

Protein Adsorpsiyonu Üzerine Bir Derleme

İrem Çağlar¹

Ayşe Yağmur Bağırın²

Demet Baybaş³

Özet

Bu çalışma, genelde protein, özelde Sığır Serum Albumin (Bovine Serum Albümin; BSA) adsorpsiyonu üzerine odaklanmış bir derleme çalışmadır. Biyomateryal olarak kullanılacak malzemelerde protein adsorpsiyonu, malzemenin biyouyumluluğu ile ilgili önemli bir konudur. Ayrıca BSA, biyomedikal amaçlarda kullanılan bir model protein olduğundan, adsorpsiyonu incelenmiş ve farklı uluslararası ulusal makalelerden bilgi alınarak karşılaştırılması sağlanmıştır. Araştırmada önce, deneysel çalışmalarda model protein olarak seçilen BSA hakkında, ardından da en çok kullanılan adsorpsiyon izoterm modelleri ve adsorban malzemelerle ilgili genel bilgiler verilmiştir. Bunlara ek olarak BSA adsorpsiyonu çalışmalarından bir kısmı karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Adsorpsiyon davranışını incelemek için metal, polimer ve nanopartikül bazlı materyaller dahil olmak üzere farklı yüzeylerin kullanıldığı literatürler ve lisansüstü tezler okunmuştur. Bu kapsamda, BSA adsorpsiyonu deneylerinde maksimum adsorpsiyon düzeyinin materyalin yüzey hidrofobikliği, yüzey yükü ve yüzey pürüzlülüğüne bağlı değişimleri açıklanmıştır. Sonuçlar, adsorpsiyon sürecine, BSA derişimi, pH, sıcaklık ve temas süresi gibi deneysel koşulların etkileri göz önünde bulundurularak karşılaştırılmıştır. Çalışmada son olarak, literatürden elde edilen birkaç adsorban malzemenin maksimum adsorpsiyon kapasiteleri karşılaştırmalı olarak çizelge ile sunulmuştur.

1 KG/İPK Uzman Yardımcısı, Biofarma İlaç, iremcglr18@gmail.com, ORCID ID 0009-0000-7809-7226

2 Öğrenci, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Biyokimya Bölümü, ayse.341@hotmail.com, ORCID ID 0009-0005-4955-7736

3 Doç. Dr., Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Biyokimya Bölümü dbaybas@cumhuriyet.edu.tr, ORCID ID 0000-0002-7712-754X

Genel olarak, bu derleme ile, BSA adsorpsiyonu ve adsorpsiyonun yüzey özellikleri ve çevresel faktörlerle ilişkisinin anlaşılmasına katkıda bulunmak amaçlanmıştır. Bunun yanında çeşitli biyomedikal ve biyoteknolojik uygulamalar için biyomalzemelerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için değerli bilgiler sağlamayı da hedefleyen bir derleme çalışmadır. Gelişmiş biyosensörler, ilaç dağıtım sistemleri ve doku mühendisliği iskelelerinin tasarımında BSA adsorpsiyonunun potansiyelini keşfetmek için daha fazla araştırma yapılması için motivasyon sağlamak, çalışmanın bir diğer amacıdır. Ayrıca BSA ve adsorpsiyon kavramları ile ilgili genel bilgiler içeren bir derleme olması, bu alandaki Türkçe kaynaklara katkı sağlayacaktır.

GİRİŞ

Proteinler, canlı türlerinde önemli bir rol oynayan ve canlı organizmaların bünyesinde bulunan, C, H, N, O ve S elementlerini içeren, yağ asitleri, hematin, billirubin, yüzey aktif maddeler, metal iyonları ve ilaçlar gibi inorganik/organik parçalarla birleşme eğilimi gösteren, yaşamın kritik bileşenlerindedir (Aggrawal vd., 2022). Sadece hücrelerin yapıtaşları olarak görev yapmakla kalmazlar, aynı zamanda hücreler arasında iletişim sağlar, plazma membranlarında taşıma fonksiyonu görür, enzim olarak biyokimyasal tepkimeleri katalizler ve moleküler seviyede makine benzeri işlevler yerine getirebilirler. Bunun yanı sıra, proteinler özel moleküller olarak antikorlar, toksinler, elastik lifler ve hormonlar gibi farklı şekillerde metabolizmada görev alırlar (Alberts vd., 2008). Amino asitlerle polipeptit ana zincir ve her bir amino asidi ayırt eden yan gruplar içerir. Polipeptid zincirinin bir kısmında negatif (-) yükle yüklenmiş karboksil (-COOH), diğer kısmında ise pozitif (+) yükle yüklenmiş amin (-NH₂) grupları yer alır. Bu gruplar sayesinde, çeşitli hidrofobik veya hidrofilik özelliklere sahip, polar veya polar olmayan yapılar oluşabilir. Bu yan gruplar, proteinin üç boyutlu yapısını ve işlevini belirleyen önemli faktörlerdir. Proteinlerin yapısı; polipeptid zincirindeki amino asitlerin sırası (primer yapı), amino asit R grupları göz ardı edilerek polipeptid zincirinin uzayda aldığı şekil (sekonder yapı) ve protein molekülündeki tüm atomların, R grupları dahil olmak üzere, uzaydaki konumu (tersiyer yapı) anlaşılmalıdır. Biyolojik bir işlevi olan protein birden çok polipeptid zinciri (alt birimler) içeriyorsa, bu alt birimlerin birbirine göre konumları da (kuarterner yapı) önemlidir (Nelson ve Cox, 2004; Schaller vd., 2008).

Albümin, 500'ün üstünde amino asidin birleşmesiyle oluşan proteindir. Karaciğerde sentezlenir ayrıca birçok işlevi vardır. Moleküler olarak genellikle 60.000 ila 70.000 Dalton arasında değişen bir kütleye sahiptir. Albümin, bilimsel amaçlarla ticari olarak elde edilebilir. İnsan kaynaklı albümin HSA (Human Serum Albumin), sığır kaynaklı albümin ise BSA (bovine

serum albumin) olarak adlandırılır. Bu iki albümin türü, pek çok alandaki laboratuvar araştırmalarında ve endüstriyel uygulamalarda kullanılan model proteinlerdir. Biyokimya araştırmalarında albümin, enzimlerin aktif kalmasını veya proteinlerin çözünmesini kolaylaştırmak için kullanılır. BSA, molekülün açıkta kalan yüzeyindeki çoklu bağlanma bölgeleri nedeniyle birçok organik ve inorganik molekül ve ilaçla etkileşime girebildiği için ilginç bir biyomedikal uygulamaya sahiptir (Ironsides, 2006; Jahanban-Esfahlan ve Panahi-Azar 2016; Roufegarinejad vd., 2018; Lee vd., 2020).

Adsorpsiyon, hareketli faz üzerindeki atomların, moleküllerin ya da iyonların katı yüzeye bağlanması sürecidir. Bu süreçte, adsorbat adı verilen maddeler gaz, sıvı veya çözücü içinde çözündürülmüş katılar şeklinde olabilirler. Adsorpsiyona maruz kalan bileşenlere *adsorbat*, adsorpsiyon sürecinin meydana geldiği yüzeylere *adsorban* adı verilir. Adsorpsiyonun gerçekleşmesi ve katı yüzeyi tercih eden bileşenlerin kütle fazından aktarılabilmesi için belirli koşulların sağlanması gerekmektedir. Fiziksel adsorpsiyon, van der Waals kuvvetlerini içeren etkileşimler niteliğindedir ve adsorbat fazından adsorban yüzeye geçen bileşenler arasında fiziksel çekim kuvvetleri yer alır. Kimyasal adsorpsiyon (kemisorpsiyon), elektron paylaşımı veya değişimi gibi kimyasal etkileşimlerin rol oynadığı bir mekanizmadır ve adsorban yüzeyinde kompleks oluşumunu içerir. İyon değişimi adsorpsiyonu ise Coulomb etkileşimleri sonucu gerçekleşir ve iyonların adsorban yüzeyiyle etkileşerek yer değiştirdiği bir süreçtir (Sarıkaya, 2000).

