjisi, moleküller arası kuvvetler, hidrofobiklik ve iyonik veya elektrostatik etkileşimlerdir. Bu faktörlerin protein adsorpsiyonunu nasıl etkilediği göz önüne alınarak biyomedikal veya fizyolojik uygulamalarda en uygun yöntemi seçmek için işleme, alaşımlama gibi mühendislik teknikleri yönlendirilebilir [77-79].

Biyomedikal alanda protein adsorpsiyonu göz önüne alındığında polimerler büyük öneme sahiptir. Polimerler tipik olarak kovalent bağlarla art arda birbirine bağlanmış bir veya daha fazla 'mer' tipinden oluşur. Malzemenin fiziksel ve kimyasal özellikleri monomerin moleküler yapısı tarafından belirlenir. Bir polimerdeki 'mer' birimlerinin tipini ve üretim prosesini dikkatlice seçerek bir polimerin fiziksel ve kimyasal özellikleri, belirli bir uygulama için spesifik proteinleri adsorplayacak şekilde yüksek oranda uyarlanabilir [80].

Proteinler aminoasit alt birimlerinden oluşan biyomoleküllerdir. Her bir aminoasit, çevredeki ortamın pH'ına ve kendi bireysel polar veya polar olmayan niteliklerine bağlı olarak yük kazanan veya kaybeden bir yan zincire sahiptir. Yüklü bölgeler, bir proteinin diğer moleküllerle ve yüzeylerle etkileşiminin yanı sıra kendi üçüncül yapısına (protein katlanması) büyük ölçüde katkıda bulunur. Hidrofobikliklerinin bir sonucu olarak, yüklü aminoasitler, yüzeylerle etkileşime girebilecekleri proteinlerin dışına yerleştirilme eğilimindedirler.

Bir proteine kendine has özelliğini kazandıran o proteine özgü aminoasit kombinasyonudur. Yüzey kimyası açısından proteinlerin aminoasit kombinasyonları adsorpsiyonda kritik bir öneme sahiptir. Proteinlerin bir yüzeye bağlı kalma eğilimi büyük ölçüde yüzey enerjisi, bağlı yük dağılımı gibi malzeme özelliklerine de bağlıdır.

Daha büyük proteinlerin, yüzeye olan temasının daha fazla olmasına bağlı olarak adsorpsiyonları daha olasıdır (Şekil 1.18).



Şekil 1.18. Protein boyutunun bir yüzeye etkileşimine etkisi

Protein adsorpsiyonu ayrıca biyomedikal alanda implantlara kan proteinlerinin adsorpsiyonunu anlamak için kullanılmaktadır. Protein adsorpsiyonu proteinde konformasyonel değişikliğe neden olur. Konformasyonel değişikliklerin derecesi proteinin stabilizasyonu, hidrofobikliği, protein yükü ve yüzeyin yüküyle belirlenmektedir. Proteinin özelliklerine ve sorbent yüzeyinin hidrofobik veya hidrofilik olmasına göre adsorpsiyon oluşmaktadır. Proteinlerin adsorpsiyonu tersinir bir işlemdir ve ortam şartları değiştirilerek desorpsiyonları mümkündür. Maksimum adsorpsiyon, proteinin izoelektrik noktasına yakın değerlerde meydana gelmektedir [79,80].

1.6.1. Protein Adsorpsiyonunu Etkileyen Faktörler

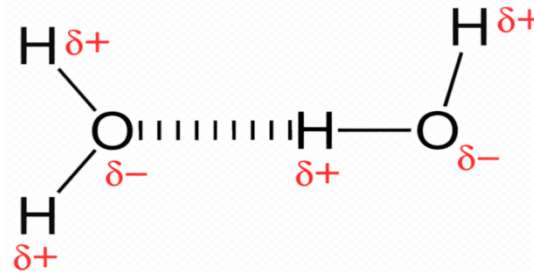
Protein adsorpsiyonunda; iyonik veya elektrostatik etkileşim, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler, ve yük transferleri olmak üzere dört temel kuvvet sınıfı ve etkileşim vardır.

1.6.1.1. İyonik veya Elektrostatik Etkileşimler

Proteinlerin yükü; aminoasit yan zincirlerinin pKa değerleri, terminal aminoasit ve karboksilik asit ile belirlenir. Fizyolojik koşulların üstündeki bir izoelektrik noktaya sahip proteinler pozitif bir yüke sahipken bu değerin altındaki izoelektrik noktaya (pI) sahip proteinler negatif elektrik yüke sahiptirler. Bileşenlerinin toplam yükü ile belirlenen proteinin net yükü, fizyolojik bir elektrik alanda elektroforetik güç ile sonuçlanır. Bu etkiler, suyun dielektrik sabiti nedeniyle kısa sürelidir ancak; protein yüklü bir yüzeye yaklaştığında elektrostatik bağlanma baskın güç haline gelir [81].

1.6.1.2. Hidrojen Bağları

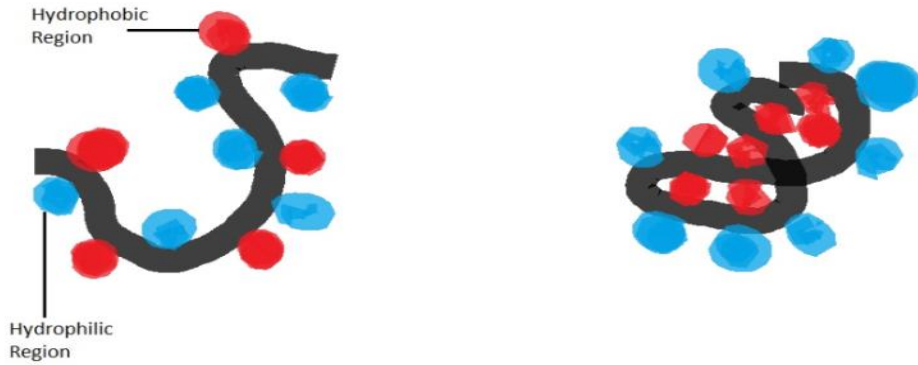
Su, bir polipeptitteki herhangi bir grup gibi hidrojen bağları oluşturma eğilimindedir (Şekil 1.19). Bir katlanma ve birleşme işlemi sırasında peptit ve aminoasit grupları, su ile hidrojen bağlarını değiştirir. Bu nedenle hidrojen bağı sulu bir ortamda protein adsorpsiyonu üzerinde güçlü bir dengeleyici etkiye sahip değildir [82].



Şekil 1.19. Hidrojen bağı oluşturmak için etkileşime giren iki su molekülü

1.6.1.3. Hidrofobik Etkileşimler

Hidrofobik etkileşimler sulu bir ortamdaki düzen ya da düzensizlik olaylarından dolayı temel olarak entropik etkileşimlerdir. Entropik etkileşimlerdeki serbest enerji su damlacıklarının ve hava kabarcıklarının sudaki yüzey alanlarının en aza indirilmesinden sorumludur [82,83]. Bu prensip hidrofobik aminoasit yan zincirlerinin su ile etkileşimlerini en aza indirerek sudan uzağa yönlendirilmelerinin bir nedenidir. Molekülün dışındaki hidrofilik gruplar proteinin suda çözünmesini sağlar. Bu işlemin karakterizasyonu hidrofobik etkileşimlerin ara yüzey serbest enerji kavramları ile muamele edilmesiyle yapılabilir. Buna göre bu etkileşimlerin itici gücü toplam ara yüzey serbest enerjisinin en aza indirilmesi yani yüzey alanının en aza indirilmesi olarak düşünülebilir (Şekil 1.20).



Şekil 1.20. Hidrofobik ve hidrofilik bölgelerin suyla etkileşimi için proteindeki şekil değişikliği

1.6.1.4. Y¼k-Transfer Etkileşimleri

Y¼k-transfer etkileşimleri protein stabilizasyonunda ve yüzey etkileşiminde önemli bir yer teşkil etmektedir. Genel olarak verici-alıcı işlemlerinde, bir elektrofilik Alana verilen elektron yoğunluğunun mevcut olduğu düşünülebilir. Sulu ortamlarda, bu çözünen madde etkileşimleri temel olarak pi orbital elektron etkilerinden kaynaklanmaktadır [83].

1.6.2. Protein Adsorpsiyonunu Etkileyen Diğer Faktörler

1.6.2.1. Sıcaklık

Sıcaklık hem denge durumu hem de protein adsorpsiyonunun kinetiği üzerinde etkilidir. Yüksek sıcaklıkta adsorbe edilen protein miktarı genellikle oda sıcaklığında yapılan protein adsorpsiyonundan fazladır. Sıcaklık değişimi, protein adsorpsiyonunu etkileyen konformasyonel değişikliklere neden olur.

Proteinlerdeki bu konformasyonel yeniden düzenlenmeler, protein adsorpsiyonu için ana itici güç olarak hareket eden bir entropi kazancına neden olur. Protein adsorpsiyonu üzerindeki sıcaklık etkisi, özellikle ısı işlem yapılan ekipmanın duvar yüzeylerinde ağır kirlenmeye neden olan süt gibi sıvı gıdaların üretim sürecinde görülebilir [84].

1.6.2.2. İyonik Etki

İyon gücü, bir elektrolit içindeki sabit bir yükün elektrik potansiyelinin sönümleme mesafesiyle ilişkili olan Debye uzunluğunu belirler. Bu nedenle iyonik kuvvet arttıkça yüklü birimler arasındaki mesafe kısalır. Sonuç olarak yüklü proteinlerin karşılıklı yüklü substratlara adsorpsiyonu engellenirken benzer yüklü substratlara adsorpsiyonu arttırılmış olur. Bu durumda adsorpsiyon kinetiğini etkiler. Ayrıca yüksek iyon gücü, proteinlerin birikme eğilimini artırır [84].

1.6.2.3. Çok Proteinli Sistem

Bir yüzey çok proteinli bir çözeltiye maruz kaldığında, belirli protein moleküllerinin adsorpsiyonu diğerleri üzerinden tercih edilir. Yüzeğe yaklaşan protein molekülleri yüzey üzerindeki bağlanma yerleri için rekabet eder. Çok proteinli sistemde moleküller arasında çekim kuvveti olabilir. Fakat tek proteinli çözeltilerde moleküller arasındaki itici etkileşimler baskın durumdadır [84,85].

1.6.2.4. Zaman

Protein moleküllerinin başlangıç aşamasında yüzeyde minimal bağlanma bölgeleri ile temas ettiği zamana bağlı bir protein yayılımı vardır. Proteinlerin yüzeyde kalma süresinin artmasıyla proteinler yüzeydeki ek bağlanma bölgeleriyle etkileşime girebilir. Bu durum, protein ve yüzey arasındaki temas noktalarında zamana bağlı bir artışla sonuçlanır. Dolayısıyla bu durum proteinin desorpsiyon ihtimalini azaltan bir süreçtir [85].

1.7. Protein Tayin Yöntemleri

Toplam protein tayini genel bazı yöntemlere dayanır. Bunun için günümüze kadar direkt ve indirekt teknikler geliştirilmiştir. Günümüzde protein tayinleri genellikle UV-spektrofotometrik temellidir veya proteinin görünür bölgede oluşturduğu ürünün kimyasal yöntemlerle belirlenmesine dayanmaktadır.

Bir çözeltideki toplam protein miktarının belirlenmesi; bilimsel araştırmalarda, gıda analizlerinde, endüstriyel ve biyoteknolojik bir çok ürünün analizinde kullanılmaktadır. Ayrıca proteinlerin saflaştırılma basamaklarında mutlaka protein tayinleri yapılmalıdır [86,87].

1.7.1. UV B ÷lgedeki Spektrofotometrik Öl ç÷mler

1.7.1.1. 280 nm'deki Öl ç÷mler

Proteinlerin içerdiği fenilalanin, tirozin (fenol halkası) ve triptofan (indol halkası) aminoasitlerinden dolayı 280 nm'de absorbans göstermesinden yararlanılarak protein tayini yapılmaktadır. Bu yöntemle 0.05-2.0 mg/ml protein miktar tayini yapılabilir. Özellikle ortamda pürin ve pirimidin bazlarını içeren DNA ve RNA olduğu zaman bu yöntem bu maddelerin girişiminden etkilenmektedir. Yöntem çok duyarlı değildir ancak protein örneğinde bir ön işleme gerek olmadan yapılan kolay ve hızlı bir yöntem olması nedeniyle çok kullanılmaktadır [88,89].

1.7.2. Uzak UV b ÷lgedeki Öl ç÷mler

Proteinlerde bulunan peptit bağları 191-194 nm'de bir maksimum absorbans gösterirler. Pratik ve kolay bir yöntemdir ancak deneyde kullanılan tampon çözeltilerle girişimlerin olması dezavantajdır. Bu nedenle protein tahlilinde fazla kullanılmamaktadır. Aminoasit bileşimine bağlı olmadığı için bu yöntem 280 nm'deki ölçümlere göre daha avantajlıdır [90].

1.7.3. Gör ünür B ÷lgedeki Spektrofotometrik Öl ç÷mler

1.7.3.1. Bi üre Yöntemi

Yöntem, alkali koşullar altında Cu^{+2} iyonlarının protein ve peptit moleküllerindeki peptit bağı azotuyla bağ oluşturmasıyla meydana gelen mavi-mor rengin 540-569 nm'de verdiği absorpsiyonu esas almaktadır. Yöntemin en önemli dezavantajı duyarlılığın düşük olmasıdır (1-6 mg protein/ml). Ancak pratik bir yöntem olması sebebiyle geniş çapta kullanılmaktadır. Cu^{+2} iyonlarının ana zincire bağlanması nedeniyle aminoasit çeşitlerinin ölçümler üzerinde herhangi bir etkisi yoktur [87,91].

1.7.3.2. Lowry Yöntemi

Lowry yöntemi, alkali koşullarda meydana gelen iki farklı reaksiyona dayanmaktadır. Bunlardan birincisi amid bağları ile bakır arasında meydana gelir ve indirgenmiş bakır oluşumu ile sonuçlanan Biüret reaksiyonudur. İkinci reaksiyon ise, Folin-Crocalteu ayırıcının (fosfomolibden ve fosfotungsten) tirozin ve triptofan aminoasitleri ile tepkimeye girerek indirgenmesidir. İndirgenmiş ayıraç mavi renktedir ve 500-700 nm arasında absorbans verir; ancak çoğu zaman tercih edilen değer 660 nm'dir. Bu iki reaksiyonun bir arada gerçekleşmesi Biüret reaksiyonu hassasiyetini 100 kat artırmaktadır. Normalde yöntemin hassasiyet aralığı 5-100 µg/ml'dir.

Lowry yöntemi, pH hassasiyeti göstermektedir. Ortam pH'sı 10-10.5 olmalıdır. Yöntem pek çok farklı tamponun içeriğinde yer alan Tris, EDTA ve potasyum bileşikleri ile etkileşime girebilir ve bu durumda yanıltıcı absorbans değerlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Yöntem triptofan ve tirozin içeriği fazla olan proteinlerin miktar tayini için avantajlıdır; çünkü Lowry yönteminin ayırıcı bu aminoasitlere karşı daha fazla hassasiyet göstermektedir [88-90].

1.7.3.3. Warburg-Christian Yöntemi

Bu yöntemde diyaliz ya da fraksinasyon yoluyla protein olmayan maddelerin uzaklaştırılmasından sonra 260-280 nm'de UV absorpsiyon analizleri yapılmaktadır. Proteinlerin triptofan ve tirozin reziduları 275-280 nm'de UV absorbansını artırır; çünkü beraber durumdaki bu iki aminoasitin saf bir protein çözeltisindeki derişimleri bir çok proteinde genellikle sabittir [89,90].