Protein ve adsorban yüzeyi arasında bulunan adsorpsiyon davranışı ve etkileşimi, tıp, farmasötik bilimler, analitik bilimler, biyoloji, biyoteknoloji, çevre bilimi, biyomedikal ve biyokimya mühendisliği, hücre biyolojisi veya biyofizik gibi çeşitli bilim dalları için oldukça önemlidir. Örneğin, biyomedikalde implantlar ve kan proteinleri arasındaki adsorpsiyonun nasıl olduğunun bilinmesi gerekir. Trans-membran sinyalleme veya kan pıhtılaşma kademesi gibi birçok biyolojik işlemin ilk adımı protein adsorpsiyonudur. Kalp-damar cerrahi, hemodiyaliz membranları ve kontak lens gibi membran oksijenasyonuna yardımcı malzemeler, implant malzemeleri üzerinde bulunan protein adsorpsiyonundan faydalanmaktadır. İlaç salım sistemlerinin tasarlanmasında adsorpsiyon olgusunun kullanılması tıp alanındaki başka bir uygulamadır. Ultrafiltrasyon membranlarının adsorpsiyon süreci için ya da ısı eşanjörlerinin kirlenmesinin en aza indirilmesi amacıyla, zaman zaman protein adsorpsiyonu gereklidir. Yapay doku iskelelerinde protein adsorpsiyonu uygun bir vaskülarizasyon için önemlidir. Ancak bazen proteinlerin yüzeye adsorplanması istenmeyen durumlara yol açar ve önlenmesi gerekir. Örneğin kan akışıyla temas halinde olan biyomedikal implantlarda protein adsorpsiyonu tromboza yol açabilir. Ayrıca, bu adsorpsiyon partiküllerin,

bakterilerin veya hücrelerin yapışmasını tetikleyebilir ve muhtemelen inflamasyon basamaklarını veya kirlenme süreçlerini teşvik edebilir. Analitik bilim alanında, sensör yüzeyleri, protein çipleri veya tahlil platformları üzerinde spesifik olmayan protein adsorpsiyonu, cihazın analitik performansını düşüren ciddi bir sorundur (Rabe vd., 2011; Hasani vd., 2023). Protein ve nanopartiküller (NP'ler) arasındaki etkileşimler kovalent bağ şeklinde ise "Biyokonjugasyon" kavramından söz edilir. Bunun yanında hidrofobik, elektrostatik ve koordinasyon bağlanması gibi diğer bazı etkileşimler de NP'lerin BSA ile konjugasyonunda önemli bir yere sahiptir (Aggrawal vd., 2022).

Proteinlerin çoğu heterojen yüzeylere sahip olduğundan, adsorban yüzeyi ile farklı şekillerde etkileşime girebilirler. Bu etkileşimler sırasında protein derişimi, sıcaklık, iyonik güç ve pH gibi etkenlerin ciddi rolü vardır. Proteinlerin adsorpsiyonu üzerinde, elektrostatik etkileşimler ve hidrofobiklik gibi güçlerin yanı sıra yapısal stabilizasyon da önemli bir rol oynar. Ayrıca, adsorpsiyon sürecinde proteinler yapısal değişikliklere uğrar ve bu değişiklikler proteinin stabilitesi, hidrofobikliği, yükü ve yüzeyin yükü gibi faktörlere bağlı olarak belirlenir. Başka bir ifade ile adsorpsiyon, adsorbanın kimyasal ve fiziksel niteliklerine, protein özelliklerine ve çevresel faktörlere (iyonik güç, sıcaklık, pH) bağlı olarak proteinlerin katı yüzeylere doğru göçünü etkiler (Sarıkaya, 2000; Chandrasekaran, 2014).

Bu çalışmada yukarıda sıralanan konunun önemi nedeniyle BSA adsorpsiyonu ile ilgili literatür bilgilerinin derlenmesi amaçlanmıştır. Literatür verilerinden önce Albümin ve bir türü olan Sığır Serum Albümini (BSA), ayrıca adsorpsiyon kavramı hakkında kısa bilgiler verilecektir. BSA adsorpsiyonunda ve genel anlamda adsorpsiyon değerlendirmelerinde sıklıkla kullanılan iki model açıklanacaktır. Özellikle Langmuir Modeli'nden elde edilen maksimum adsorpsiyon kapasitesi adsorplayıcı malzemelerin karşılaştırılmasını sağlamaktadır. Bu nedenle çalışmanın son bölümünde literatürlerden seçilen bazı BSA adsorpsiyonu çalışmalarında kullanılan adsorbanların maksimum adsorpsiyon kapasiteleri karşılaştırılacaktır.

1. Albüminin Fizikokimyasal ve Yapısal Nitelikleri

Proteinler, amino asitlerin R kalıntılarındaki pek çok grup ile terminal karboksil ve amino gruplarına bağlı olarak, sadece molekül yüzeyinde ya da yüzeye yakın alanlarında, ortamın pH seviyesine göre yüklü durumda bulunabilir (Tay, 2004). Albüminler, asidik ortamlarda pozitif yük taşıırken, bazik ortamlarda negatif yüklüdürler. Albümin proteinlerinin net yükünün sıfır olarak bulunduğu nokta (izoelektrik nokta), yaklaşık olarak pH 4.7-

5 aralığında bulunur (Ekingen, 2012). Fizyolojik açıdan serum albümini, en önemli kan proteinlerinden biridir ve çok farklı özelliklere sahip çeşitli maddelere (hidrofobik veya hidrofilik, anyonik veya katyonik vb.) karşı aktif, çok yönlü bir taşıyıcı proteindir. Genel olarak bu protein basık bir şekilde karakterize edilir. Her biri bir iç disülfit bağları ağı ile stabilize edilmiş ve zıt işaretlere sahip birkaç iyonlaşabilir grup taşıyan üç alandan (I, II ve III) oluşur. (Murayama ve Tomida, 2004).

Albümin karaciğerde sentezlenen, vücutta en yaygın bulunan ve pek çok işleve sahip bir proteindir. Yapısı, tek bir polipeptid zinciri tarafından oluşturulur ve ikincil bir yapıya sahiptir. İkincil yapısı, çoğunlukla α -sarmallarından oluşur. Albümin, “yumuşak globulinler” olarak adlandırılan 20’den fazla farklı tür içerir. En yaygın çalışılan tür ise insan ve sığır (HSA ve BSA) serum albüminidir (Lee vd., 2020).

Bu çalışmada daha çok BSA üzerinde durulacağı için aşağıda özelliklerinden bahsedilmiştir.

2. Sığır Serum Albümini (Bovine Serum Albümin, BSA)

BSA’nın, fizyolojik pH’ta eksi yüklü olduğu ve yüksek oranda plazmada bulunduğu için kanın pH dengesini düzenleyen bir etken olduğu düşünülmektedir. Yapılan analizler, Bovin Serum Albüminin elipsoit şekline benzeyen yapıda olduğunu ortaya koymuştur. Ancak BSA’nın yüklü durumda, yükün homojen bir şekilde bu elipsoit yapıya dağılmadığı tespit edilmiştir. Sığır serum albümini 20 Tyr içeren 583 amino asit monomerinden oluşmaktadır. BSA’nın ikincil yapısı α -sarmal olup hiçbir β -tabaka içermemektedir. Üç boyutlu yapısı, her biri altı sarmaldan oluşan üç alandan oluşur. pH, sıcaklık ve çeşitli denatüranlara bağlı olarak, ikincil ve üçüncül yapılarda değişiklikler meydana gelir (Militello vd., 2003; Murayama ve Tomida, 2004). BSA (Bovine Serum Albumin) proteinin fizikokimyasal nitelikleri Çizelge 1’de belirtilmiştir.