1.7.3.4. Bradford Yöntemi

Bir kolorimetrik protein tahlili olan Bradford yöntemi, boya Coomassie Brilliant Blue G-250'nin absorbansına dayanır. Yöntem oldukça duyarlıdır (5-100 µg protein/ml). Renk oluşumunda proteinin aminoasit bileşiminin (özellikle arginin gibi bazik aminoasitler ile aromatik aminoasitler) reaksiyon üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Bradford yönteminde 595 nm'de absorbans veren mavi rengin ölçümü

esnasında cam ve polistiren küvetler kullanılmakta olup cam küvetlerde rengin absorpsiyonu bir kullanımlık polistiren küvetlerin tercih edilmesine yol açar. Cam küvetlerin kullanılması durumunda 0,1 M HCl çözeltisinde küvetleri bekletme işleminin ardından su ve asetonla yıkama işlemi gerekmektedir.

Bradford protein tayini yönteminin prosedürünü takip etmesi kolaydır. Yöntem, Bradford reaktifinin numune ile birlikte bir test tüpüne aktarıldığı bir aşamada gerçekleşir. İyiye karıştırıldıktan sonra karışım anında mavi bir renge dönüşür. Boya, proteinlere yaklaşık iki dakika süren bir işlemle bağlandığında asidik çözeltilerde boyanın absorpsiyon değerinde 465 nm ile 595 nm arasında bir değişiklik meydana gelir. Coomassie Brilliant Blue G-250 boyası amino ve karboksil grupları ile elektrostatik etkileşimler ve ayrıca van der Waals etkileşimleriyle proteinlerde güçlü kovalent olmayan bağlar oluşturur. Yalnızca çözelti içindeki proteinlere bağlanan moleküller, absorbantta bu değişikliği sergilerler. Bu durum ise boyadaki bağlanmamış moleküllerin deneysel olarak elde edilen absorpsiyon okumasına katkıda bulunabileceği endişesini ortadan kaldırır [92].

Bu yöntem, diğer yöntemlerden daha ucuz, kullanımı kolay ve duyarlılığı yüksek olduğu için daha avantajlıdır. 5 dakikalık inkübasyonun ardından absorbans kolaylıkla erişilebilen bir makine olan spektrofotometre yardımıyla 595 nm'de okunabilir [93].

Bu yöntem proteinler üzerinde gerçekleştirilen en hızlı tahlillerden biridir. Testin kurulması ve tamamlanması için geçen toplam süre 30 dakikadan az bir sürede gerçekleşmektedir ve tüm deney oda sıcaklığında gerçekleştirilmektedir [94].

1.8. Proteinlerin Kromatografik Yöntemlerle Saflaştırılması

Kromatografi esasen bir karışımdaki bileşiklerin birbiri ile karışmayan farklı iki faz arasındaki dağılımlarıyla ayrılmalarını sağlayan fiziksel bir ayırma yöntemidir. Bu fazlardan bir tanesi gözenekli bir yatak, tabaka veya film şeklinde ve genellikle hareketsiz olan sabit faz iken, diğeri sabit faz boyunca bu fazın üzerinden akan hareketli fazdır.

Kromatografi; kimya biyoteknoloji, gıda ve tıp alanlarında analizde, izolasyonda ve saflaştırmada en çok kullanılan ayırma tekniğidir. Buna ek olarak, genellikle sanayide küçük ve büyük ölçekli üretimlerde prosesin bir parçası olarak kullanılmaktadır. Protein saflaştırma işlemi için yöntemlerin geliştirilmesi kimya, biyoloji, gıda ve tıp alanlarında yapılan birçok gelişme için önemli bir ön koşuldur [95].

Protein saflaştırma, basit tek bir aşamada çöktürme işlemiyle veya büyük ölçekli onaylanmış proseslerle yapılmaktadır. Genel olarak, birden fazla aşamada yapılan saflaştırma işlemi istenilen saflığa ulaşmak için önemlidir. Saflaştırma işleminde kullanılacak olan yöntemler proteinlerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri dikkate alınarak seçilmelidir [96].

Genellikle tek bir proteinin istenilen saflıkta elde edilebilmesi için birden fazla saflaştırma basamağına ihtiyaç vardır. Spesifik bir proteinin bir karışımdan izole edilebilmesi için bu proteinin kendine özgü fiziksel ve kimyasal özelliklerinin bilinmesi ve bu bilgiler doğrultusunda uygun saflaştırma yönteminin seçilmesi gerekir. Her türlü proteini saflaştırmak için tek ya da basit bir yöntem yoktur. Bir proteinin saflaştırma işleminde yararlanılan prosedürler ve koşullar, başka bir proteinin inaktivasyonu ile sonuçlanabilmektedir [97].

Proteinlerin çözünürlük, yük, boyut ve spesifik bağlanma gibi özelliklerindeki farklılıklar onların başarılı ve verimli bir şekilde buldukları ortamdaki diğer proteinlerden ayrılmalarını sağlamaktadır. Proteinlerin yüzeyinde yer alan polar ve hidrofobik aminoasitler proteinlerin çözünürlüğünü etkilerken; yapısında bulunan aspartik asit, glutamik asit, lizin, arginine ve histidin aminoasitleri proteinlerin yük özelliklerini etkilemektedir.

Farklı yüke sahip proteinler iyon değişim kromatografisi, polar ve polar olmayan proteinler hidrofobik kromatografi, belirli bir bileşik ile birleşme eğilimi gösteren proteinler afinite kromatografisi ve farklı boyuttaki proteinler ise jel filtrasyon kromatografisi ile etkili bir şekilde ayrılmaktadırlar [95,96].

Proteinler stabil yapıda değildir ve yüksek sıcaklık ve ekstrem pH koşullarında

organik çözücüler ve oksidatif atmosfer varlığında kolayca denature olabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı herhangi bir kromatografik ayırma işlemi sırasında bu faktörlerin önemli düzeyde dikkate alınması gerekmektedir.

Kromatografi; gıda, kimya, biyoloji, tıp ve çevre alanlarında yaygın olarak yararlanılan bir tekniktir. Temel olarak iyon değişim kromatografisi, hidrofobik etkileşim kromatografisi, afinite kromatografisi ve jel filtrasyon kromatografisi olmak üzere dört çeşit standart kromatografik ayırma yöntemi vardır.

Bu yöntemlerden ayrı olarak geleneksel afinite kromatografisinden bazı farkları ve avantajları olan, son on yılda yaygınlaşan bir teknik ise afinite membran kromatografisidir [95-97].

1.8.1. Afinite Membran Kromatografisi

Afinite kromatografisi, ayrı fiziksel veya kimyasal özelliklerden ziyade biyolojik fonksiyonlara dayalı protein saflaştırmasına izin veren tek teknik olduğundan ayırma yöntemleri arasında benzersizdir. Afinite kromatografisinin yüksek özgüllüğü, ligand ile ilgilenilen proteinler arasındaki güçlü etkileşime bağlıdır. Membranlarla proteinlerin ayrılması işlemi, hızlı reaksiyon kinetiğine sahip bir sistem sağlayan yapısı sayesinde, büyük miktarda numunenin nispeten kısa sürede işlenmesine izin verir. Membran ve afinite kromatografisinin entegrasyonu, geleneksel afinite kromatografisine göre birtakım avantajlar sağlar [98].

Geleneksel kromatografideki mevcut sınırlamalar, nispeten zaman alıcı, kolonlarda yüksek basınç düşüşü, matrisin gözenekleri içinde çözünen maddenin yavaş difüzyonunu içerir. Membran kromatografisi, son on yılda geliştirilen önemli kromatografik yöntemlerden biridir [99,100].

Membranlarla yapılan kromatografik ayırma işleminin yüksek verimli olmasının nedeni, ince bir şekilde düzenlenmiş ve iyi kontrol edilebilen makro gözenekli polimerik sabit fazların ince katmanlarının 2-3 mm kalınlığındaki katı diskler şeklinde kullanılmasına dayanır. Adsorpsiyonu yapılacak ve ortamdaki bir membranla ayrılacak proteinlerin ilgili membrana bağlanması için, bu proteinin membrana

afinite göstermesi gerekmektedir. Bu amaçla membranın proteinin özelliğine göre kimyasal olarak modifiye edilmesi gerekmektedir. Bunun için öncelikle adsorpsiyonu yapılacak proteinin özelliklerine göre afinite membranı belirlenir ve sonrasında bu membran proteinin afinite duyacağı ve kolaylıkla bağlanabileceği şekilde modifiye edilir [101,102].

Afinite membran kromatografisinde çözeltinin gözenekler boyunca konvektif akışının bir sonucu olarak kütle transfer direnci muazzam şekilde azaltılmaktadır. Bu işlem; adsorpsiyon, yıkama, elüsyon ve rejenerasyon adımlarını büyük ölçüde hızlandırır. Membran desteğinin makro gözenekli yapısı nedeniyle, membrane kromatografisi daha düşük bir basınç düşüşüne, daha yüksek akış oranına ve kolon kromatografisine göre daha yüksek üretkenliğe sahiptir [102-105].

Biyoteknolojideki hızlı gelişmeler ve polipeptitlerin, proteinlerin ve polinükleotitlerin farmasötik potansiyeli, büyük miktarlardaki saflaştırmalar için güvenilir ve verimli yöntemler gerektirmektedir [105-111].

Yapılan birçok çalışma, adsorptif membranların iyon değişim membranlarının, afinite membranlarının, ters-faz membranlarının ve hidrofobik entegrasyon membranlarının teorik açıklamalarını ve optimum tasarımlarını açıklamaya çalışmış ve adsorptif membran kromatografisinin temel mekanizmalarını ve uygulamalarını tarif etmişlerdir. Bu araştırmalarda kullanılan afinite membranlarının hazırlanmasında genellikle üç adım söz konusudur. Bunlar;

- Temel membranların hazırlanması
- Membranların aktive edilmesi
- Afinite ligandlarının aktive edilmiş membranlara bağlanmasıdır.

Afinite membrane kromatografisi için kullanılan ideal membrane substratları; hızlı bir işlem için uygun gözenek yapıları ve mekanik dayanım gösterme, ligandların daha fazla bağlanması için reaktif grupların mevcudiyeti (-OH, -NH₂, -SH, -COOH), nispeten ağır kimyasal koşullarda ve yüksek sıcaklık koşullarında fiziksel ve kimyasal stabilite gösterme, protein aktivitesinin daha yüksek bir şekilde geri kazanımı için hidrofilik bir yüzeye sahip olma gibi koşulları sağlamalıdır [98].

Proteinlerin adsorpsiyonunda ticari olarak temin edilebilir birçok malzeme vardır ve bunlar organik, polimerik, inorganik ve kompozit malzemeleri içerir. Bunlara örnek olarak ince tabaka yapısına sahip selüloz [112-117], rejenere selüloz [118], selüloz/GMA kompoziti [119-124], kitin ve kitosan [125-128]; lifsi yapıya sahip poliamit [128-135], polietilen [136,137], poli(etilen vinil alkol) [138], poli (propilen) [139] verilebilir.

1.9. Literatür Araştırması

Literatürdeki, BSA ile farklı membranlara yapılan adsorpsiyon deneyleri Çizelge 1.3'te özetlenmiştir [140-157].

Çizelge 1.3. Farklı malzemelerle gerçekleştirilen BSA adsorpsiyonları [142-160]

Araştırmacılar	BSA Derişimi	Adsorban Türü ve Derişimi	DeneySEL Koşullar	İzoterm Modeli	Adsorpsiyon Kapasitesi (mg/g)
Jiang, 2013	0 – 3 mg/mL	Silika kaplamalı manyetik nanoparçacık, 0.3 mg/mL	25 °C – pH 6	Langmuir	235
		Nano TiO ₂ , 6.67 mg/mL			155
		Bulk TiO ₂ , 133.3 mg/mL			8
		Nano SiO ₂ , 26.6 mg/mL			107
Song, 2012	0.1-12 mg/mL	Bulk SiO ₂ , 266.6 mg/mL	25 °C - pH 7	Langmuir	5.99
		α-Al ₂ O ₃ , 33.3 mg/mL			38.8
		γ-Al ₂ O ₃ , 6.67 mg/mL			307.1
		Bulk Al ₂ O ₃ , 126.66 mg/mL			25.1
Kamran, 2012	0.05-2 mg/mL	Fe ₃ O ₄ , 4 mg/mL	25 °C - pH 6.5	Langmuir	181.8
Mavropoulos, 2011	1 mg/mL	Hidroksiapatit, 12.5 mg/mL	37 °C - water	-	39.1
Dizge, 2011	0.05-2 mg/mL	Aktif karbon, 0.25- 50 mg/mL	23 °C - pH 7.2	Langmuir	13.35
Ravindran, 2010	0.05-0.85 mg/mL	Nano Ag, 50 ppm	25°C	Langmuir	130
Sezões, 2010	Belirtilmemiş	Silika, 5 mg/mL	25 °C - pH 5	Langmuir	608

Araştırmaçılar	BSA Derişimi	Adsorban Türü ve Derişimi	DeneySEL Koşullar	İzoterm Modeli	Adsorpsiyon Kapasitesi (mg/g)
Liang, 2010	0.1-2.5 mg/mL	Silika kaplamalı MnFe ₂ O ₄ , 0.3mg/mL Modifiye silika kaplamalı MnFe ₂ O ₄ , 0.3 mg/mL	25 °C - pH 3.8 - NaCl 5 °C - pH 5.1	Langmuir	100 164
Srisuvan, 2009	1 mg/mL	İpek fibroin mikro küreleri	37 °C - pH 7.4 - PBS	-	16
Kopac, 2008	0.5 mg/mL	TiO ₂ , 8-14 mg/mL	40 °C - pH 4 - NaCl	Langmuir	42.6
Xu, 2008	0.2 mg/mL	Sentetik karbon, 4 mg/mL Ticari aktif karbon, 4 mg/mL	25 °C	-	176 36
Li, 2007	Belirtilmemiş	Poli(metil) metakrilat, 40 mg/mL	37 °C - pH 4.3	-	5
Qiao, 2007	0.5 - 15 mg/mL	Silika, 10 mg/mL	25 °C - 4.7	Langmuir	222
Sekaran 1996	0.1 - 0.5 mg/mL	Aktif karbon, 3.5 g	40 °C - pH 7 - 0.6 M NaCl	Langmuir	3.22
Sigal 1987	2.5 mg/mL	Aktif karbon, ~20 mg/mL	25 °C - pH 5.7	-	312
Wu, 1982	0.955 mg/mL 0.955 mg/mL	Aktif karbon, 5 mg/mL Fenolik reçine 4.38 mg/mL	25 °C - pH 5.27 25 °C - pH 4.93	- -	27.3 202

1.10. Tezin Amacı

Geleneksel afinite kromatografisine kıyasla bazı avantajlara sahip afinite membran kromatografisi, son on yılda proteinlerin saflaştırılması ve ayrılmasında çok kullanışlı bir yöntem olmuştur. Bu yöntemin mantığı, adsorbe edilecek proteinin özelliğine göre adsorban olarak kullanılacak olan membranda bazı modifikasyonlar yapmaktır. Bu tez kapsamında BSA, fiziksel ve kimyasal özellikleri iyi bilinen bir protein olduğu için model protein olarak seçilmiştir.