Tablo 1. BSA’nın fizikokimyasal nitelikleri (Efimova, 2006)

Mol Kütlesi (Da)	66430
İzoelektrik Nokta (pI)	4.8
Difüzyon Katsayısı ($m^2 s^{-1}$)	5.9×10^{-11}
Optik Absorbans $A^{1\%L}_{279 \text{ nm}}$	0.63
Hacim (Protein kristal yapısı) v_c (nm^3)	84.5
Toplam Yük	
pH 4	+25
pH 5	~ 0
pH 7.5	-7.5

Bir proteinin viskozitesi, mol kütlesi, yüzey yükü, şekli, hacmi, boyutu ve deformasyon gibi özgün niteliklerine bağlıdır. Bunun yanında bir proteinin akışa karşı direncini (viskozite), sıcaklık, iyon gücü, pH ve iyon çeşidi gibi birçok dış faktör etkiler. Bovin serum albüminin viskozitesi literatürde 3.7-4.4 mL g⁻¹ olarak belirtilmiştir. Kolthoff ve çalışma arkadaşları, 1958 yılında bovin serum albüminin viskozite değerinin, disülfid bağlarının oluşturduğu boşlukların varlığında arttığını raporlamışlardır (Tay, 2004).

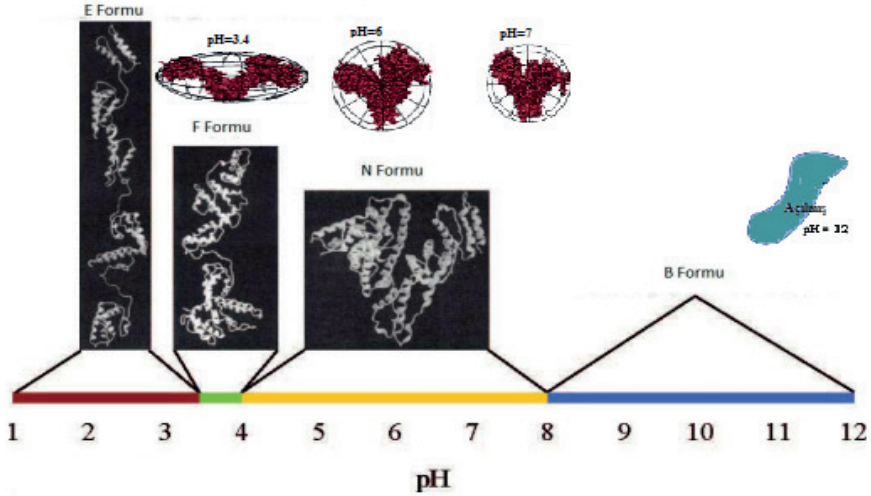
BSA, suda en çok çözünen proteinlerden biridir ve yağ asitleri, safra asitleri, birçok ilaç, yüzey aktif maddeler vb. gibi çeşitli bileşiklere kolaylıkla bağlanabilir. (Aggrawal vd., 2022). BSA'nın adsorptif özelliklerinin araştırılması, BSA'nın fonksiyonel ve beslenme aktivitelerinde hayati derecede önemli bir role sahip olan ve insan serum albüminine fonksiyonel benzerliği olan ana serum proteinlerinden biri olması nedeniyle de öne çıkmıştır (Aslan vd., 2022). BSA'nın diğer önemli özellikleri, aşağıda, iki başlıkta özetlenmiştir.

2.1. pH ve Sıcaklığın Bovin Serum Albumine Etkisi

En önemli biyo-çevre parametrelerinden biri olan pH'nın, proteinlerin yük durumları ve konformasyonları (geometrileri) üzerinde büyük etkileri vardır. Dolayısıyla proteinler, farklı pH koşulları altında çözünürlük ve biyoaktivite gibi çok farklı özellikler gösterecektir. Gerçekte, farklı proteinler çözeltideki pH değişikliklerine karşı farklı toleranslara sahip olabilir [Zhang et al., 2019]. Üzerinde en çok çalışma yapılan protein BSA da, farklı pH değerlerinde değişik yüklerle yüklenir ve bunun sonucu olarak, fiziki yapısı pH tarafından etkilenir. Bovin Serum Albüminin Şekil 1'de görüldüğü gibi çeşitli konformasyonlarda (geometri) bulunabilir. pH değeri 8'den büyük olduğunda BSA, bazik hal olarak adlandırılan ve daha az karakterize edilen B (basic) yapısına geçer. pH 4 ve 8 aralığındaysa kalp şeklinde ve N olarak adlandırılan normal bir yapıya sahiptir. pH değeri 4'ün altında ise BSA'nın konformasyonu hızlıca şekil değiştirmeye başlar ve önce F (fast) yapısına, ardından da E (expanded, genişletilmiş) yapısına dönüşür. Buna ek olarak, Bovin Serum Albüminin izoelektrik noktası olan pH'nın yaklaşık 5 olduğu belirtilmektedir. Bu pH değerinde BSA'nın suda çözünürlüğü en düşük seviyededir (Edri ve Regey, 2008).

Başka bir kaynağa göre ise (Fehér vd., 2020), BSA sulu çözeltide, çözeltili pH'ına bağlı olarak beş farklı konformasyon oluşturabilir: genişletilmiş (expanded) hal (pH <2.7); hızlı (fast) form (pH=2.7 – 4.3); normal (normal) yapı (pH=4.3–8.0); bazik (basic) form (pH=8.0–10.0) ve eski (aged) yapı (pH > 10.0).

0.05 mmol mL⁻¹ derişimdeki BSA'nın disodyum hidrojen-fosfat sitrik asit tamponlarında farklı pH değerlerinde seyreltiği bir çalışmada, MCE (mobility capillary electrophoresis) deneyleri yapıldıktan sonra, BSA'nın hidrodinamik yarıçapının ve yük durumunun genellikle düşük pH'larda arttığı bulunmuştur. Yarıçapı 37.84'ten 52.51 °A'ya çıkarken yükü -3.93'ten +15,45'e değişir. BSA'nın etkin yükü, pH=4.4'te negatiften pozitif'e geçiş yapar. Bu değer, literatürdeki BSA'nın izoelektrik noktası (pI) değerıyla uyumludur. Çalışmada simülasyon kullanılarak, farklı pH koşulları altında BSA'nın en olası konformasyonları elde edilmiş ve Şekil 1'de kırmızı ile gösterilmiştir. pH nötr veya 6.0 koşulları altında BSA "temel" konformasyon sergiler ve "Y" şeklinde bir "tabak"tır. Daha düşük pH koşulları altında BSA'nın açılma süreci iyi gözlemlenebilmektedir. pH'ın düşmesiyle, BSA'nın net yükü önemli ölçüde artar. Yüklü kalıntıların artan sayısı, bir BSA molekölü içinde yoğun elektrostatik kuvvetleri indükleyerek molekölün çökmesine ve/veya açılmasına neden olur. Çözücünün pH'ı 3.4'e düşüğünde, BSA'nın, küresimsi "V" şeklinde "rugby" yapıya değişeceği önerilmiştir. BSA içindeki disülfid bağları ve hidrofobik etkileşimler, sarmal içeriğin azalmasıyla birlikte kırılır ve bu da BSA'nın "F" konformasyonuna açılmasına neden olur (Zhang vd., 2019).



Şekil 1. Farklı pH düzeylerinde BSA'nın geometrik düzenleri (Edri ve Regey, 2008, Zhang vd., 2019 ve Fehér vd.2020'den alınarak düzenlenmiştir)

Oda sıcaklığında üçüncül yapı iyi tanımlanmış ve kararlıdır. Sıcaklık arttığıka, bazı moleköl bölgeler yeni moleköller arası etkileşimlere açık

hale gelir ve disülfit ve kovalent olmayan bağlar aracılığıyla çözünür agregatlar üretilir. BSA'nın ısı kaynaklı denatürasyonunu araştırmak için çeşitli spektroskopik teknikler kullanılarak bir dizi çalışma yürütülmüştür. Bunlardan ulaşılan başlıca sonuçlar şunlardır: BSA 40 °C'ye kadar denatüre olmaz. Molekülün konformasyonel değişiklikleri 42-50 °C sıcaklık aralığında geri dönüşümlüdür, ancak BSA'nın β -helikslerinin açılması 52-60 °C sıcaklık aralığında geri döndürülemez. 60 °C'den itibaren BSA'nın açılması ilerler ve molekülün β -agregasyonu (topaklanması) başlar. 65 °C'ye kadar olan kısım ve "birinci kısım" olarak adlandırılır. 70 °C'nin üzerinde BSA'nın açılmasıyla jel oluşumu daha da ilerler. Ek olarak, birçok protein gibi BSA da sulu bir ortamda ısının neden olduğu jeller oluşturur; bu, protein bilimi açısından büyük ilgi uyandıran bir özelliktir. Genel olarak, proteinin β -toplanması, bazı protein modellerinin önerildiği birleşme olaylardan biri olarak tanımlanabilir (Militello vd., 2003; Murayama ve Tomida, 2004).

Nnyigide ve Hyun, 2020'de yayınladıkları çalışmada, BSA protein çözeltisinin 65°C'den büyük sıcaklıklara kadar ısıtıldığında molekülün büyük ölçüde açıldığı ve sürekli ısıtma altında katlanmamış protein agregatlarının jel oluşturduğunun iyi bilindiğini belirtmişler, ancak bu geleneksel inancın aksine sodyum dodesil sülfatın (SDS) BSA'yı termal denatürasyona ve jelleşmeye karşı koruyabildiğini göstermişlerdir. Bu durum, reolojik özelliklerin ölçülmesi, inersiyon tüpü testleri (tube inversion test) ve MD simülasyonları ile kanıtlanmıştır. Reolojik özellik ölçümlerine dayanarak, SDS koruyucu etkisinin kesinlikle $[SDS]/[BSA]$ molar oranına bağlı olduğu bulunmuştur (Nnyigide ve Hyun, 2020).

2.2. BSA'nın İşlevsel Özellikleri

2.2.1. Köpürme

Köpükler, sürekli sulu fazda dağılmış hava kabarcıklarını içeren kolloidal sistemlerdir. Köpük oluşumunda, proteinin hava-su arayüzeyinde yapışkan bir film oluşturabilmesi için suyla çözünür ve katlanabilir (esnek) olması gerekmektedir. Ancak, lipidlerin varlığı, genellikle proteinin köpürme özelliğini olumsuz etkiler. Ayrıca, proteinlerin köpürme özellikleri farklı tipte lipidler tarafından farklı şekillerde etkilenir. BSA ve lizozom gibi basit proteinler ile etkileştiğinde, arayüzeyde oluşan çapraz bağlar sayesinde stabilizasyon ile köpük yayılması gerçekleşir. Sığır Serum Albüminin elektrostatik itme kuvveti minimum olduğunda, kendi izoelektrik noktasına yakın bir performans sergiler. BSA'nın lizozom ile etkileştiği durumlarda, stabilizasyonla yayılma pH 8-9 seviyelerinde gerçekleşir. Bu pH seviyesi, lizozomun (10.7) ve Bovin Serum Albümin (4.8) izoelektrik noktaları

arasında olduğu zaman ortaya çıkar, çünkü bu durumda proteinler zıt yüklüdür. Lipitler, özellikle polar lipitler ve monogliseritlerin varlığında, kararlı olmayan köpükler oluşmasına neden olurlar. Fosfolipitler, proteinlerle yüzey aktif moleküllerin rekabet etmesi sonucunda, protein köpüklerinin stabilitesini etkileyen hava-su arayüzeyinde proteinin kısmi yer değişimiyle sonuçlanan adsorpsiyonu bozarlar (Gürsoy vd., 2003; Ekingen, 2012).

2.2.2. Jelleşme

Birçok protein, büyük moleküllerin ve agregatların 3 boyutlu bir ağı olan jeller oluşturma yeteneğine sahiptir. Ağ suyu tutmanın yanı sıra elastisite ve jelin tekstürel (mekanik ve geometrik) dayanıklılığında sorumludur. Protein jelinin oluşumu 2 evreli bir olaydır. İlk aşamada, protein molekülleri genellikle ısı etkisiyle konformasyonlarında değişiklik veya kısmi denatürasyon geçirir. Denatüre olmuş proteinler su içinde dağılır hale gelir. İkinci aşamada, dağılım viskozitesi, bağ yapmamış proteinlerle etkileşerek yoğunlaşan 3 boyutlu yapıdan kaynaklanan artış gösterir. Bu aşamada, bağımsız olarak denatüre olmuş proteinlerin kısmi birleşmesi veya agregasyonu meydana gelir. Proteinin jel haline gelmesi, yapısal bir matriks sağlayarak suyu ve çeşitli gıda bileşenlerini tutar. Jel özellikleri, proteinin özellikleri (inter- ve intra-çapraz bağlanma mekanizmaları), protein zincirlerinin doğası ve katlanabilirliği tarafından etkilenir. Ayrıca, protein derişimi, ısıtma ve soğutma sıcaklığı, ısıtma süresi ve çevresel faktörler (pH, iyonik güç vb.) jel oluşumu sırasında denatürasyon ve çapraz bağlanmayı etkiler. Protein dispersiyonunda lipitlerin varlığı protein jelleşme özelliklerini bozabilir ya da değiştirebilir. Protein jel ağları, proteinle kaplı lipit damlacıklarının (PKLD) varlığında etkilenmektedir. Lipit damlacıklarının varlığı, proteinin jel özelliklerini iyileştirir. Bazı durumlarda, proteinlerle lipitlerin etkileşimi jel oluşum yeteneğini artırırken, bazı durumlarda lipitler proteinin viskozite özelliklerini etkileyebilir. Bovin Serum Albümin, ısıtıldığı durumlarda kovalent olmayan ve disülfid bağlar aracılığıyla çözünebilir birikintiler meydana getirir. Polimerize moleküller sayesinde oluşan çözünebilir birikintiler, proteinlerin ısıya bağlı jel yapı oluşturmalarının ön aşamalarında meydana gelir ve ardından polimerizasyonla birlikte katı haldeki jel ağı oluşur. Bu özellik, jel matrisinde lipitlerin destek partikülleri tarafından protein jel ağının güçlendirilmesiyle oluşur (Gürsoy vd., 2003).

2.2.3. Ligand -Bağlayıcı

Çeşitli ligandlara karşı tersinir bağlama kabiliyetine sahip olması albüminin en önemli özelliklerinden biridir. BSA, plazmaların taşınması sırasında çözünmeyen yağ asidi moleküllerinin temel taşıyıcılarından ve

ayrıca serbest oksijen radikallerini nötralize etme ve toksik özellikli lipofilik metabolitlerin inaktivasyonu gibi çeşitli roller üstlenir. Albumin, hematin, yağ asitleri, billirubin ve benzeri maddelerle yüksek oranda benzeşme gösterir ve negatif yükle yüklenmiş aromatik bileşikler için belirgin bağlayıcı niteliği vardır. BSA ayrıca alfa-fetoprotein (AFP) ve D vitamini bağlayıcı proteini (VDP) gibi yapıları bünyesinde bulunduran bir multigen protein ailesine mensuptur. Alfa-fetoprotein, albüminin fetal eşdeğeri olarak düşünülse de bağ yapma nitelikleri farklıdır ve alfa-fetoproteinin fetal gelişim için elzem olan belirli ligandlara yüksek bir bağlama yeteneği olduğu öne sürülmektedir. VDP'nin ise kalsiyum seviyesinin düzenlenmesinde ciddi bir rolü vardır. Buna ek olarak, VDP ve ADP'nin, II. sınıf MHC ile etkileşimi, immün yanıt sisteminde ciddi roller üstlenebileceğini göstermektedir. Bu proteinlerin, doku uyumluluğu kompleksiyle olan etkileşimi, bağışıklık tepkilerini düzenleme potansiyeli taşır. Serbest sülfidrilin (Cys 34) plazma dolaşımında bulunan ~%30 oranındaki kısmı, oksidasyon süreciyle glutatyon ve sistein aracılığıyla değiştirilir (Ekingen, 2012).

3. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon, sıvı ve gaz akışkanların ayrılması ve saflaştırılması için yaygın olarak kullanılan basit ve çoğu zaman ucuz bir işlemdir. Adsorpsiyonun tipik kullanımları arasında antibiyotikler, boyalar, ağır metaller ve diğer küçük/büyük moleküller gibi hedeflenen kirleticilerin sulu çözeltilerden veya atık sudan uzaklaştırılması yer alır. Adsorpsiyon derecesi ve miktarı, adsorban ve adsorbat türleri tarafından etkilenen birinci faktördür. Adsorpsiyon işleminde kullanılan malzemeler ile adsorbat arasındaki uyum işlemin verimini artırır. Genellikle, yüksek yüzey alanına sahip adsorbanlara öncelik verilir, çünkü bu nitelik az miktarlarda adsorban ile yüksek oranda adsorbat maddenin katı yüzeyiyle bağlantısını sağlar. Adsorbanın yüzey nitelikleri de etkilidir. Yüzey grupları, yüzey yükü, gözenek yapısı ile boyutu, hidrofobik-hidrofilik davranışı gibi faktörler adsorpsiyonu artırabilir. Aynı zamanda, adsorbanın adsorbatın yüzey gruplarına karşılık gelen yüzey gruplarını içermesi, kimyasal adsorpsiyonu mümkün kılar. Sulu çözeltilerde gerçekleşen adsorpsiyon durumunda, hidrofobik-hidrofilik etkileşimler, adsorbatın yığın fazdan adsorban yüzeyine geçişini sağlar. Adsorbat ve adsorban arasındaki elektrostatik çekimi artırmak ve adsorpsiyon derecesini artırmak için zıt yüklü malzemeler seçilebilir. Genellikle, adsorpsiyon işlemi ekzotermik bir süreç olduğundan, sıcaklık artışı adsorpsiyonu olumsuz etkiler. Bu nedenle rejenerasyon yapılırken adsorbanı ısıtılarak adsorbat serbest bırakılabilir. Bununla birlikte, bazı araştırmacılar, kimyasal adsorpsiyon için sıcaklık

artışının adsorpsiyon derecesini artırdığını öne sürmüşlerdir (Mhemeed, 2018; Alaqarbeh, 2021; Pourhakkak vd., 2021; Rajabi vd., 2023).

Adsorpsiyon kinetiği, adsorban-adsorbat etkileşiminin zamanla nasıl değiştiğini araştırır. Adsorpsiyon sistemlerinin tepkime hızını belirlemek için çeşitli kinetik modeller kullanılır. Genel olarak uygulanan kinetik modeller yalancı (pseudo) birinci derece ve yalancı (pseudo) ikinci derece kinetik modellerdir. Bu modellerin ikisi de dış film difüzyonu, yüzeyde bağlanma, partikül içi difüzyon gibi adsorpsiyonun bütün aşamalarını içerirler ve yalancı/sözde (pseudo) modeller olarak adlandırılırlar (Gündüz ve Bayrak, 2017).

Adsorpsiyonla ilgili her yıl milyonlarca araştırma yayınlanmaktadır. Dünyanın dört bir yanındaki araştırmacılar, düşük maliyetli ve daha etkili adsorbanlar aramaya devam etmektedir. Bu yayınların çoğu, çeşitli kaynaklardan yeni adsorbanların sentezini ve bunların su kütlelerinden çeşitli inorganik ve organik kirleticilerin iyileştirilmesinde uygulanmasını rapor etmektedir (Rajabi vd., 2023).

3.1. Adsorpsiyon İzotermeleri

Saflaştırma ve ayırma endüstrilerinde geliştirilen çok sayıda yöntem arasında adsorpsiyon işlemi, ucuz, kolay ve çevre dostu olması nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Araştırmacılar, adsorpsiyon mekanizmasını anlamak için deneysel sonuçlarını çeşitli izoterm modelleriyle birleştirmeye çalışmaktadırlar. Bazı araştırmacılar verileri doğrusal izoterm modellerine yerleştirirken, diğerleri izoterm parametrelerini tahmin etmek için doğrusal olmayan izoterm modelleri kullanmaktadır. İzoterm modellerinin uyumu çeşitli adsorbanlar ve kirleticiler için farklılık gösterir. Antibiyotikler, boyalar, proteinler, pestisitler ve ağır metal iyonları gibi kirleticilerin adsorptif uzaklaştırılmasının asıl mekanizmalarını açıklayan izoterm modelleri, çok sayıda katyonik/anyonik boyanın, proteinin, antibiyotiklerin, pestisitlerin ve ağır metal iyonlarının ayrıntılı karakteristik özellikleri hakkındaki bilgileri derleyen derleme çalışmaların da sayısı hayli fazladır (Majd vd., 2022; Murphy vd., 2023; Rajabi vd., 2023). Bu çalışmalar, konuya yeni başlayan araştırmacıların deney kurguları için güncel bilgiler vermektedir.

Adsorpsiyon izotermeleri, adsorban yüzey üzerinde adsorbe edilen madde oranı ile gaz veya sıvı fazındaki madde derişimi ya da basıncı arasındaki ilişkiyi açıklamak için kullanılır. Sabit sıcaklıkta gerçekleştirilen adsorpsiyon çalışmalarında, adsorpsiyon deneylerinde kullanılan adsorbanın birim kütlelerinde adsorbe edilen madde oranı ile adsorplanmadan kalan adsorbatın denge derişimi veya basıncı arasında bir eğri elde edilir. Genel olarak,

adsorplanan madde miktarı, adsorplayan maddenin derişiminin kompleks bir fonksiyonu olarak sabit sıcaklıkta değişir. Adsorpsiyon izotermi, bilinen bir adsorbe edici maddenin miktarı ile adsorbe edilen maddenin derişimini denge seviyesine ulaştırarak elde edilir (Kanmaz, 2022). Yani başlangıç derişimi (C_0) ve hacmi (V) bilinen adsorbat çözeltiliye atılan belirli kütledeki (m) adsorban sabit sıcaklıkta belirli süre inkübe edilir. Denge sonunda (t süre) ayrılan çözeltilerin derişimi (C_d) çeşitli analitik yöntemlerle belirlenir. Bu t anında birim adsorban kütlesi başına adsorplanan madde miktarı aşağıdaki eşitlikle hesaplanır (Baybaş ve Ulusoy, 2016; Aslan vd., 2022; Rajabi vd., 2023).

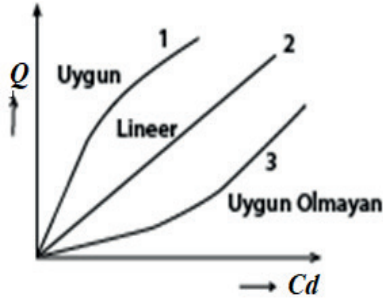
$$Q = \frac{(C_0 - C_d) V}{m} \quad (3.1)$$

Protein gibi büyük moleküller için ortalama bağlı kütle kullanıldığı için genellikle proteinin mol sayısı yerine kütlesi tercih edilir ve Q , mg protein g adsorban⁻¹ olarak verilir. Literatür incelendiğinde BSA adsorpsiyonu çalışmalarında proteinin denge çözeltilerinin belirlenmesinde genellikle, Coomassie-Brillant Blue boyasının proteinle oluşturduğu kompleksin absorbansının ölçüldüğü, Mor Ötesi-Görünür Bölge (UV-Vis) spektroskopik yöntem olan, Bradford Yöntemi tercih edilmiştir (Bradford, 1976). Bu literatür halen pek çok çalışmada referans olarak gösterilmektedir.