Bu çalışmada adsorban madde olarak PET lifler seçilmiş ve adsorpsiyon kapasitesinin artırılması amacıyla modifiye edilmiştir. Çeşitli şekillerde modifiye edilen PET liflerin hangisinin maksimum adsorpsiyon yeteneğine sahip olduğu araştırılacak ve bu araştırmalar sonunda pH, süre, sıcaklık gibi optimum deney koşulları belirlenecektir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Deneyde Kullanılan Cihaz ve Düzenekler

Termostat (Sirkulasyonlu yağ ve su banyosu Selectra Unitronic OR)

Et üv (Elektromag M 5040B)

Analitik Terazî (RADWAG AS 220.R2)

Monomer Distilasyon Sistemi

Polimerizasyon Sistemi (100 mL'lik gaz girişli pyreks tüp, geri soğutucu)

Sokslet Sistemi

FTIR Spektrofotometresi (Vertex 70V, Bruker marka, Amerika)

pH metre (HANNA marka 221 model dijital)

Azot Gazı Tüpü

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (JSM5600 model, Jeol marka, Japonya)

Otoklav (Hirayama marka HG 80 model)

UV-Visible Spektrofotometresi (Perkin Elmer Lambda 25)

2.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar

PET (SASA (Sun'i ve Sentetik Elyaf A.Ş))

Aseton (Sigma-Aldrich)

1,2-Diklor Etan (DCE) (Fluka)

Distile su (dH₂O)

Hidrojen Peroksit (Sigma)

Toluen (Carlo Erba)

Metanol (Sigma-Aldrich)

Etanol (Sigma-Aldrich)

Asetik Asit (Sigma-Aldrich)

Hidrojen Klorür (HCl) (Sigma-Aldrich)

Benzoil Peroksit (BPO) (MERCK)

Sodyum Hidroksit (NaOH) (Sigma-Aldrich)

Glisidil Metakrilat (GMA) (Fluka)

Sülfirik Asit (H₂SO₄) (Sigma-Aldrich)

Hegzametilen Diamin (HMDA) (MERCK)

Etilen Diamin (EDA) (Sigma-Aldrich)

Bakır (II) (MERCK)

Bovine Serum Albumin (BSA) (MERCK)

2.3.Y üntem

2.3.1. PET Liflerin Şişirilmesi İşlemi

0,30 ± 0,01 g kütlesinde hassas terazide tartılan PET lifler deney esnasında bozucu etki yapabilecek kirlilikleri uzaklaştırmak için asetonla 6 saat süreyle soxhlet sistemi kullanılarak yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra lif numuneleri sabit tartıma getirilmiş ve liflerin şişirilme işlemi için 100 ml'lik pyreks tüplere konulmuştur. Lif numunelerinin şişirilme işlemi DCE içerisinde 90 °C'de 2 saat boyunca çalkalamalı su banyosunda gerçekleştirilmiştir. İşlem snucunda lif üzerinde kalmış olan fazla çözücü maddeler filtre kağıdı yardımıyla alınarak bir sonraki işlem olan aşı kopolimerizasyon ortamına alınmıştır [158,159].

2.3.2. Aşı Kopolimerizasyon Yöntemi

Aşı kopolimerizasyonu için GMA [160] monomeri kullanılmıştır. PET lifler DCE içerisinde şişirildikten sonra 100 ml'lik polimerizasyon tüplerine konulmuştur. Tüplere belirli miktarlarda GMA eklenmiştir. Başlatıcı eklenmeden önce polimerizasyon tüpleri su banyosunda belirlenen sıcaklıkta termal dengeye ulaşması için 15 dk bekletilmiştir. Polimerizasyon tüplerindeki 18 ml'lik çözeltilerin içerisine başlatıcı olarak 2 ml asetonla çözülmüş benzoil peroksit (Bz_2O_2) ilave edilerek çözelti 20 ml'ye tamamlanmış ve optimum sıcaklıktaki su banyosuna konulmuştur. 2 saatlik süre sonunda lif numuneleri su banyosundan ve polimerizasyon tüplerinden alınarak 48 saat boyunca Soxhlet sisteminde uygun yıkama çözücüleriyle yıkanarak lif üzerindeki istenmeyen homopolimerlerden uzaklaştırılmıştır. Etüv'de 50°C 'de kurutulmuş ve tartılmıştır [161].

Aşılama verimi (% Aşı), orjinal lif ve aşıllanmış liflerin ağırlıklarından aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır [162].

$$\% \text{ Aş1} = [(m_A - m_0)/m_0] \times 100 \quad [2.1]$$

m_A = Aşılanmış lifin kuru kütlesi,

m_0 = Orijinal lifin kuru kütlesidir.

2.3.3. GMA-g-PET Liflerin Modifikasyonu

GMA aşılanmış PET liflerinin modifikasyonu amacıyla aminleme ve Cu^{2+} iyonlarının bağlanması işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Aminleme işlemi: Aminleme işleminde heksametilen diamin (HMDA) ve etilen diamin (EDA) aminleri kullanılmıştır. 50 ml'lik erlenlerde gerçekleştirilen aminleme işleminde 30 ml %50'lik HMDA-etanol ve 30 ml %50'lik EDA-toluen çözeltilerine %30, %50, %100, %150, %200 aşılama oranına sahip lifler atılmıştır. HMDA çözeltisine atılan lifler 110 rpm hızındaki çalkalayıcı su banyosunda 50 °C'de 30 dk, EDA çözeltisine atılan PET lifler ise 25 °C'de 1 saat boyunca karıştırılmıştır. HMDA ile aminlenmiş lifler etanol çözeltisinde, EDA ile aminlenmiş lifler ise toluen çözeltisinde Soxhlet sisteminde 6 saat boyunca yıkanmış ve etüvde 50 °C'de kurutulmuştur [163].

Cu^{2+} iyonlarının bağlanması: Cu^{2+} kaynağı olarak $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi kullanılmıştır. Önce 1000 ppm konsantrasyonunda stok çözeltisi hazırlanmıştır. Çözücü olarak deiyonize H_2O kullanılmıştır. Daha sonra deneyde kullanılacak konsantrasyon olan 200 ppm'e aşamalı olarak seyreltilmiştir. 50 ml 200 ppm'lik her bir erlene değişik oranlarda aşılanmış GMA-g-PET lifler tüm olarak atılmış ve 25 °C'de 1 saat boyunca 110 rpm hızındaki çalkalayıcı su banyosunda karıştırılmıştır. Cu^{2+} bağlanan lifler 8 saat boyunca su ile yıkanmış ve etüvde 50 °C'de kurutulmuş bir sonraki işlem olan protein adsorpsiyonu ortamına alınmıştır.

2.3.4. Polimerin Karakterizasyonu

2.3.4.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

SEM analiz yöntemi JEOL Model JSM 5600 kullanılarak original PET ve GMA monomeri aşılanmış PET liflerinin yüzey özelliklerini ve morfolojisini incelemek için

yapılmıştır.

2.3.4.2. FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) Analizi

Orijinal ve GMA monomeri aşılansmış PET lif örnekleri KBr pelletler hazırlanarak Jasco FT-IR 420 plus model spektrometresi ile analiz edilmiştir.

2.3.5. Bradford Yöntemi ile Protein Miktar Tayini

Kolorimetrik bir protein tahlil yöntemi olan Bradford yöntemi boya Coomassie Blue G-250'nin absorbansına dayanmaktadır. Yöntem oldukça duyarlı olmakla beraber (5-100 µg protein/ml) pratik bir yöntemdir. Bradford protein tayin yönteminin prosedürünü takip etmek oldukça kolaydır. Yöntem, Bradford reaktifinin numune ile birlikte bir test tüpüne aktarılmasıyla tek aşamada gerçekleştirilmektedir. İyiçe karıştırıldıktan sonra karışım protein varlığında aniden mavi renge dönüşür. Yalnızca çözelti içindeki proteinlere bağlanan moleküller nedeniyle boyadaki bağlanmamış moleküllerin deneysel olarak elde edilen absorpsiyon okumasını etkileyeceği endişesi ortadan kaldırılmış olur.

Bu yöntem diğer yöntemlerden daha ucuz, kullanımı kolay ve duyarlılığı yüksek olduğu için daha avantajlı bir konuma sahiptir.

Bu deneyde Bradford yöntemi ile protein miktar tayininde aşağıdaki işlem basamakları takip edilmiştir.

Coomassie Blue G-250 boya çözeltisinin hazırlanışı:

- 100 mg boya tartılarak 50 ml %95'lik etanol içerisinde çözülür daha sonra üzerine 100 ml % 85'lik fosforik asit eklenir.
- Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra çözelti dH₂O ile 1 L'ye tamamlanır.
- Elde edilen boya çözeltisi kullanılmadan önce absorbans sonucunu olumsuz yönde etkilememesi amacıyla Whatman #1 kağıdıyla süzülür.

Çözeltideki Protein Konsantrasyonunun Ölçülmesi:

- Numunelerden süzülen protein çözeltilerinden 100 µl alınarak ependorf tüplere eklenen 900 µl % 0.9'luk NaCl üzerine eklenerek, bulunan derişimin

kalibrasyon grafiğinde istenilen aralığa girmesi amacıyla 10 kat seyreltme işlemi yapılır.

- 800 µl boya çözeltisi üzerine 400 µl % 0.9'luk NaCl çözeltisi eklenerek KÖR çözeltisi hazırlanır.
- Spektrofotometre cihazı açılarak daha iyi sonuç vermesi için ısınması sağlanır.
- 800 µl boya çözeltisi üzerine 400 µl hacimde absorbansı ölçülmek istenen numuneler ependorf tüplere alınıp ve her bir numunede 20 dk boyunca boya ile proteinin etkileşime girmesi beklenir.
- Spektrofotometre 595 nm dalga boyuna ayarlanarak absorbans okuması gerçekleştirilir.

2.3.6. BSA Kalibrasyon Grafiğinin Eldesi

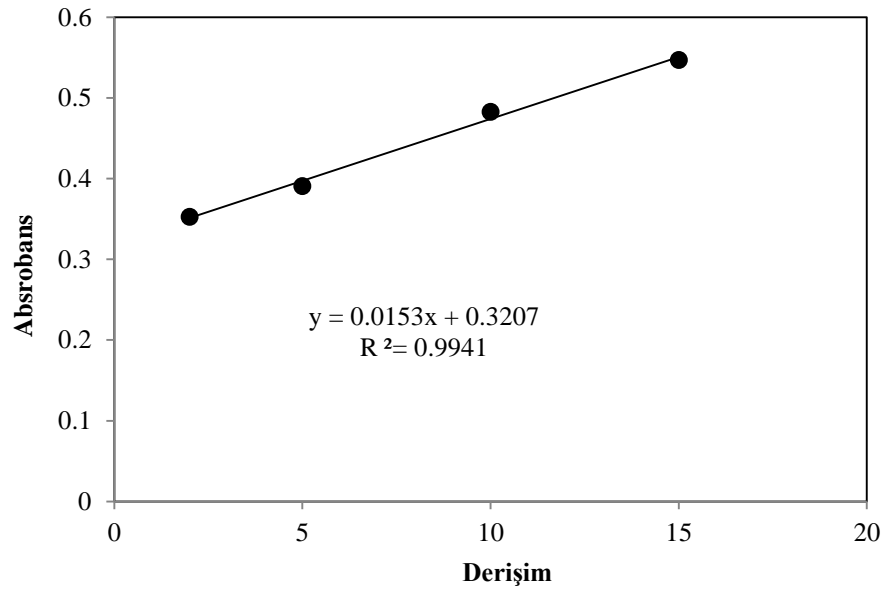
Adsorpsiyon deneylerinde proteinin ne kadarının adsorban tarafından adsorplandığını belirlemek amacıyla kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Grafik eldesinde % 0.9'luk NaCl içerisinde farklı konsantrasyonlarda hazırlanan BSA çözeltilerinin absorbans değerleri Bradford protein tayin yöntemi ile 595 nm'de okunmuştur. Kalibrasyon doğru denklemlerinden protein konsantrasyonu hesaplanmıştır. Sonuçlar adsorpsiyon miktarlarının hesaplanmasında kullanılmıştır. Kalibrasyon doğru denklemi aşağıda verilmiştir.

$$Y = 0,015x + 0,320$$

[2.2]

$$R^2 = 0,9940$$

Şekil 2.1'de BSA için bulunan kalibrasyon doğrusu verilmiştir.



Şekil 2.1. BSA kalibrasyon grafiği

2.3.7. Adsorpsiyon Çalışması

Bu çalışmada orijinal PET lif ve monomer aşılınmış, iki farklı aminle aminlenmiş ve son olarak Cu^{2+} iyonlarıyla modifiye edilmiş PET lifler adsorban olarak kullanılarak BSA proteininin adsorpsiyonu gerçekleştirilmiştir. Değişik aşılama oranlarında adsorban olarak kullanılacak PET lif numuneleri $0.1 \pm 0,01$ g ağırlığında tartılarak içerisinde 25 ml ve istenen derişimlerde BSA bulunan erlenlere konulmuştur. Bu erlenler, 110 rpm hızdaki çalkalayıcı su banyosunda belirli sıcaklık, pH, ve zamanda karıştırılarak adsorpsiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İşlem sonunda alınan numuneler $0.45 \mu m$ gözenekli filtre kağıdından süzölmüş ve süzöntülerde kalan protein derişimi

UV spektrofotometre cihazıyla Bradford Yöntemi ile belirlenmiştir.

Adsorplanan protein miktarı aşağıdaki eşitlik yardımıyla ve önceden hazırlanan kalibrasyon grafiğine göre hesaplanmıştır.

$$q = (C_0 - C) V / m \quad [2.3]$$

q: Bir gram adsorban tarafından adsorplanan protein miktarı (mg/g)

C₀: Protein çözeltisinin başlangıç derişimi (mg/L)

C: Protein çözeltisinin denge derişimi (mg/L)

V: Protein çözeltisinin hacmi (L)

m: Adsorban miktarı (g)

2.3.8. Adsorpsiyon Çalışması için En Uygun PET Lifin Seçimi

Orijinal (düz) PET lifin ve farklı şekillerde modifiye edilmiş değişik aşılama oranlarındaki 25 farklı numunenin BSA adsorpsiyon kapasiteleri pH 7'de 25 °C'de 25 ml'lik % 0.9'luk NaCl çözeltisi içerisinde çözülmüş protein çözeltilerinde analiz edilmiştir. Adsorpsiyon işlemi yaklaşık 6 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. İşlem sonunda adsorbe edilen protein miktarı Bradford yöntemiyle ve BSA kalibrasyon grafiği yardımıyla hesaplanmıştır. Ölçümler sonucunda maksimum adsorpsiyonu veren modifiye edilmiş PET lif numunesi seçilmiş deneyin geri kalan kısmı bu numune üzerinden yapılmıştır.

2.3.9. Adsorpsiyon Üzerine pH etkisi

Diğer değişkenler sabit tutularak 0.1 ± 0.01 g ağırlığındaki maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip PET lif, 25 ml'lik protein çözeltilerinde 110 rpm hızındaki su

banyosunda çalkalanmıştır. Ölçümler pH 3-9 aralığında analiz edilmiştir. Adsorplanan protein miktarına karşılık pH grafiği çizilerek optimum pH değeri belirlenmiştir.

2.3.10. Adsorpsiyon Üzerine Sürenin Etkisi

Diğer değişkenlerin sabit tutulması ile 0.1 ± 0.01 g ağırlığındaki maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip PET lif, 25 ml'lik protein çözeltilerinde 110 rpm hızındaki çalkalayıcı su banyosunda çalkalanmıştır. Deneyler 1-10 saat arasında her bir saatte bir analiz edilmiştir. Adsorplanan protein miktarına karşılık sürenin grafiği elde edilerek denge zamanı belirlenmiştir.

2.3.11. Adsorpsiyon Üzerine Sıcaklık Etkisi

Diğer değişkenler sabit tutularak adsorpsiyon yeteneği en yüksek PET lif, belirlenen pH ve zaman değerinde 25-55 °C sıcaklık aralığında sabit miktarda artan sıcaklık değerlerinde analiz edilmiştir. Adsorplanan protein miktarına karşılık sıcaklık grafiği çizilerek optimum sıcaklık değeri belirlenmiştir.

2.3.12. Adsorpsiyona Protein Başlangıç Konsantrasyonunun Etkisi

Belirlenen optimum pH, süre ve sıcaklık değerlerinde maksimum protein adsorpsiyon kapasitesine sahip PET lif numunesi; protein başlangıç konsantrasyonu 25, 50, 100, 150, 200, 250, 350, 500 ve 750 değerlerinde analiz edilmiştir. Adsorplanan protein miktarına karşılık protein başlangıç konsantrasyonu çizilerek dengeye ulaşılan protein konsantrasyonu saptanmıştır.

2.3.13. Desorpsiyon Çalışması

Desorpsiyon işlemi 110 rpm hızındaki çalkalamalı su banyosunda ve belirlenen tampon çözeltisi içerisinde pH 7'de 25°C'de gerçekleştirilmiştir. 2 saat süresince her 15 dk'da bir alınan numunelerin desorpsiyon sonucu UV spektrofotometrede Bradford yöntemiyle belirlenmiştir. Elde edilen desorpsiyon miktarı aşağıdaki eşitlikte verilmiştir.

$\% \text{ Desorpsiyon} = (\text{desorbe edilen protein}) / (\text{adsorplanan protein}) \times 100$ [2.4]

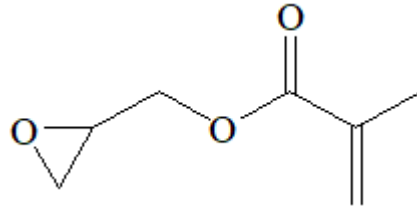


3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

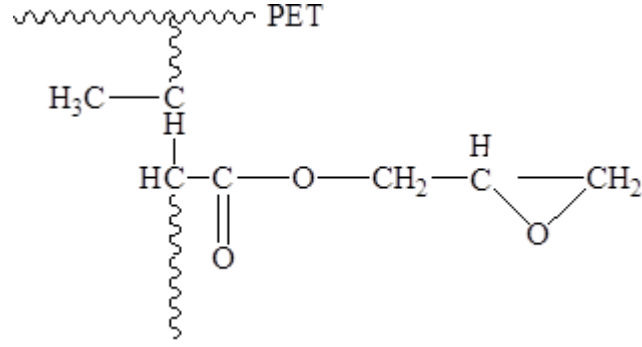
3.1. Aşılama Mekanizması

PET polimerlerinin polimerizasyonu işlemi radikalik katılma polimerizasyonu ile gerçekleşmektedir. Bu polimerizasyon tipinin gerçekleşmesi için monomerin radikalik katılma polimerizasyonuna yatkın olması gerekir. Bu çeşit bir monomerin varlığında polimerizasyon işlemi ortamda serbest radikallerin oluşturulmasıyla başlatılır. Radikalik bir başlatıcı ile aktif merkezler oluşturulur. Başlatıcı olarak Bz_2O_2 kullanılan çalışmada bu maddenin oksijen-oksijen bağlarının kırılmasıyla ve termal olarak parçalanması ile radikaller oluşmuştur. Bu radikaller iki adet benzoil oksid radikali [164].

PET numunelerinin modifikasyonu amacıyla başlangıçta GMA monomeri (Şekil 3.1) aşılama PET liflere (Şekil 3.2) iki farklı aminleme işlemi yapılmış ve aminlenmiş liflere Cu^{2+} iyonlarının bağlanması işlemleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. GMA bileşiğinin yapısı

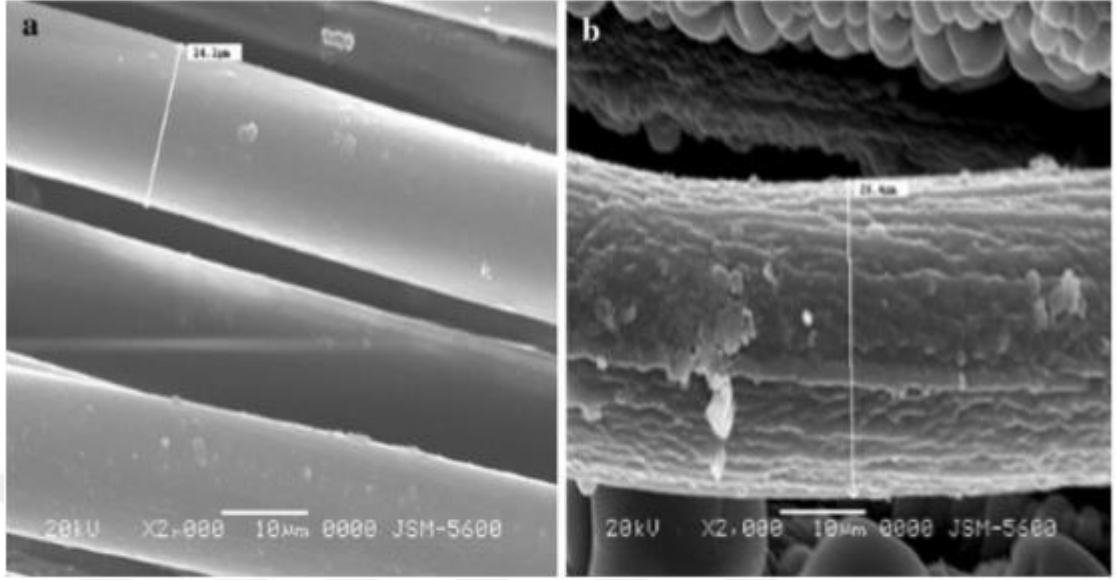


Şekil 3.2. GMA aşılanmış PET (GMA-g-PET) lif

3.2. Polimerlerin Karakterizasyonu

3.2.1. SEM

Orijinal PET lif ve monomer aşılanmış PET liflerinin taramalı elektron mikrografları Şekil 3.3'te gösterilmektedir. SEM sonuçlarına göre, aşılanmamış yani orijinal PET lif yüzeyinin (Şekil 3.3a) düz ve nispeten homojen bir görünüme sahip olduğu açıktır. GMA aşılanmış PET lif yüzeylerinde mikro düzeyde fazlar oluşturmuştur. Ayrıca aşılı kopolimerinde orijinal PET liflerin aksine heterojen bir görünüm oluşturmuştur. Bu iki mikrografın arasındaki fark aşılamanın bir kanıtı olarak gösterilebilir (Şekil3.3a ,b).

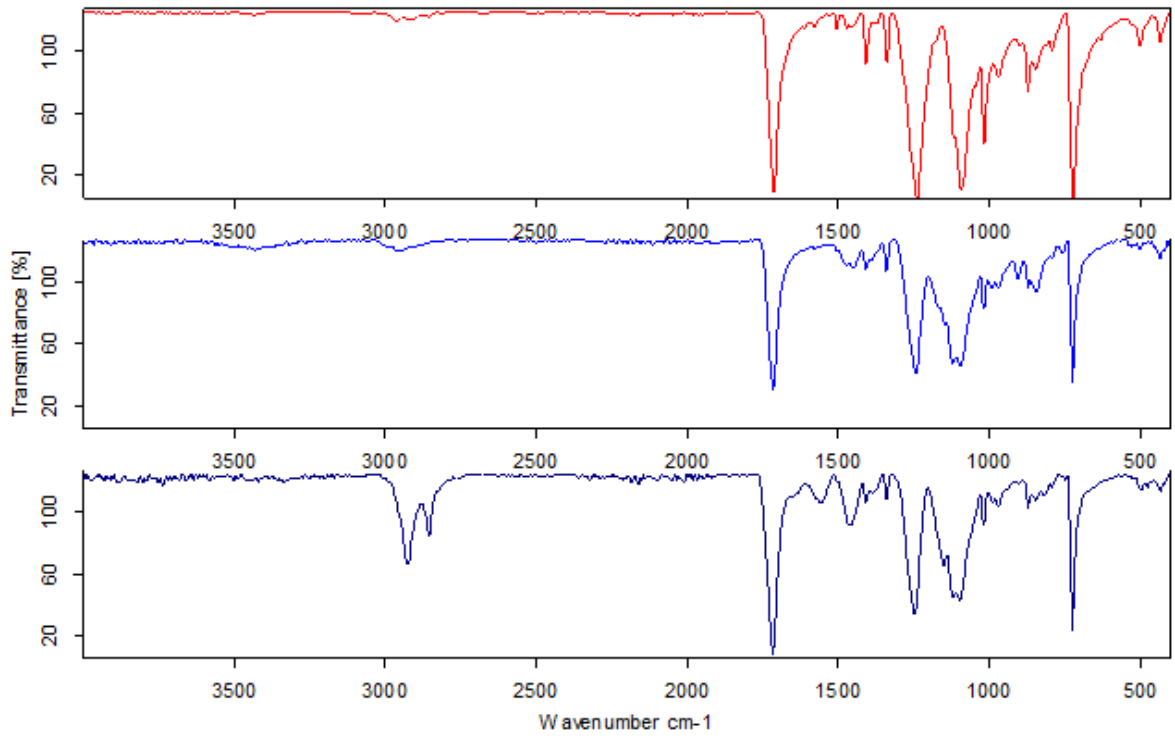


Şekil 3.3. SEM mikrografları a: orijinal PET b: GMA-g-PET lifi

3.2.2. FT-IR

Aşılanmamış orijinal PET lifin ve GMA aşılanmış PET liflerin karakterizasyonu FT-IR analizi ile yapılmıştır.

Orijinal PET liflerin FT-IR spektrumunda, C = O (1712 cm^{-1} 'de), C = C ve alifatik CH (1411 ve 1578 cm^{-1} 'de) pikleri görülmüştür. GMA ile aşlandıktan sonra, GMA-g-PET lif spektrumu değişmiş ve 905 cm^{-1} 'de yeni pik oluştuğu görülmüştür. Bu pik GMA 'da bulunan epoksi gruplarından kaynaklanmaktadır. N – H bağları için 1630 ve 1533 cm^{-1} 'deki yeni pikler ve C – N bağları için 1151 cm^{-1} 'deki yeni pik, GMA-g-PET life HMDA'dan amin gruplarının aktarıldığını desteklemiştir. Bununla birlikte, GMA-g-PET lifteki epoksi grubu için 905 cm^{-1} 'deki karakteristik pik kaybolmuştur ve bu da HMDA'nın epoksi gruplarıyla reaksiyona girdiğini ve PET life bağlanma işlemi sırasında yapılarını değiştirdiğini göstermiştir. Orijinal PET, GMA-g-PET ve HMDA-g-PET liflerin FT-IR analizleri şekilde gösterilmiştir (Şekil 3.4).

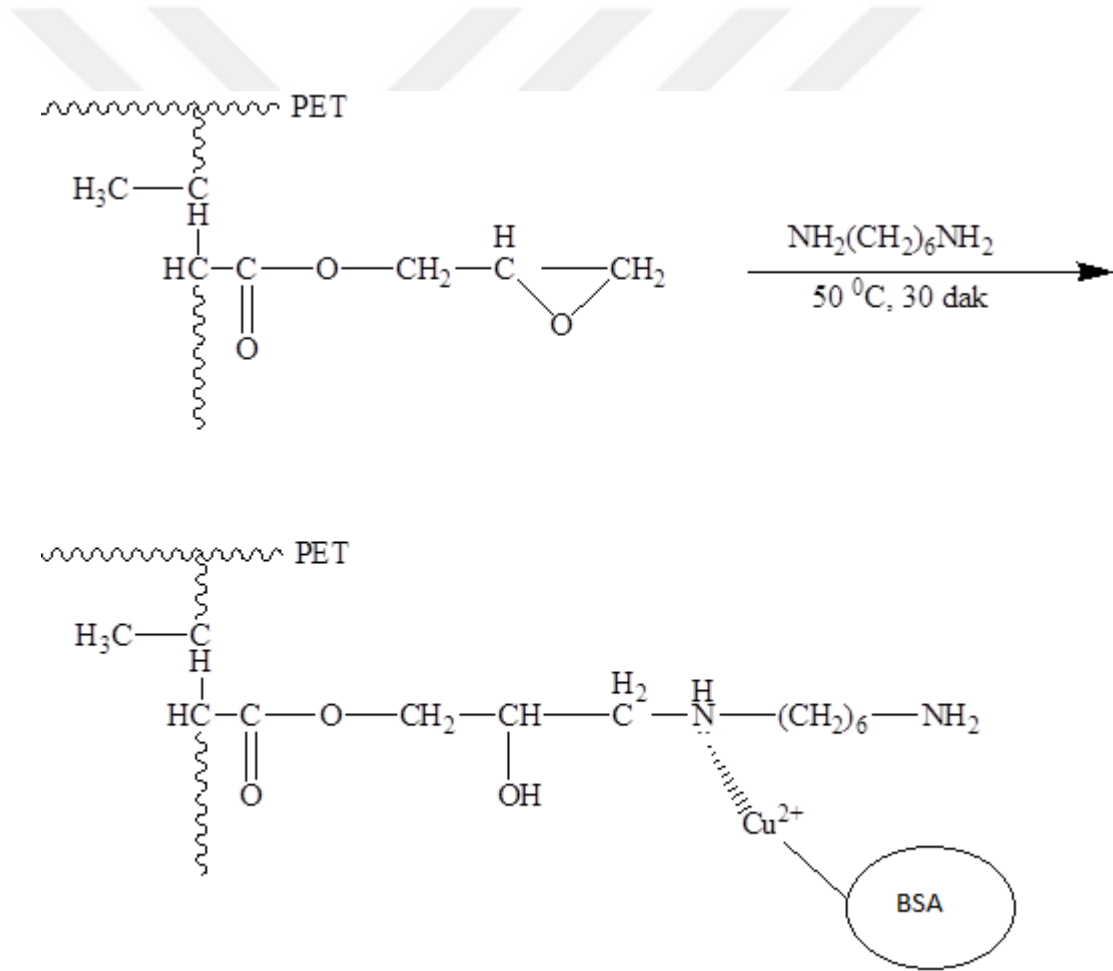


Şekil 3.4. Orijinal PET , GMA-g-PET ve HMDA-GMA-g-PET liflerin FT-IR analizi sonuçları