2022 yılında Majd tarafından yayınlanan bir derleme çalışmada, en yaygın kullanılan adsorpsiyon izotermi ve bunlarla ilgili tanımlar, son on yılın ilgili çalışma örnekleriyle birlikte bir araya getirilmiştir. Bu incelemede, 2010–2020 döneminde yayınlanan araştırmadan yaklaşık 400 referansla 37 adsorpsiyon izotermi toplanmıştır. Kullanılan adsorpsiyon izotermi erişim kolaylığı açısından alfabetik olarak düzenlenmiştir. Buna göre izoterm modelleri; *Aranovich, Dubinin-Astakhov, Dubinin-Radushkevich, Flory-Huggins, FowlerGuggenheim, Frenkel-Halsey-Hill, Freundlich, Fritz-Shlunder, Frumkin, GAB (Guggenheim-Andersen-de Boer), Halsey, Harkins-Jura, Henderson, Henry, Hill-De Boer, Hill, Jossens, Jovanovich, Khan, Kişev, Koble-Corrigan, Langmuir, MacMillan-Teller (MET), Marczewski-Jaroniec, Oswin, Radke-Prausnitz, Redlich-Peterson, Sips, Smith, Temkin, Toth, Vieth-Sladek, Volmer* şeklindedir (Majd vd., 2022).

Adsorpsiyon işleminde deneysel sonuçların analizinde ve adsorpsiyon sistemlerinin tasarlanmasında en yaygın kullanılan iki denklem Langmuir ve Freundlich modellerine dayanır. Bu denklemler, adsorpsiyon izotermi için matematiksel modeller sağlar. Deneyler genellikle sabit sıcaklıkta gerçekteştirilir ve sonuçlar adsorbat derişimine, adsorbana nakdedilen adsorbat derişiminin oranı diyagramı şeklinde ifade edilir. Elde edilen izoterm eğrileri genellikle üç tip olabilir: birinci tip izoterm dışbükey

(konveks) şekle sahiptir ve adsorpsiyona uygun olduğunu gösterir. İkinci tip izoterm doğrusal bir şekle sahiptir ve doğrusal izoterm olarak adlandırılır. Üçüncü tip izoterm ise içbükey (konkav) şekildedir ve adsorpsiyon için uygun değildir. Bu izoterm Şekil 2’de gösterilmiştir. Adsorpsiyon izotermi, adsorpsiyon sisteminin denge koşullarını ve adsorplanan madde miktarını gösteren önemli araçlardır. Adsorpsiyon izotermi meydana getirmek amacıyla çeşitli miktarlarda adsorbanı bünyesinde bulunduran adsorbat çözeltileriyle sabit sıcaklıkta deneyler gerçekleştirilir. Bu süreçte tek bir uygulanabilir model bulunmamasıyla birlikte, Erdős ile Jaeger tarafından geliştirilen kapsamlı bir formül temel alınarak çeşitli izoterm denklemleri ortaya konulmuştur. Bu modeller, belirli varsayımlarla geliştirilmiş ve daha sonra yeni modeller oluşturulmuştur. Yapılan çalışmalar genelde belirlenmiş modellerin kullanımıyla, adsorban veya adsorplanan maddelerin (adsorbat) değiştirilmesi üzerinde durmaktadır. Denge izotermi, adsorpsiyon sistemlerinin tasarımı ve modelleme sürecinde önemli bir rol oynamaktadır (Kanmaz, 2022).



Şekil 2. Adsorbat ile katı faz arasındaki ilişki (Ekingen 2012’den alınarak düzenlenmiştir)

3.1.1. Langmuir İzotermi

Langmuir izotermi, adsorpsiyon işlemi tek katmanlı bir adsorban yüzeyinde meydana geldiği için, adsorplanan katmanın tek bir molekül kalınlığında olduğu hipotezine dayanır. Üstelik, adsorban yüzeyindeki bütün adsorpsiyon alanlarının adsorbat molekülleri için aynı çekim gücüyle hareket ettiği kabul edilir. Böylece oluşan katman bir molekül kalınlığında olur. İlave olarak, adsorpsiyon halinin izotermal şekilde gerçekleştiğini ve adsorbent yüzeyinin adsorbatın tek katmanıyla örtüldüğünü varsaymaktadır. Bununla birlikte, bütün adsorpsiyon yerleri adsorbe edilen moleküllere karşı denk oranlarda çekim gösterir ve adsorbe edilen moleküller yanındaki başka moleküller ile hiçbir etkileşimde bulunmaz. Langmuir izotermi, katı

yüzeylerde etkin adsorpsiyon bölgelerindeki tutulumun kimyasal ya da fiziksel olduğunu diğer yöntemlere nazaran daha iyi açıklar. Bu izotermde, adsorbe edilen maddenin miktarı başlangıç derişimiyle doğrusal bir ilişki gösterir. Azami doyma noktası düzeyinde, yüzey tek bir tabaka ile kaplanır ve yüzey üzerinde adsorbe edilen madde oranı sabitlenir. Langmuir izotermine göre emilim enerjisi tüm yüzey üzerinde homojen olarak dağılır. Adsorpsiyon hızı, adsorbe edilecek madde derişimi ve yüzeydeki boş adsorpsiyon bölgeleriyle doğrudan ilişkili olarak artar. Ayrışma hızı, yüzeyde adsorbe olan molekül sayısıyla doğru orantılı olarak değişir (Kanmaz 2022; Majd vd., 2022; Murphy vd., 2023). Kısacası bu modelin dayandığı varsayımlar;

- Malzemenin yüzeyi adsorpsiyon aktivitesi açısından homojendir ve enerji olarak eşittir.
- Adsorplanan moleküller arasında herhangi etkileşim ya da rekabet olmadığı varsayılır.
- Bütün adsorpsiyon mekanizması aynıdır. Adsorbe olan her kompleks benzer yapıyla donatılmış olarak kabul görür.
- Adsorpsiyon seviyesi, yüzey üzerinde tam bir monomoleküler tabakadan daha fazla olmamalıdır (Aksu ve Balibek 2007).

Bu varsayımlar sonucunda aşağıda bulunan formül ortaya çıkmıştır.

$$Q = \frac{x_m K_L C_d}{1 + K_L C_d} \quad (3.2)$$

Bu denklemin doğrusallaştırılması sonucu ise Eşitlik 3.3'e varılır.

$$\frac{C_d}{Q} = \frac{1}{x_m K_L} + \frac{C_d}{x_m} \quad (3.3)$$

Denklemlerdeki her bir terim;

C_d : denge halinde çözelti içindeki adsorbat derişimi (mg L^{-1})

Q : denge halinde birim adsorban tarafından adsorplanmış adsorbat düzeyi (mg g^{-1})

x_m : birim adsorbanın maksimum adsorpsiyon kapasitesi (mg g^{-1})

K_L : Langmuir izoterm sabiti (L mg^{-1})

şeklinde açıklanabilir.