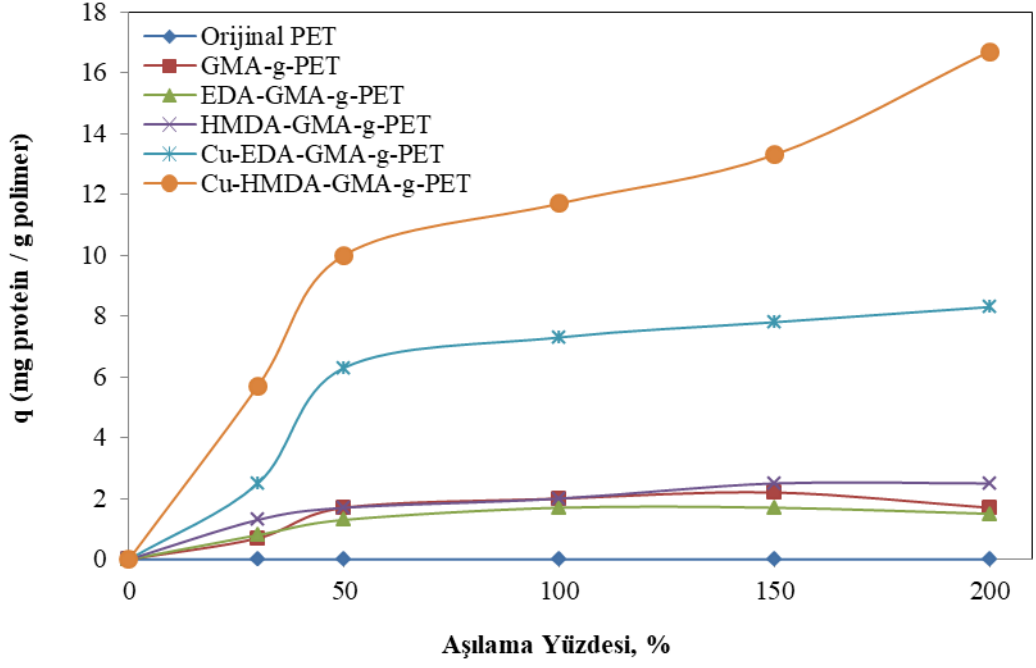
3.3. Adsorpsiyon Çalışması

3.3.1. Adsorpsiyon Deneyleri İçin En uygun Modifiye PET Lif Seçimi

Bu bölümde ilk önce orijinal PET lif ve %30, %50, %100, %150, %200 aşılama oranlarında GMA aşılansmış PET liflerin ve bu liflerin modifikasyonu sonucu elde edilen PET liflerin adsorpsiyon kapasiteleri incelenmiştir. BSA proteininin Cu-HMDA-GMA-g-PET liflere bağlanma modeli Şekil 3.5'te ve Cu-EDA-GMA-g-PET liflere bağlanma modeli ise Şekil 3.6'da verilmiştir. 26 farklı numunenin bu aşılama oranlarındaki BSA adsorpsiyon yeteneklerinin sonuçları Şekil 3.7'de verilmiştir.



Şekil 3.5. BSA proteininin Cu-HMDA-GMA-g-PET liflere olası bağlanma modeli



Şekil 3.7. Orijinal PET ve modifiye edilmiş PET liflerin GMA aşılama yüzdelere göre protein adsorpsiyon kapasitesi sonuçları

Deneyler ilk aşamada 25 °C ve pH 7 şartlarında gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan 1000 ppm konsantrasyonundaki BSA stok çözeltisinden aşamalı olarak seyreltmeler yapılmış ve en sonunda deneyde kullanılacak olan 200 ppm BSA protein çözeltisi elde edilmiştir. BSA proteini % 0.9'luk NaCl içerisinde çözülmüştür. 200 ppm'lik BSA çözeltileri her bir numune için 25 ml olacak şekilde erlenlere alınmıştır. Bu çözeltilerin içine 0.1 ± 0.01 g ağırlığındaki her bir PET numunesinden atılmış ve 110 rpm hızındaki çalkalayıcı su banyosunda çalkalama işlemi yapılmıştır. Yaklaşık 12 saatlik süre sonunda alınan örnekler filtre kağıdında süzildükten sonra Bradford yöntemiyle UV spektrofotometrede ölçümler gerçekleştirilmiş ve BSA kalibrasyon grafiğine göre lif tarafından adsorplanan protein miktarı hesaplanmıştır. Şekil 3.7'den de görüleceği üzere maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip PET lif % 200 GMA aşılama oranına sahip Cu-HMDA-GMA-g-PET liftir.

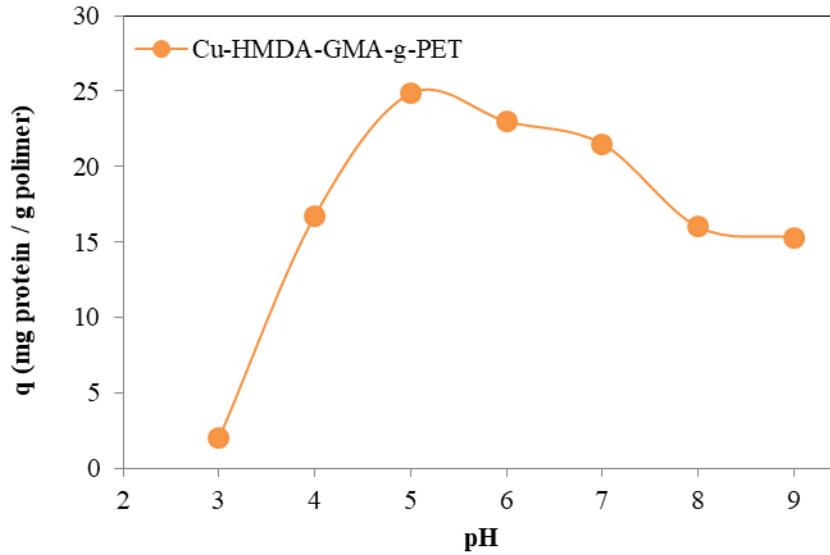
Orijinal PET liflere GMA monomerinin bağlanma amacı; bu monomerin yapısında bulunan epoksi gruplarının oldukça fonksiyonel olmasıdır. Bu fonksiyonellik, GMA'ya farklı bir monomer bağlandığında epoksi gruplarının açılarak bağlanma

işlemine olanak tanınmasından kaynaklanmaktadır [96]. GMA-g-PET liflere, protein adsorpsiyon yeteneklerinin kıyaslanması amacıyla HMDA ve EDA aminleri bağlanmış ve daha sonra Cu^{2+} adsorpsiyonu yapılmıştır. Cu^{2+} -HMDA-GMA-PET liflerin adsorpsiyon kapasitesinin Cu^{2+} -EDA-GMA-PET liflere göre daha yüksek olmasının sebebi, Cu^{2+} -EDA liflerine proteinin sterik engeller nedeniyle daha az bağlanmasıdır. HMDA'nın bağlanması ise bu aminin EDA'ya kıyasla daha uzun zincirlere sahip olması ve dolayısıyla daha az sterik engel oluşturmasıdır [164]. Şekle göre protein adsorpsiyonu, liflere Cu^{2+} bağlanmasıyla artış göstermektedir. Bunun nedeni ise bu metalin ligand bağlama özelliğinin yüksek olmasıdır.

Deneylein bundan sonraki optimum pH, süre, sıcaklık, protein başlangıç konsantrasyonu ve desorpsiyon çalışmalarına en fazla adsorpsiyon yeteneğine sahip olduğu anlaşılan % 200 GMA aşılama oranına sahip Cu^{2+} -HMDA-GMA-g-PET liflerle devam edilmiştir.

3.3.2. Adsorpsiyona pH Etkisi

Maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip % 200 aşılama oranındaki Cu^{2+} -HMDA-GMA-g-PET lifin hangi pH'da daha yüksek verim alınabildiğinin saptanması için pH optimizasyonu yapılmıştır. 25 ml'lik erlenlerde bulunan 200 ppm konsantrasyonundaki protein çözeltilerinin her birinin pH'sı 0.1 M HCl ve 0.1 M NaOH çözeltileri kullanılarak pH metre yardımıyla pH 3-9 aralığındaki değerlere ayarlanarak analiz edilmiştir. Deneylein 25 °C'de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.8'deki gibidir.



Şekil 3.8. Adsorbe edilen BSA (mg/g)-pH grafiği

Şekil 3.8'den de anlaşılacağı üzere literatürde de sıkça belirtilen maksimum adsorpsiyon kapasitesinin elde edildiği pH değeri, BSA proteininin izoelektrik noktasına yakın olan pH 5'te gerçekleşmiştir. Bu pH değerinde elde edilen protein adsorpsiyon miktarının pH 3'te elde edilen miktara göre yaklaşık 12 kat fazla olduğu gözlenmiştir. Ayrıca pH 8 ve pH 9 değerlerinde hemen hemen hiç fark olmadığı gözlenmiştir.

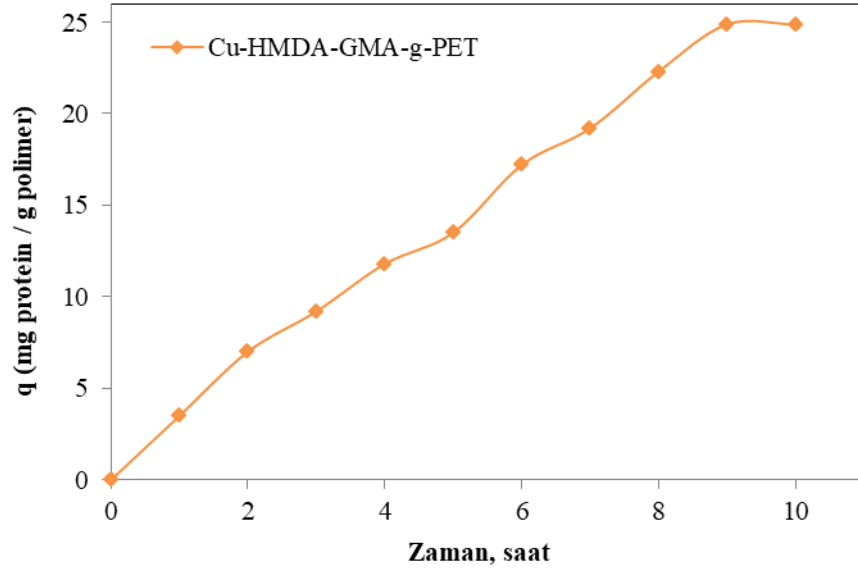
BSA proteininin izoelektrik noktasının altındaki ve üstündeki pH değerlerinde adsorbe edilen miktarın genellikle azalmasının nedeninin proteinin yapısında meydana gelen konformasyonel değişikliklerden ve hidrofobik etkileşimlerin azalmasından kaynaklı olabileceği literatürde bildirilmiştir [79,80,138].

3.3.3. Adsorpsiyona Süre Etkisi

Maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip en uygun PET lif ve optimum pH değeri olarak belirlenen pH 5'te 25 °C'de süre optimizasyonu yapılarak denge zamanı belirlenmiştir. 10 saatlik süreyle yapılan deneyde her bir saatte bir numune alınarak lif tarafından adsorplanan protein miktarının 9 saat sonunda dengeye geldiği saptanmıştır.

Alınan numuneler süzildükten sonra ependorf tüplere koyularak Bradford yöntemiyle UV spektrofotometrede ölçümler yapılmış ve kalibrasyon grafiğine göre gereken hesaplamalar yapılarak adsorplanan protein miktarı saptanmıştır.

Adsorbe edilen protein miktarına karşılık süre grafiği çizilerek denge zamanı verileri elde edilmiştir (Şekil 3.9). Şekilden de anlaşılacağı üzere 9 saatin sonunda PET liflere protein adsorpsiyonu maksimum seviyeye ulaşmış ve lif maksimum doygunluğa ulaşmıştır.

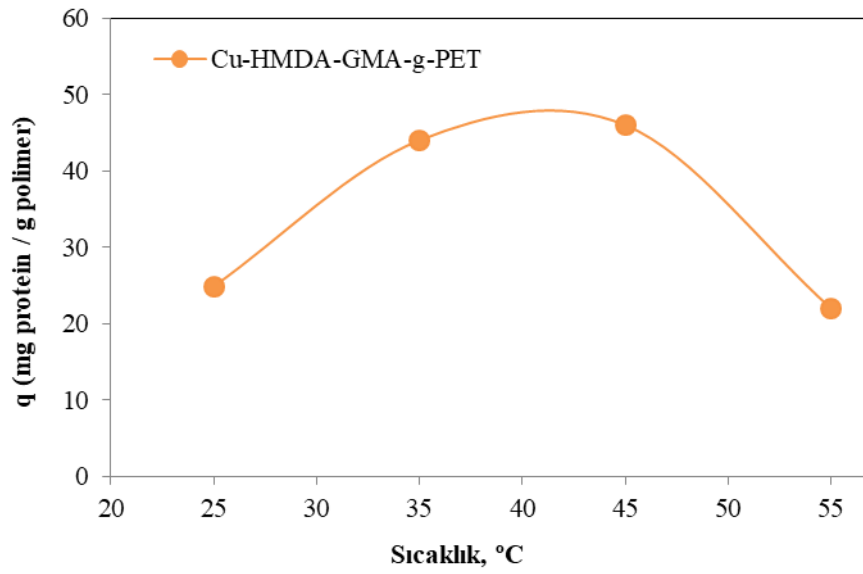


Şekil 3.9. Adsorbe edilen BSA (mg/g)-süre grafiği

3.3.4. Adsorpsiyona Sıcaklık Etkisi

Maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip en uygun PET lif için, optimum pH değeri olarak belirlenen pH 5 ve lif tarafından adsorplanan protein miktarının dengeye geldiği süre olarak saptanan 9 saatlik deney koşullarında, 25 ml'lik protein çözeltilerinde sıcaklık optimizasyonu yapılmıştır. Adsorpsiyon işlemi 110 rpm'lik

çalkalayıcı su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Pet lifin 25 °C, 35 °C, 45 °C ve 55 °C'deki adsorpsiyon yetenekleri analiz edilmiştir. Belirtilen sıcaklıklarda gerçekleştirilen adsorpsiyon çalışmalarının sonucunda süzülüp alınan numuneler endorff tüplerine koyularak Bradford yöntemiyle UV spektrofotometrede absorbans değerleri okunmuş ve BSA kalibrasyon grafiği yardımıyla adsorpladıkları protein miktarı hesaplanmıştır. Elde edilen veriler Şekil 3.10'da gösterilmiştir.



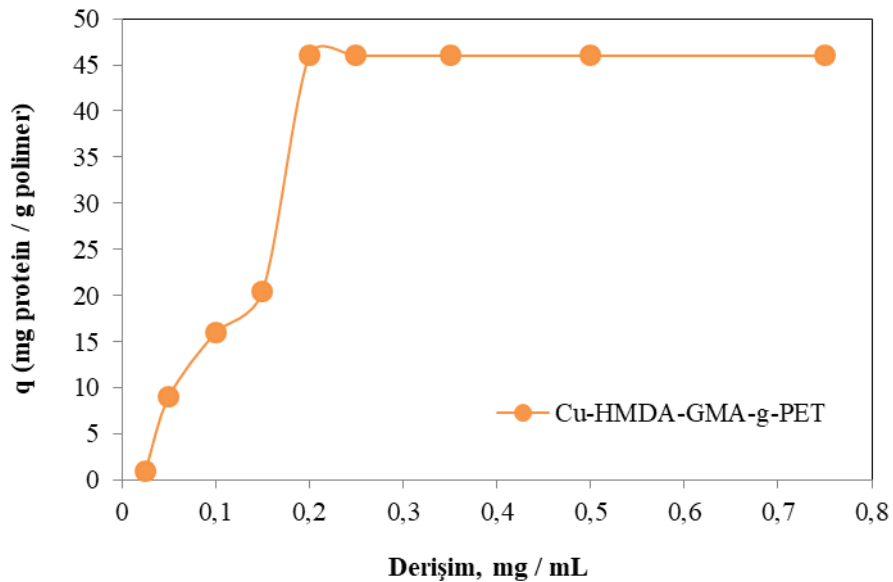
Şekil 3.10. Adsorbe edilen BSA miktarı-sıcaklık grafiği

Şekil 3.10'dan da anlaşılacağı üzere PET lifin adsorpsiyon kapasitesi 45 °C'ye kadar artış göstermiş ve optimum sıcaklık değerine 45 °C'de ulaşmıştır. Ancak 55 °C'de optimum sıcaklık değerine göre yaklaşık 2 kat azalma göstermiştir. Bu azalmanın sebebinin, BSA'nın denatürasyon sıcaklığına yaklaşması ve konformasyonel değişikliğe uğramasından kaynaklanabileceği literatürde belirtilmiştir [144]. Deney sonucuna göre adsorpsiyon işleminin endotermik olduğu ve sıcaklık arttıkça arttığı gözlenmiştir.

3.3.5. Adsorpsiyona Protein Başlangıç Konsantrasyonunun Etkisi

Maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip en uygun PET lif, optimum pH değeri olarak belirlenen pH 5, optimum sıcaklık olarak saptanan 45 °C’de ve lif tarafından adsorplanan protein miktarının dengeye geldiği süre olarak saptanan 9 saatlik deney koşullarında, 25 ml’lik protein çözeltilerinde adsorpsiyon üzerine protein başlangıç konsantrasyonunun etkisi analiz edilmiştir. Adsorpsiyon işlemi, 110 rpm’lik çalkalayıcı su banyosunda ve protein başlangıç konsantrasyonu olarak 25, 50, 100, 150, 200, 250, 350, 500, 750 ppm’de gerçekleştirilmiştir.

Belirtilen konsantrasyonlarda gerçekleştirilen adsorpsiyon çalışmalarının sonucunda süzülüp alınan numuneler endorf tüplere koyularak Bradford yöntemiyle UV spektrofotometrede absorbans değerleri okunmuş ve BSA kalibrasyon grafiği yardımıyla adsorpladıkları protein miktarı hesaplanmıştır. Bu konsantrasyon değerlerine karşılık adsorplanan protein miktarı grafiği çizilerek (Şekil 3.11) PET lifin adsorlayacağı maksimum protein konsantrasyonu belirlenmiştir.

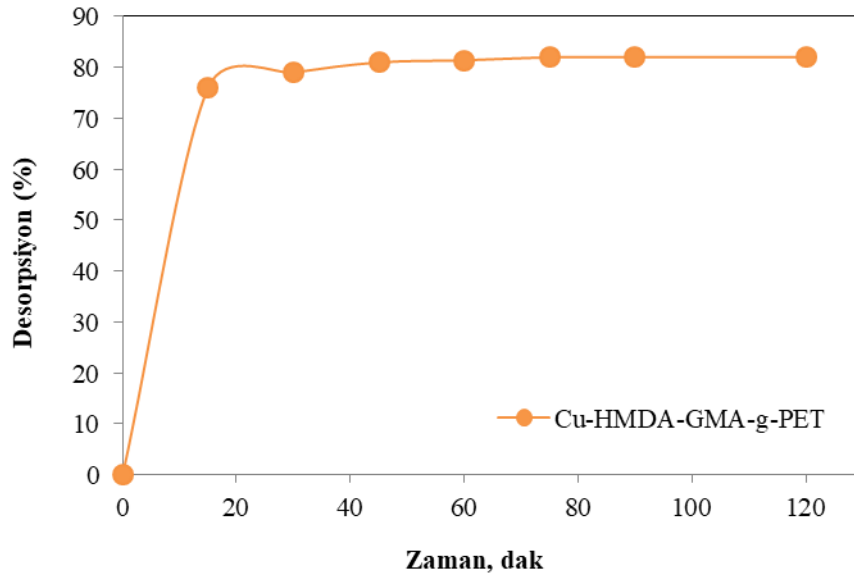


Şekil 3.11. Adsorbe edilen BSA-protein başlangıç konsantrasyonu etkisi

3.3.6. Desorpsiyon Çalışması

Desorpsiyon çalışması 50 ppm proteinin adsorplandığı PET lif üzerinden yapılmıştır. 1 M NaCl içeren 0.05 M asetat tamponunda [165] gerçekleştirilen desorpsiyon deneyinde PET lifin adsorpladığı proteinin ne kadarlık kısmının tekrar ortama verileceği analiz edilmiştir. 2 saatlik süre boyunca her 15 dk'da bir örnek alınarak süzülen numuneler ependorf tüplere koyularak Bradford yöntemiyle UV spektrofotometrede absorban değerleri okunmuştur.

Desorpsiyon yüzdesinin zamana karşı değişim grafiği çizilerek hangi sürelerde ne kadar protein oranının geri verildiği analiz edilmiştir (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. Desorpsiyon-zaman grafiği

Şekilden de anlaşılacağı üzere 75 dk'lık süre sonunda adsorplanan 50 ppm'lik proteinin yaklaşık % 85'inin desorbe olduğu yani ortama geri verilebildiği görülmüştür.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, aşı kopolimerizasyon yöntemi kullanılarak modifiye edilmiş poli (etilen teraftalat) liflerin protein adsorpsiyon kapasitesi araştırılmıştır. Protein, bir çok çalışmada model protein olarak kullanılan bovin serum albumin (BSA) olarak seçilmiştir.

Çalışmanın ilk aşamasında orijinal PET liflerin protein adsorpsiyon kapasitesi araştırılmıştır. Ölçümler sonucunda bu liflerin adsorpsiyon yeteneklerinin olmadığı görülmüş ve adsorpsiyon kapasitesini yükseltmek amacıyla liflere GMA monomeri aşılanmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. GMA monomerinin aşılması sırasında bulunan epoksi gruplarının açılmasıyla GMA-g-PET liflerin modifikasyonunda bağlanabilecek yan grupların sayısını artıracak için adsorpsiyon işlemine bir avantaj getirmiştir. Ancak sadece GMA aşılması protein adsorpsiyonunda yeterli görülmemiş ve bu liflere aminleme ve metal adsorpsiyon işlemleri uygulanmıştır. En uygun modifiye lif seçildikten sonra deneylerin geri kalan kısmı bu lif üzerinden yapılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında maksimum adsorpsiyon kapasitesine sahip lif ile optimum pH, adsorpsiyonun dengeye gelme süresi, optimum sıcaklık ve adsorpsiyona protein başlangıç konsantrasyonunun etkisi incelenmiştir. Daha sonra desorpsiyon işlemi yapılarak adsorbe edilmiş proteinin ne kadarlık bir kısmının ortama verilebileceği çeşitli sürelerde incelenmiştir.

Bu tez kapsamında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Yapılan ölçümler sonucunda orijinal PET liflere protein adsorpsiyon kapasitesinin (nonspesifik adsorpsiyon) düşük olduğu belirlenmiştir.
2. Adsorpsiyon kapasitesini artırmak amacıyla orijinal PET liflere %30, %50, %100, %150 ve %200 aşılama oranlarında GMA monomeri aşılanmıştır. Bu liflerin protein adsorpsiyon kapasiteleri hesaplanmıştır. Sonuçta protein adsorpsiyon kapasitesinin değişmediği

görülmüştür. GMA aşılınmış PET lif GMA-g-PET şeklinde gösterilmiştir.

3. Modifikasyon işlemi için liflere HMDA ve EDA olmak üzere iki farklı amin bağlanmış ve yapılan ölçümler sonucunda adsorpsiyon kapasitesinin bir miktar arttığı gözlenmiştir. HMDA bağlanan GMA-g-PET lifler HMDA-GMA-g-PET şeklinde gösterilmiştir.
4. Polimerlere yapılan karakterizasyon çalışmaları ile FT-IR analizleri ve SEM mikrograf görüntüleri, GMA monomerinin ve HMDA amininin liflere başarılı bir şekilde bağlandığına kanıt olarak sunulmuştur. Ayrıca GMA monomerinde bulunan epoksi gruplarının HMDA bağlandıktan sonra kaybolduğu da FT-IR analiziyle belirlenmiştir. Bu durum ise HMDA'nın epoksi gruplarına bağlandığına kanıt teşkil etmektedir.
5. Daha sonra liflere yapılan Cu (II) metali adsorpsiyonuyla sürdürülen deneyde hesaplamalar sonucu protein adsorpsiyon kapasitesinin %200 GMA aşılınmış PET liflerde diğer liflere daha fazla olduğu gözlenmiştir. Cu(II) metali ve HMDA bağlanan lifler Cu-HMDA-GMA-g-PET şeklinde, Cu(II) metali ve EDA bağlanan PET lifler ise Cu-EDA-GMA-g-PET olarak gösterilmiştir.
6. %200 GMA aşılınmış HMDA-GMA-g-PET liflerinin 1 g'ının adsorpladığı protein miktarı (Q) 2.5 mg/g iken, Cu(II) metali adsorpsiyonuyla bu değer 16.7 mg/g'a kadar artış göstermiştir. EDA-GMA-g-PET liflerinin adsorpladığı protein miktarı 1.5 mg/g iken Cu-EDA-GMA-g-PET lifleri için bu değer 8.3 mg/g olarak bulunmuştur. Yani HMDA modifikasyonu ile 6.5 katlık bir artış var iken EDA modifikasyonu ile 5.5 katlık bir artış söz konusudur. Bu fark HMDA modifikasyonunun EDA'ya kıyasla Cu adsorpsiyonuna daha fazla olanak tanınması ve dolayısıyla daha çok proteinle etkileşime girmesi şeklinde yorumlanabilir. Cu(II) ile protein arasında ise metal-ligand etkileşimi olabileceği yorumu yapılabilir.
7. Bu aşamaya kadar yapılan deneyler 25°C, pH 7 koşullarında 10 saatlik süreyle yapılmıştır. Bu şartlar altında adsorpsiyon kapasitesi en yüksek PET lif %200 GMA aşılınmış Cu-HMDA-GMA-g-PET seçilmiştir ve deneyin bundan sonraki aşamaları bu lif ile gerçekleştirilmiştir.
8. Seçilen lifle devam edilen deneyde pH 3-9 aralığında pH optimizasyonu yapılmıştır ve optimum pH değeri proteinin izoelektrik noktasına yakın değerlerde olan pH 5'te gözlenmiştir. Bu pH'da lifin Q değeri 200 ppm protein için 24,85 mg/g olarak bulunmuştur.

9. Optimum pH 5 olarak belirlendikten sonra süre optimizasyonu yapılmıştır. 200 ppm protein çözeltisinde 10 saat boyunca gerçekleştirilen adsorpsiyon işleminde her bir saatte bir numune alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Analizler sonucunda 9.saatten itibaren adsorplanan protein miktarının dengeye geldiği gözlenmiştir. Dengeye gelindiği andaki Q değeri 24.8 mg/g olarak bulunmuştur.
10. pH 5 ve 9 saat süren deneyler sonucunda sıcaklık optimizasyonu yapılmıştır. 200 ppm protein başlangıç derişimi için Q değerleri 25 °C için 24.8 mg/g, 35 °C için 44 mg/g, 45 °C için 47 mg/g ve 55 °C için 22 mg/g olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre maksimum adsorpsiyon kapasitesi 45 °C olarak belirlenmiştir. Protein adsorpsiyon mekanizmasının endotermik olduğu ve sıcaklık arttıkça adsorpsiyon miktarının arttığı yorumu yapılabilir. Ayrıca 55 °C'deki protein adsorpsiyon değeri, proteinin denatürasyon sıcaklığına yakın bir değer olduğundan proteinin yapısında konformasyonel değişiklikler meydana gelmiş ve adsorpsiyon yeteneği azalmış olabilir.
11. Adsorpsiyon üzerine başlangıç protein konsantrasyonunun incelendiği bir sonraki aşamada 25, 50, 100, 150, 200, 250, 350, 500, 750 ppm değerlerinde çalışılmıştır. Yapılan hesaplamalar sonucu 200 ppm başlangıç konsantrasyonundan sonra lifin doyunluğa ulaştığı sonucuna varılmıştır.
12. 25 °C'de 1 M NaCl içeren asetat tamponu içerisinde 2 saat boyunca yapılan desorpsiyon deneyinde her 15 dk'da bir numune alınarak ölçüm yapılmıştır. 50 ppm başlangıç protein konsantrasyonu üzerinde yapılan deneyde 75. dakikadan sonra dengeye ulaşıldığı ve proteinin yaklaşık %85'lik kısmının desorbe edildiği gözlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar neticesinde en uygun adsorban olarak seçilen Cu-HMDA-GMA-g-PET lifin maksimum protein adsorpsiyon kapasitesine ulaştığı deney koşulları pH 5, 45 °C ve 9 saat olarak saptanmıştır ve doygunluğa ulaştığı protein konsantrasyonu ise 200 ppm olarak belirlenmiştir. Ayrıca adsorplanan 50 ppm proteinin desorpsiyon işlemiyle geri kazanılabildiği görülmüştür.

Bu deneyde daha fazla proteinin adsorpsiyonunu elde etmek için daha fazla GMA monomerinin aşılanaabileceği düşünülebilir. Ancak %200'den daha fazla monomer aşılması PET liflerin lifsi özelliklerinin kaybedilmesiyle sonuçlanmıştır ve modifikasyon işlemleri için uygun değildir.

Oldukça karmaşık bir işlem olan protein adsorpsiyonunda halen farklı adsorban maddeler kullanılarak en avantajlı prosesler bulunmaya çalışılmaktadır. Geleneksel kromatografik yöntemlere alternatif olarak yeni yöntemler bulunmuştur. Afinite kromatografisi yöntemine göre bir takım avantajlar sunan afinite membrane kromatografisi adsorpsiyon işlemiyle proteinlerin ayrılması ve saflaştırılmasında son on yılda kullanılan en önemli yöntemlerden biridir.

Bu tez çalışmasında adsorban olarak kullanılan PET liflerin; yüksek miktarda üretimi, maliyetinin ucuz olması, yüksek işlenebilirlik özelliği, modifikasyonunun kolay olması gibi avantajlara sahip olduğundan protein adsorpsiyonuyla ayırıştırma ve saflaştırma işlemlerinde kullanılabileceği görülmüştür.

Gelecekte yapılacak olan çalışmalarda farklı monomerlerle, aminleme veya diğer modifikasyonlarla, farklı metallerin bağlanmasıyla adsorpsiyon kapasitesi artırılabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Chanda, M., Advanced Polymer Chemistry. Marcel Dekker, INC, 2000.
- [2] Kurbanova, R., Polimer Kimyası. Selçuk Üniversitesi Yayınları, Konya, 1995.
- [3] Karaduman, N., Polimer malzemeler ve özellikleri <http://kbyapikimyasallari.com/polimer-malzemeler-ve-ozellikleri/>. Erişim tarihi: 06.09.2019
- [4] Nicholson, W.J., The Chemistry of Polymers. The Royal Society of Chemistry. United Kingdom, 2006.
- [5] Scott, G., Polymers and Environment. The Royal Society of Chemistry. United Kingdom, 1999.
- [6] Anonim, Polimer Kimyası. <http://metehantosun.wordpress.com/tarihcesi/> Erişim tarihi : 09.09.2019.
- [7] Saçak, M., Lif ve Elyaf Kimyası. Gazi Kitapevi, Ankara, 2002
- [8] Freitag, R., Synthetic Polymers for Biotechnology and Medicine. Landes Bioscience, U.S.A., 2003.
- [9] Saçak, M., Polimer Kimyası. Gazi Kitapevi, Ankara, 2015.
- [10] Chanda, M., Advanced Polymer Chemistry. Marcel Dekker, INC, 2000.
- [11] Davis, J.F., Polymer Chemistry. Oxford University Press, London, 2004.
- [12] Günay, K., Antibakteriyel Özelliğe Sahip Modifiye Edilmiş Poli(etilen teraftalat) Liflerin Sentezi ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2017.