Adsorpsiyonun uygunluğunu belirlemek için R_L (dağılıma) sabiti ölçülür ve bu değer, adsorpsiyon işleminin elverişli olup olmadığına dair bir gösterge olarak kullanılır. R_L sabiti, izoterm tiplerine bağlı olarak farklı değerler alabilir

ve bu değerler, adsorpsiyonun nasıl gerçekleştiği hakkında bilgi verir. R_L değerleri ve izoterm tipleri aşağıdaki Çizelge 2'de listelenmiştir. Bu tabloda, R_L değerleri 0 ile 1 arasında değişmektedir ve farklı izoterm tiplerine göre (Şekil 2) belirli bir elverişlilik durumunu göstermektedir. R_L değerleriyle izoterm türü saptanır (Baybaş ve Ulusoy, 2016).

$$R_L = \frac{1}{(1+K_L C_0)} \quad (3.4)$$

K_L : Langmuir sabitinde adsorbata tutunabilme kabiliyeti (mL mg^{-1})

C_0 : Maddenin çözelti içindeki başlangıç derişimi (mg mL^{-1})

Tablo 2. R_L değerlerine karşılık izoterm türleri (Ekingen, 2012)

R_L Değerleri	İzoterm türü
$R_L > 1$	Elverişsiz
$R_L = 1$	Doğrusal
$0 < R_L < 1$	Elverişli
$R_L = 0$	Geri dönüşümsüz

3.1.2. Freundlich İzotermi

Freundlich izotermi, çok tabakalı yüzeylerden oluşan bir modele dayanır ve çözeltinin derişimiyle adsorpsiyon arasında bir ilişki olduğunu öngörür. Bu modele göre, adsorpsiyon kapasitesi artan derişimlerle birlikte artar. Langmuir modelinin aksine, Freundlich izotermi yüzey doygunluğuna ulaşmayı ve sabit bir yüzey enerjisinden bahsetmeyi gerektirmez, bu nedenle maksimum adsorpsiyon kapasitesini terimi kullanılmaz. Hem çözeltiden hem de gazlardan adsorpsiyon için geçerli olan bir izotermidir. Freundlich bu izotermi 1907 yılında ortaya koymuştur. Freundlich izotermi Langmuir izoterminden türetilmiştir. Freundlich izotermi, Langmuir izoterminden temel olarak meydana gelir, ancak birtakım hipotezler ve gelişmeler eklenerek Freundlich denklemi oluşturulur. Bu formül çeşitli düşük derişimlerde Henry yasasını sağlamaz, dengede sabit bir adsorplanan miktarı vermez. Freundlich izotermi yaklaşımına göre, adsorbata yüksek bir afinitesi olan aktif bölgelerde gerçekleşir, ardından diğer bölgelerde tutunma meydana gelir. Bu nedenle, Freundlich izotermi adsorpsiyonu aşamalı bir süreç olarak tanımlar ve işlem sırasında farklı etkin bölgeler ortaya çıkarır. Bu varsayımlara dayanarak aşağıdaki formül oluşturulmuştur (Aksu ve Balibek 2007; Baybaş ve Ulusoy, 2016; Kanmaz 2022; Aslan vd., 2022; Majd vd., 2022; Murphy vd., 2023).

$$Q = K_F C_d^{\left(\frac{1}{n}\right)} \quad (3.5)$$

Q: denge halinde birim adsorban aracılığıyla adsorplanmış adsorbat düzeyi (mg g^{-1})

C_d : denge halinde çözelti içindeki adsorbat derişimi (mg L^{-1})

K_F : Freundlich faktörü ($(\text{mg g}^{-1}) (\text{L mg}^{-1})^{1/n}$)

n: Freundlich heterojenlik faktörü

Formül (3.5)'ün iki tarafının \ln 'i oluşturularak doğrusal olarak biçimlendirilir.

$$\ln Q = \ln K_F + \left(\frac{1}{n}\right) \ln C_d \quad (3.6)$$

Oluşan grafiğin eğimi için bulunan sonuç ile $1/n$, kesim noktası için bulunan sonuç ile $\ln K_F$ hesaplanır. $n > 1$ olarak bulunursa adsorpsiyonun yapılabileceği belirlenmiş olur.

3.2. Adsorban Materyaller ve Özellikleri

Tüm katılar, kristal yapıda olsun ya da olmasın, metallere plastiklere kadar adsorpsiyon yeteneğine sahiptir. Yüksek adsorpsiyon gücü bulunan katılar genellikle gözenekli bir yapıya sahiptir. Endüstriyel kullanım için farklı alanlarda birçok adsorban türü bulunmaktadır. Yaygın olarak, adsorbanlar doğal ve yapay olmak üzere iki sınıfa ayrılabilir. Aktif karbon ise asit ya da sıcaklık gibi faktörlerle aktive edilen doğal adsorbanlardır ve ayrı bir bölüm olarak sunulacaktır.

3.2.1. Doğal Adsorbanlar

Doğal adsorban çeşitleri, genellikle kolayca temin edilebilen ve daha az maliyetli olan öğelerdir. Kömür, kil, kolajen, selüloz, zeolit, kitosan ve doğal polimerik adsorbanlar, doğal adsorban örnekleri arasında sayılabilir. Bu doğal adsorbanlar, çeşitli endüstriyel ve uygulama alanlarında etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Doğal adsorbanlar, yapısı ve bileşimi nedeniyle özel adsorpsiyon özellikleri sergiler ve çeşitli kirleticilerin uzaklaştırılmasında etkili olabilirler. Bu maddeler genellikle doğal kaynaklardan elde edilir ve sürdürülebilir bir alternatif sunarlar.

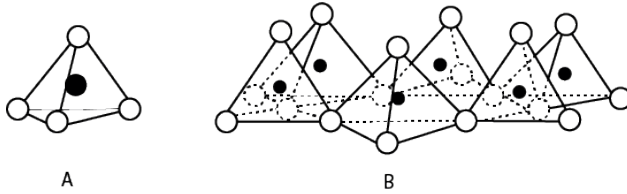
Kitosan

Kitosan, kitinin deasetilasyonu ile elde edilen doğal bir biyopoliaminosakkarittir. Bu polimer, pozitif yüklü ve yüksek yüklemeye

kapasitesine sahip olması nedeniyle şu anda ilaç etken maddelerinin salınım araştırmalarında fazlaca tercih edilmektedir. Kitosan, biyolojik olarak uyumlu, toksik olmayan ve biyobozunur bir polimerdir. Aynı zamanda ağır metallerde etkili bir tutucu olarak işlev görebilir. Kitosan, selüloz gibi diğer polimerlerle birleştirilerek ağır metal iyonlarına karşı iyi adsorpsiyon özellikleri sergileyebilir. Bu özellikleriyle kitosan, çevre dostu ve biyomedikal uygulamalarda tercih edilen bir malzeme haline gelmiştir. (Sinha vd., 2004)

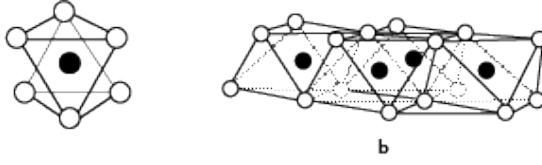
Killer

Doğal kaynaklarda bol miktarda bulunan killer, sulu alüminyum silikatları içeren minerallerdir. Kil, genellikle 2μ 'den daha küçük tanecik boyutuna sahip hidrat alüminyum silikat karışımlarını ifade eder. Isıtıldığında plastik hale dönüşen ve pişirildiğinde sürekli sert olan kil, ağır metal gideriminde etkili bir rol oynar. Killer, su tutma ve iyon değiştirme yeteneği yüksek olan minerallerdir ve önemli miktarda demir ve alkali oksitleri içerir. Kilin temel yapı birimleri arasında hidroksil grupları ve oksijen atomları ile Al, Mg, Si, Fe gibi iyonlar yer alır. Farklı çevre koşullarına bağlı olarak ortaya çıkan farklı kil tiplerinin yapıları, temel olarak iki birimden kaynaklanır. Bu birimlerden biri, bir Si atomunun etrafında dört oksijen atomu tarafından oluşturulan Si tetrahedronudur. (Yıldız, 2002)



Şekil 3. Tetrahedron yapısı ve silika tabakası gösterimi (Kalpaklı vd., 2022)

İkinci birim, altı adet oksijen atomu ve/veya hidroksil grubunun eşit aralıklarla Alüminyum atomunun etrafında düzenlendiği Al-oktahedron olarak adlandırılır. Bu yapı, kil minerallerinin temel yapı birimidir ve Al atomu merkezinde yer alırken, hidroksil iyonları veya oksijen atomları altıgen bir şekilde etrafını sarmaktadır. Bu Al-oktahedron birimleri, kilin kristal yapısının temel bileşenleridir ve farklı kil tiplerindeki miktarları ve düzenlemeleri, kilin özelliklerini belirleyen faktörler arasındadır. (Kalpaklı vd., 2022).