- [13] Odian, G., Principle of Polymerization. John Wiley & Sons, INC, Canada, 2004.
- [14] Lewin. M., Handbook of Fiber Chemistry. CRC Press, U.S., 2007
- [15] Soysal, A., Bazı Endüstriyel Enzimlerin İmmobilizasyonu için Aşı Kopolimerizasyonla Lifsi Bir Destek Maddesinin Geliştirilmesi. Doktora Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2015.
- [16] Arslan, M., Bazı Ağır Metal İyonlarının 4-Vinil-Piridin ve 2-Hidroksietilmetakrilat Aşılınmış Poli(etilen tereftalat) Lifleri ile Uzaklaştırılması. Doktora Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale , 2008.
- [17] Yağcı, M., 4-Vinil Piridin Aşılınmış PET Liflere Gümüş Adsorpsiyonu Yapılarak Antibakteriyel Özelliğinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2012.
- [18] Prevorsek, D.C., Tirpak, G.A., Harget, P.J., and Reimschuessel, A.C., Effects of Thermal Contraction on Structure and Properties of PET Fibers. Journal of Macromolecular Science. 9 (4): 733-759, 2006, DOI: 10.1080/00222347408204559
- [19] Yiğitoğlu, M., Temoçin, Z., Removal of Benzidine-based Azo Dye from Aqueous Solution Using Amide and Amine-functionalized Poli(etilen tereftalat) (PET) Fibers. Fibers and Polymers. 11(7): 996-1002. DOI: 10.1007/s12221-010-0996-6
- [20] Bozkaya, O., Mustafa Yiğitoğlu, Arslan, M., Investigation on selective adsorption of Hg (II) ions using 4-vinly pyridine grafted poly (ethylene terephthalate) fiber, J. Appl. polym. Sci. 124 (2): 1256 – 1264, 2012.
- [21] Arslan, M., et al., Kinetics of swelling assisted of 4-vinyl pyridine onto poly (ethylene terephthalate) fibers using a benzoyl peroxide initiator. Polym. Bull.

51(3): 237-244, 2003.

- [22] Yiğitoğlu, M., Arslan, M., Selective removal of Cr(VI), Cu(II) and Cd(II) ions from aqueous solutions by 4-vinyl pyridine/2-hydroxyethylmethacrylate monomer mixture grafted poly (ethylene terephthalate) fiber. *Journal of Hazardous Materials* 166: 435-444, 2009. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.11.075.
- [23] Temoçin, Z., Yiğitoğlu, M., Studies on selective uptake of Hg(II) and Pb(II) by functionalized poly (ethylene terephthalate) fiber with 4-vinyl pyridine/2-hydroxyethylmethacrylate. *Water Air Soil Pollut.* 210:463-472, 2009.
- [24] Arslan, M., Yiğitoğlu, M., Use of methacrylic acid grafted poly (ethylene terephthalate) fibers for removal of basic dyes from aqueous solution. *Journal Applied Polymer Science.* 110: 30-38, 2008. DOI: 10.1002/app.28421.
- [25] Temoçin, Z., Yiğitoğlu, M., Studies on the activity and stability of immobilized horseradish peroxidase on poly (ethylene terephthalate) grafted acrylamide fiber. *Bioprocess And Biosystems Engineering.* 32 (4):467-474, 2009.
- [26] Arslan, M., Günay, K., Synthesis and characterization of PET fibers grafted with binary mixture of 2-methylpropenoic acid and acrylonitrile by free radical: its application in removal of cationic dye. *Polymer Bulletin.* 74: 1221-1236, 2017. DOI: 10.1007/s00289-016-1773-5
- [27] Arslan, M., Bazı Ağır Metal İyonlarının 4-vinil piridin ve 2-hidroksietil metakrilat Aşılannmış PET Lifleri ile Uzaklaştırılması. Doktora Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2008.
- [28] Soysal. A., Bazı Endüstriyel Enzimlerin İmmobilizasyonu için Aşı Kopolimerizasyonla Lifsi Bir Destek Maddesinin Geliştirilmesi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2015
- [29] Başer, İ., Elyaf Bilgisi. Marmara Üniversitesi Teknik Fakültesi Yayını. 139-143, İstanbul,2002.Tarakçioğlu, I., Poliester Liflerinin Üretimi ve Terbiyesi. *Tekstil*

Terbiyesi ve Makinaları. 3.Cilt, s: 275-540, 1986.

- [30] Campbell N.A., and Reece J.B., *Biyoloji*. Palme Yayıncılık, Ankara , 2010.
- [31] Cooper, M.G., Hausman, E.R., *Hücre: Moleküler Yaklaşım*. İzmir Tıp Kitapevi, İzmir, 2006.
- [32] Thieman, J.W., Palladino, M.A., *Biyoteknolojiye Giriş*. Palme Yayıncılık, Ankara, 2013.
- [33] Rahmati, M., and Mozafari, M., Protein Adsorption on Polymers. *Materials Today Communications*. 17: 527-540, 2018.
- [34] Nelson, D.L., Cox, M.M., *Biyokimyanın İlkeleri*. Palme Yayıncılık, Ankara.
- [35] KLug, W.S., and Cummings, M.R., *Genetik Kavramlar*. Palme Yayıncılık, İstanbul, 2011.
- [36] Cooper, G.M., and Hausman, R.E., *Hücre: Moleküler Yaklaşım*. İzmir Tıp Kitapevi, İzmir, 2006.
- [37] Temizkan, G., *Moleküler Genetik*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2013.
- [38] Taşkın, M.B., *Ticari Aktif Karbonun Modifikasyonu ve BSA Adsorpsiyon Özelliklerinin İncelenmesi*. Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2013.
- [39] Jahanban-Esfahlan, A., et al., Recent developments in the detection of bovine serum albumin. *International Journal of Biological Macromolecules*. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.07.
- [40] Jahanban-Esfahlan, A., et al., Interaction of Glutathione with Bovine Serum Albumin: Spectroscopy and Molecular Docking. *Food Chemistry*. 202: 426-431, 2016.

- [41] Roufegarinejad, L., et al., Molecular Interactions of Thymol with bovine serum albumin: spectroscopic and molecular docking studies. *Journal of Molecular Recognition*.
- [42] Jahanban-Esfahlan, A., et al., Spectroscopy and Molecular Docking Studies on the Interaction Between N-acetyl cysteine and Bovine Serum Albumin. *Biopolymers*. 103(2015).
- [43] Maurya, J.K., et al., A Spectroscopic and Molecular Dynamic Approach on the Interaction Between Ionic Liquid Type Gemini Surfactant and Human Serum Albumin. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 34(10): 2130-2145.
- [44] Maurya, N., et al., In Vitro Cytotoxicity and Interaction of Noscapine with Human Serum Albumin: Effect of Structure and Esterate Activity of HSA. *Molecular Pharmaceutics*. 16(3) (2019) : 952-966.
- [45] Jahanban-Esfahlan, A., et al., Investigating the Interaction of Juglone (5-hydroxy-1, 4-naphtoquinone) with Serum Albumins Using Spectroscopic and in Silica Methods. *Journal of the Iranian Chemical Society*. 7(14) (2017) : 1527-1540.
- [46] Kumari, M., et al., Effect of N-butyl-N-methyl-Morpholinium Bromide Ionic liquid on the conformation stability of human serum albumin. *Chemistry Select*. 2(3): 1241-1249.
- [47] Patel, R., et al., Esterase activity and conformational changes of bovine serum albumin toward interaction with mephedrone: spectroscopic and computational studies. *Journal of Molecular Recognition*. 31(11) e 2734, 2018.
- [48] Patel, R., et al., Spectroscopic and molecular modeling analysis of the interaction between ethane-1,2-diyil bis (N,N-dimethyl-N-hexadecylammoniumacetaxy) dichloride and bovine serum albumin. *Luminescence* . 30(8) : 1233-1241, 2018.
- [49] Jahanban-Esfahlan, A., et al., A simple improved desolvation method for the rapid preparation of albumin nanoparticles. *International Journal of Biological*

Macromolecules. 91(2016) : 703-709.

- [50] Andishmand, H., et al., Nanostructure characterization of bovine serum albumin resveratrol complex. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*. 6(3): 291-300. 2017.
- [51] Theodore, P.J., *All About Albumin*. Academic Press, U.S., 1995.
- [52] Kwok, R.T.K., et al., Water-soluble bioprobes with aggregation-induced emission characteristics for light-up sensing of heparin. *Journal of Materials Chemistry, B2* (2014) 4134-4141.
- [53] Song, Z.G., et al., A dual-mode fluorescence ‘turn on’ biosensor based on an aggregation-induced emission luminogen. *Journal of Materials Chemistry, B2* : 1717-1723, 2014.
- [54] Majorek, K.A., et al., Structural and immunologic characterization of bovine, horse and rabbit serum albumins. *Molecular Immunology*, 52(3-4) : 174-182, 2012. DOI:10.1016/j.molimm.2012.05.11
- [55] <http://uniprot.org/uniprot/P02769#family-and-domains> (Erişim Tarihi: 10/11/2019)
- [56] Wright, A.K., Thompson, M.R., Hydrodynamic structure of bovine serum albumin determined by transient electric birefringence. *Biophysical Journal*. 15 (1): 137-141, 1975. DOI: 10.1016/S0006-3495(75)85797-3
- [57] Çimen, N.S., *Proteinlerin Poliakrilik Asit ile Suda Çözünmeyen Kompleksleri*. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2006.
- [58] Mansuroğlu, B., Kızılbey, K., Derman, S., Mustafaeva, Z., Protein-polielektrolit kompleks ve konjugatlarının Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Yöntemi ile

incelenmesi. *Türk Biyokimya Dergisi*. 36 (1): 21-28, 2011.

- [59] Michnik, A., Michalik, K., Dizazga, Z., Stability of bovine serum albumin at different pH. *Journal of Thermal Analysis and Colorimetry*. 80 (2): 399-406, 2005.
- [60] Ge, S., et al., Bovine serum albumin onto immobilized organotrichlorosilane surface: influence of the phase separation on protein adsorption patterns. *Journal of Biomaterial Science*. 9 (2): 131-150, 1998. DOI: 10.1163/126856298x00479
- [61] Ekingen, İ., Protein Adsorpsiyonu. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2012.
- [62] Lu, R., et al., Probing the secondary structure of bovine serum albumin during heat-induced denaturation using mid-infrared fiberoptic sensors. *Royal Society of Chemistry*. 140, 765-770, 2015. DOI: 10.1039/C4AN01495B
- [63] Russel, B.A., et al., Locating the nucleation sites for protein encapsulated gold nanoclusters: a molecular dynamics and fluorescence study. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 17,21935, 2015. DOI: 10.1039/c5cp02380g
- [64] Edri, E., and Regev, O., pH effects on BSA-dispersed carbon nanotubes studied by Spectroscopy Enhanced Composition Evaluation Techniques. *Analytic Chemistry*. 80: 4049-4054, 2008.
- [65] Farwell, A.P., et al., Thyroid hormone regulates the expression of laminin in the developing rat cerebellum. *Endocrinology*. 140 (9): 4221-4227, 1999. DOI: 10.1210/en.140.9.4221
- [66] Kreader, C.A., Relief of amplification inhibition in PCR with bovine serum albumin or T4 gene 32 protein. *Applied and Environmental Microbiology*. 62 (3):1102-1106, 1996.

- [67] Rahmani, T., et al., A novel high performance enzyme-less sensing layer of electrochemical detection of methyl parathion based on BSA templated Au-Ag biometallic nanoclusters. *New Journal of Chemistry*. 42 (9): 7213-7222, 2018. DOI: 10.1039/C8NJ00425K
- [68] Taştan, S., PZR'de Enhansır Olarak Kullanılabilecek Kimyasalların Araştırılması. Lisans Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, 2015.
- [69] <http://meshb.nlm.nih.gov/record/ui?name=Serum%20Albumin,%20Bovine> (Erişim Tarihi: 2/11/2019)
- [70] Ralsler, M., et al., An efficient and economic enhancer mix for PCR. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 347 (3): 747-751, 2006. <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.06.151>
- [71] Ferrari, L., et al., Interaction of cement model systems with superplasticizers investigated by atomic force microscopy, zeta potential, and adsorption measurements. *J. Colloid Interface Sci.* 347 (1): 15-24, 2010. DOI: 10.1016/j.jcis.2010.03.005
- [72] Czelej, K., et al., CO₂ stability on the Ni low-index surfaces: van der Waals corrected DFT analysis. *Catalysis Communications*. 80 (5): 33-38, 2016. DOI: j.catcom.2016.03.017
- [73] Czelej, K., et al., Insight on the interaction of methanol-selective oxidation intermediates with Au-or/and Pd containing monometallic and bimetallic Core@Shell catalysts. *Langmuir*. 32 (30): 7493-7502, 2016. DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b01906
- [74] Foo, K.Y., and Hameed, B.H., Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chemical Engineering Journal*. 156 (1): 2-10, 2010. DOI:

10.1016/j.cej.2009.09.013

- [75] Kisliuk, P., The sticking probabilities of gases chemisorbed on the surfaces of solids. *Journal of Physics and Chemistry of solids*. 3 (1-2): 95-101, 1957. DOI: 10.1016/0022-3697(57)90054
- [76] Cheraghian, G., Evaluation of clay and fumed silica polymer during enhanced oil recovery. *Journal of the Japon Petroleum Institue*. 60 (2): 85-94, 2017. DOI: 10.1627/jpj.60.85
- [77] Mansky, P., et al., Controlling polymer surface interactions with random copolymer brushes. *Science*. 275 (5305): 1458-1460, 1997.
- [78] Ekingen, İ., Protein Adsorpsiyonu. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2012.
- [79] Ghosh, S., and Bull, H.B., Adsorbed films of bovine serum albumin. *Biochem . Biophys. Acta*. 66: 150-157, 1966. DOI: 10.1016/0006-3002(63)91178-8
- [80] Androde, J.D., *Surface and interfacial aspects of biomedical polymers*. New York and London. 10-21, 1985.
- [81] Cooper, A., *Conformational fluctuations and change in biological macromolecules*. Scientific Progress. 66: 473-497.
- [82] Parath, J., Charge-transfer adsorption in aqueous media. *Pure and Applied Chemistry*. 51 (7): 1549-1559, 1979. DOI: 10.1351/pac197951071549
- [83] Rabe, M., Understanding protein adsorption at solid surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*. 162 (1-2): 87-106, 2011. DOI: 10.1016/j.cis.2010.12.007

- [84] Dee, K.C., An Introduction to Tissue Biomaterial Interactions. John Wiley&Sons. pp: 1-50.
- [85] Firkowska-Baden, I., et al., Controlling protein adsorption through nanostructured polymeric surfaces. *Advanced Healthcare Materials*. 7 (11):1700995, 2017. DOI: 10.1002/adhm.201700995
- [86] Smith, P.K., et al., Measurements of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150(1985): 76-85.
- [87] Temizkan, G., Arda, N., *Temel ve İleri Moleküler Biyoloji Yöntemleri*. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2017.
- [88] Temizkan, G., Arda, N., *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2008.
- [89] Pekyardımcı, Ş., *Protein tayin yöntemleri*. Ankara Üniversitesi, Kimya Bölümü, Ankara.
- [90] Lowry, O.H., et al., Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 (1951) : 265-275.
- [91] Ninfa, A.J., and Ballau, D.P., *Fundamental Laboratory Approaches for Biochemistry and Biotechnology*. John&Wiley Sons Inc. pp:113.
- [92] Okutucu, B., et al., Comparison of five methods for determination of total plasma protein concentration. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 70 (5): 709-711. DOI: 10.1016/j.jbbm.2007.05.009
- [93] Ballou, N., *Fundamental Laboratory Approaches for Biochemistry and Biotechnology*. Fitzgerald Science Press, Bethasda, 1998.

- [94] Haky, J.E., Ion-Exchange Buffers Encyclopedia of Chromatography. Marcel Deccer, New York.
- [95] O'Farriell, P.A., Hydrophobic Interaction Chromatography Molecular Biomethods Handbook. Humana Press. New Jersey, 2008.
- [96] Zou, H., et al., Affinity membrane chromatography for the analysis and purification of proteins. Journal of Biochemical and Biophysical Methods. 49: 199-240, 2001.
- [97] Josic, D., Reusch, J., Loster, K., Baum, O., Reutter, W., High-performance membrane chromatography of serum and plasma membrane proteins. J Chromatog. 590:59–76, 1992.
- [98] Zhou, D., Zou, H., Wang, H., Yang, L., Jia, L., Zhang, Q., Alkaline treatment of the cellulose fiber affecting on the membrane column behaviors for high-performance immunoaffinity chromatography. Biomed Chromatogr. 14:511–6, 2000.
- [99] Higuchi, A., Iwata, N., Nakagawa, T., Surface-modified polysulfone hollow fibers: II. Fibers having –CH, –CH, –CH, –SO segments and immersed in HCl solution. J. Appl. Polym. Sci. 40:709–17, 1990.
- [100] Higuchi, A., Iwata, N., Nakagawa, T., Surface-modified polysulfone hollow fibers: III. Fibers having a hydroxide group. J. Appl. Polym. Sci. 41:1973–9, 1990.
- [101] Kiyohara, S., et al., Selection of a precursor monomer for the introduction of affinity ligands onto a porous membrane by radiation-induced graft polymerization. J Chromatogr A 758:209–15, 1997.
- [102] Regnier, F.E., Microfabricated monolith columns for liquid chromatography sculpting supports for liquid chromatography. J High Resolut Chromatogr 23:19–26, 2000.

- [103] Sundberg, L., Porath, J., Preparation of adsorbents for biospecific affinity chromatography: I. Attachment of group-containing ligand to insoluble polymers by means of bifunctional oxiranes. *J Chromatogr* 90:87–98, 1974.
- [104] Guo, W., et al., Cellulose membrane used as stationary phase of membrane affinity chromatography. *Chin Chem Lett* 5:869–72, 1994.
- [105] Liao, J.L., et al., Continuous beds for standard micro-high performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 586:21–6, 1991.
- [106] Hjerten, S., et al., Improvement in flow properties and pH stability of compressed continuous polymer beds for high performance chromatography. *J Chromatogr.* 646:121–128, 1993.
- [107] Liao, J.L., et al., Preparation of continuous beds derivatized with one-step alkyl and sulfonate groups for capillary electrochromatography. *Anal. Chem.* 68:3468–72, 1996.
- [108] Svec, F., and Frechet, J.M.J., ‘Molded’ rods of macroporous polymer for preparative separations of biological products. *Biotechnol. Bioeng.* 48:476–80, 1995.
- [109] Kochan, J., et al., Purification of bovine immunoglobulin G via protein G affinity membranes. *Ind. Eng. Chem. Res.* 35:1150–5, 1995.
- [110] Guo, W., et al., Removal of endotoxin from aqueous solutions by affinity membrane. *Biomed. Chromatogr.* 11:164–6, 1997.
- [111] Santarelli, X., et al., Characterization and application of new macroporous membrane ion-exchangers. *J. Chromatogr. B.* 706:13–22, 1998.
- [112] Adachi, T., et al., Selective removal of immunoglobulin E from rat blood by

- membrane-immobilized antibody. *J. Chromatogr. B.* 668:327–32, 1995.
- [113] Sarfert, F.T., and Etzel, M.R., Mass transfer limitations in protein separations using ion-exchange membranes. *J. Chromatogr. A.* 764:3–20, 1997.
- [114] Huang, S.H., et al., Scaling-up of affinity chromatography by radial-flow cartridges. *Biotechnol. Prog.* 4:159–65, 1998.
- [115] Guo, W., et al., Membrane affinity chromatography of alkaline phosphatase. *J. Chromatogr. A.* 685:344–8, 1994.
- [116] Guo, W., et al., Endotoxin removal by membrane affinity chromatography. *Chin. Chem. Lett.* 6:919–22, 1995.
- [117] Gerstner, J.A., et al., Membrane chromatographic systems for high-throughput protein separations. *J. Chromatogr.* 596:173–80, 1992.
- [118] Jia, L., et al., Protein A tangential flow affinity membrane cartridge for extracorporeal immunoadsorption therapy. *Biomed. Chromatogr.* 13:472–7, 1999.
- [119] Zhou, D., et al., Membrane affinity chromatography for analysis and purification of biopolymers. *Chromatographia* .50:23–7, 1999.
- [120] Zhou, D., et al., Membrane support as stationary phase in high-performance chromatography. *Anal. Chem.* 71:115–8, 1999.
- [121] Josic, D., et al., High-performance membrane chromatography of serum and plasma membrane proteins. *J. Chromatogr.* 590:59–76, 1992.
- [122] Platonova, G.A., et al., Quantitative fast fractionation of a pool of polyclonal antibodies by immunoaffinity membrane chromatography. *J. Chromatogr. A.* 852:129–40, 1999.

- [123] Tennikova, T.B., and Svec, F., High performance membrane chromatography: high efficient separation method for proteins in ion-exchange, hydrophobic interaction and reversed-phase modes. *J. Chromatogr.* 646:279–88, 1993.
- [124] Zeng, X.F., and Ruckenstein, E., Trypsin purification by p-aminobenzamidine immobilized on macroporous chitosan membrane. *Ind. Eng. Chem. Res.* 37:159–65, 1996.
- [125] Zeng, X.F., and Ruckenstein, E., Cross-linked macroporous chitosan anion-exchange membranes for protein separations. *J. Membr. Sci.* 148:195–205, 1998.
- [126] Zeng, X.F., and Ruckenstein, E., Macroporous chitin affinity membranes for wheat germ agglutinin purification from wheat germ. *J. Membr. Sci.* 156:97–107, 1999.
- [127] Ruckenstein, E., Zeng, X.F., Albumin separation with Cibacron Blue carrying macroporous chitosan and chitin affinity membranes. *J. Membr. Sci.* 142:13–26, 1998
- [128] Perepechkina, N.P., Perepechkina, L.P., Efficient molecular-mass fractionation of leukocyte extract by membrane separation. *J. Membr. Sci.* 160:1–6, 1999.
- [129] Muller, E., and Baurmeister, U., Preparation of and optimal module housings for hollow-fiber membrane ion-exchangers. *J. Mol. Recognit.* 11:273–8, 1998.
- [130] Khan, W.Z., and Hamad, E.Z., Performance of an aromatic polyamide hollow-fiber membrane subjected to high salinity water. *Desalination.* 105:191–7, 1996.
- [131] Giorno, L., et al., Performance of a biphasic organic aqueous hollow-fiber reactor using immobilized lipase. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 64:345–52, 1995.
- [132] Nita, K., et al., Application of a chlorine-resistant polyamide ro membrane with a

hollow-fiber configuration. *Desalination*. 96:33–41, 1996.

- [133] Konagaya, S., et al., New chlorine-resistant polyamide reverse-osmosis membrane with hollow-fiber configuration. *J. Appl. Polym. Sci.* 79:517–27, 2001.
- [134] Sasagawa, N., et al., Ionic cross-linking of SO H-group-containing graft 3 chains helps to capture lysozyme in a permeation mode. *J. Chromatogr. A.* 848:161–8, 1999.
- [135] Kim, M., et al., Protein adsorption capacity of a porous phenylalanine-containing membrane based on a polyethylene matrix. *J. Chromatogr.* 586:27–33, 1991.
- [136] Haupt, K., et al., Interaction of human immunoglobulin G with L-histidine immobilized onto poly (ethylene vinyl alcohol) hollow fiber membranes. *J. Chromatogr. B.* 674:13– 21, 1995.
- [137] Yang, X., et al., Hollow fiber membrane chromatography: a novel analytical system for trace metal separation. *Anal. Chim. Acta.* 369:17–20, 1998.
- [138] Bajpai, A.K., Adsorption of bovine serum albumin onto glass powder surfaces coated with polyvinyl alcohol. *Journal of Applied Polymer Science.* 78(5): 933-940, 2000.
- [139] Kamran, S., Asadi, M., and Absalan, G., Adsorption of acidic, basic, and neutral proteins from aqueous samples using Fe₃O₄ nanoparticles modified with an ionic liquid. *Microchim. Acta.* 180: 41-48, 2012.
- [140] Zhang, J., et al., Bovine serum albumin (BSA) adsorption with Cibacron Blue F3GA attached chitosan microsphere. *Reactive and Functional Polymers.* (66)9: 916-923, 2006.
- [141] Serro, A.P., et al., Bovine serum albumin adsorption on titania surfaces and its

- relation to wettability aspects. *Journal of Biomedical Materials Research*. 46(3): 376-381, 1999.
- [142] Kopaç T., et al., Effect of pH and temperature on the adsorption of bovine serum albumin onto titanium dioxide. *Colloids and Surface A*. 322 (1-3): 19-28, 2008.
- [143] Wang, L., et al., adsorption and elution behaviors of bovine serum albumin in metal-chelated affinity cryogel beds. *Biochemical Engineering Journal*. 42(3): 237-242, 2008.
- [144] Kiss, E., et al., Temperature dependence of bovine serum albumin adsorption onto a poly (ethylene oxide)-grafted surface. *Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 76: 135-140, 1993.
- [145] Salgın, S., et al., Adsorption of bovine serum albumin on polyether sulfone ultrafiltration membranes: Determination of interfacial interaction energy and effective diffusion coefficient. *Journal of Membrane Science*. 278(1-2): 251-260, 2006.
- [146] Jiang, X., Huang, L., and Liu, X., Silica-coated magnetic nanoparticles loaded with Cu(II): preparation and application to the purification of bovine serum albumin. *Microchimica Acta*. 180:219–226, 2013.
- [147] Song, L., Yang, K., Jiang, W., Du, P., ve Xing, B., Adsorption of bovine serum albumin on nano and bulk oxide particles in deionized water. *Colloids and Surfaces: Biointerfaces*, 94:341 – 346, 2012.
- [148] Dizge, N., ve Tansel, B., Multiparametric investigation of competitive and noncompetitive sorption characteristics of SMP fractions (carbohydrate and protein) on activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*. 185:996- 1004, 2011.
- [149] Liang, H. F., ve Wang, Z. C., Adsorption of bovine serum albumin on functionalized silica-coated magnetic MnFe₂O₄ nanoparticles. *Materials Chemistry*

and Physics. 124:964–969, 2010.

- [150] Ravindran, A., Singh, A., Raichur, A. M., Chandrasekaran, N., ve Mukherjee, A., Studies on interaction of colloidal Ag nanoparticles with Bovine Serum Albumin (BSA). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 76:32-37, 2010.
- [151] Sezões, F., Carrott, L. R., Mourão, P. A., ve Carrot, P. J., Adsorption of Bovine Serum Albumin onto Mesocellular Silica Foams with Differently Sized Cells and Windows. *Adsorption Science & Technology*. 28:777 – 790, 2010.
- [152] Srisuwan, Y., Srihanam, P., ve Baimark, Y., Preparation of Silk Fibroin Microspheres and Its Application to Protein Adsorption. *Journal of Macromolecular Science*. 46:521-525, 2009.
- [153] Xu, D. P., Yoon, S. H., Mochida, I., Qiao, W. M., Wang, Y. G., ve Ling, L. C., Synthesis of mesoporous carbon and its adsorption property to biomolecules. *Microporous and Mesoporous Materials*, 115:461 – 468, 2008.
- [154] Li, W., ve Li, S., A study on the adsorption of bovine serum albumin onto electrostatic microspheres: Role of surface groups. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 294:159 – 164, 2007.
- [155] Sekaran, G., Mariappan, M., ve Raghavan, K. V., Adsorption of Bovine Serum Albumin from Salt Solution onto Activated Carbon. *Bioprocess Engineering*, 15:165-169, 1996.
- [156] Sigal, V. L., ve Osadchii, P. V., Relationship between the surface properties of activated carbons for hemosorption and their adsorption of globular proteins. *Khimiko-farmatsevticheskii Zhurnal*, 21:647-651, 1987.
- [157] Shimano, Y., Okada, T., Sakurada, I., Radiation induced graft copolymerization to polyester fibers with one-step impregnation method. *Nucl. Sci. Abst.* 28 (4): 7989, 1973.

- [158] M., Arslan, Cu(II) İyonlarının, 4-Vinil Piridin Aşılınmış Poli (Etilen Teraftalat) Lifler Üzerine Adsorpsiyon Özelliğinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2000.
- [159] Arslan, M., Use of 1,6-diaminohexane-functionalized glycidyl methacrylate-gpoly (ethylene terephthalate) fibers for removal of acidic dye from aqueous solution. *Fibers and Polymers*. 11(2): 177-184, 2010.
- [160] Yiğitoğlu, M., Arslan, M., Adsorption Behaviour Of Methylene Blue From Aqueous Solution On Poly (Ethylene Terephthalate)-g-4-Vinylpyridine 2Hydroxyethylmethacrylate Fibers.e-polymers. 55: 1-15, 2007.
- [161] Işıklan, N., Inal, M., Yiğitoğlu, M., Synthesis and Characterization of Poly(N-Vinyl-2-Pyrrolidone) Grafted Sodium Alginate Hydrogel Beads for the Controlled Release of Indomethacin. *J. Appl. polym. Sci.* 110:481-493, 2008.
- [162] Arslan, M., Günay, K., Synthesis of amine-functionalized methacrylic acid-gpoly (ethylene terephthalate) fiber and its Congo red removal ability. *Polymer Bulletin*. 1-13, 2017.
- [163] Temoçin, Z., Yiğitoğlu, M., Studies On The Activity And Stability Of Immobilized Horseradish Peroxidase On Poly (Ethylene Terephthalate) Grafted Acrylamide Fiber. *Bioprocess And Biosystems Engineering*. 32 (4):467-474, 2009.
- [164] Dafader NC, Rahman N, Majumdar SK, Khan MMR, Rahman MM (2017) Preparation and characterization of iminodiacetate group containing nonwoven polyethylene fabrics and its application in chromium adsorption. *J Polym Environ*. doi:10.1007/s10924-017-0991-8
- [165] Ünlü, N., et al., Investigation of protein adsorption performance of Ni²⁺ attached diatomite particles embedded in composite monolithic cryogels. *Journal of Separation Science*. 34 (16-17): 2173-2180, 2011.