Şekil 4. Oktahedron ve alümina tabakasının gösterimi (Kalpaklı vd., 2022)

Topraklara kil mineralleri eklenmesi, plastisite, şişebilme ve büzülebilmeye özellikleri kazandırırken aynı zamanda molekül ve iyonları adsorplama ve desorbe etme kabiliyetini sağlar. Söz konusu kil minerallerini içeren topraklar arasında smektit, sepiyolit ve kaolin gibi çeşitli türler bulunur. Türkiye'deki zengin bir kaynak olan bentonit toprağı, içeriğinde % 60-80 montmorillonit kili içerir ve endüstride yaygın olarak kullanılır.

3.2.2. Yapay Adsorbanlar

Yapay adsorbanlar, diğer adsorban seçeneklerine göre genellikle üstün maliyetli olmasına rağmen, belirli ihtiyaçlara ve kullanım alanlarına uygun özelliklere sahip (örneğin yüzey özellikleri) maddelerdir. Aktif alümina, reçine, aktif karbon ve silika jel gibi yapay adsorbanlar, tarımsal (atık çamur, kül, talaş vb.) ve endüstriyel atıkların yanı sıra kullanılan önde gelen örnekleridir. Bu yapay adsorbanlar, belirli adsorpsiyon özellikleri nedeniyle farklı uygulama alanlarında tercih edilirler.

3.2.3. Aktif Karbon

Aktif karbon, yüzey alanı $2000 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ve üzerinde gözenekli bir yapıya sahip olan karbon zincirlerine verilen bir isimdir. Aktif karbon, uzun bir geçmişe sahip olan bir malzemedir ve bilimsel çalışmaların gelişmesiyle birlikte çeşitleri, kullanım alanları ve çeşitleri artmıştır. Hipokrat tarafından tıp alanında kullanıldığına dair kayıtlar bulunmasına rağmen, endüstriyel olarak üretimine 18. yüzyılda geçildiği belirtilmektedir. Aktif karbonun modern üretim teknikleri, 20. yüzyılın başlarında geliştirilmiştir ve bu tekniklerle meydana getirilip geliştirilen aktif karbon, çeşitli adsorpsiyon işlemlerinde yoğun olarak kullanılmıştır. Örneğin, Almanya'da kötü koku veren fenollerin sudan uzaklaştırılması ve I. Dünya Savaşı sürecinde zehirleyici gaz haldeki maddelerden korunmak için aktif karbon ile donatılmış gaz maskelerinin kullanımı gibi örnekler bulunmaktadır. Aktif karbon günümüzde hala adsorpsiyon amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve teknolojik atılımlarla beraber silah, metal ve otomotiv sanayisi ve ayrıca tıp kapsamında da tercihi artmaktadır.

Aktif karbon, kömür, odun ve benzeri materyallerin pirolizi sonucunda elde edilir. Moleküler yapısı, grafit gibi altıgen şekilli paralel yapılarla oluşturulmasına rağmen düzgün bir sıralamaya sahip değildir. Bu düzensizlik, aktif karbonun gözeneklerini (boşluklarını) oluşturarak adsorpsiyon özelliğine sahip olmasını sağlar. Gözeneklerin yük yoğunluğu sıfır olsa da adsorpsiyon için gerekli olan van der Waals bağlarını bünyelerinde bulundururlar.

Aktif karbonun, diğer adsorbanlardan ayıran belirgin özellikleri arasında geniş bir spesifik yüzey alanı, uygun gözenek boyut dağılımı ve yüksek reaktif yüzeyi bulunmaktadır. Aktif karbon oluşturmada tercih edilebilecek çeşitli organik madde grupları bulunur. Bu maddeler arasında bitki kaynaklı olanlar (hindistan cevizi kabukları, tarımsal atıklar, odun, meyve çekirdekleri vb.), mineral kaynaklı olanlar (kömür, petrol kokları, turba, linyit) ve polimerik maddeler (eskimiş lastikler, plastik materyaller) bulunabilir. Aktif karbonların belli özellikleri, tercih edilen ana maddeye ve üretim metoduna göre değişiklik gösterir (Türkyılmaz 2011; Al-Othman vd., 2012).

4. Literatürde BSA Adsorpsiyonu ve Sonuçlar

Proteinler, fonksiyonel özellikleri üç boyutlu yapılarına bağlı olan biyomoleküller veya makromoleküllerdir. Bu moleküller canlı organizmalarda metabolik aktivitelerin katalizi, DNA replikasyonu, molekül taşınımı, uyarana yanıt vb. gibi farklı işlevler yerine getirir. Biyokimya, gıda bilimi, biyosensör geliştirme, ilaç, tıp ve diğer pek çok disiplinlerarası uygulamalarda proteinlerin adsorpsiyonuna rastlanmaktadır (Rajabi vd., 2023).

Bu çalışmada çeşitli lisansüstü tezler ve literatürde farklı şartlarda üretilen adsorbanların farklı BSA başlangıç derişimlerinde, farklı sıcaklıklarda, farklı pH seviyelerinde ve farklı sürelerde yapılan adsorpsiyon çalışmalarında, bulunan Bovine Serum Albüminin adsorbe etme kapasiteleri derlenmiştir. Araştırma yapılırken, rastgele, ancak mümkün olduğu kadar güncel olan (2010 yılından sonra) çalışmalar seçilmiştir. Araştırılan farklı literatür ve çalışmalarda elde edilen maksimum adsorpsiyon kapasitesi değerleri (Q_m) (çoğunlukla Langmuir izoterminden elde edilen X_L değerleri) ile deney koşulları (adsorban dozu = mg adsorban / mL çözelti hacmi, sıcaklık ve pH) Tablo 3'te karşılaştırmalı şekilde, kronolojik olarak sunulmuştur.

Çizelgeden de görülebileceği gibi, maksimum adsorpsiyon kapasitesi değeri, adsorban türü ve deney koşullarına bağlı olarak oldukça geniş bir skalada değişmektedir.

Adsorpsiyon çalışmalarında genellikle yığın (batch) tekniği kullanılmaktadır. Bilindiği gibi bu yöntemde belirli kütleyle sahip adsorban, belirli hacimdeki BSA çözeltisine eklenir. Bu oran adsorban dozu (mg

adsorban mL^{-1} BSA çözeltisi) olarak bilinir. Eşitlik 3.1. kullanılarak adsorbanın kütlesi başına adsorplanan miktar hesaplanır. Ancak literatürde, Mofidian ve diğerlerinin çalışmalarında olduğu gibi kolon yöntemine de rastlanmaktadır. Çalışmada Nano-Bio Grup (NBG) Kromatografi kolonu kullanılarak, BSA adsorpsiyonu çalışmaları afinite kromatografisi yöntemiyle yapılmıştır (Mofidian vd., 2021).

BSA, moleküler yapısında bir amin ($-\text{NH}_2$) ve bir karboksil ($-\text{COOH}$) grubunun bulunması nedeniyle amfifilik bir proteindir. Asidik ve bazik pH ortamlarında farklı net yüklere sahiptir. BSA'nın izoelektrik noktası (pI) olan pH yaklaşık 4.7'dir. Proteinlerin izoelektrik noktalarında elektrik yükü yoktur ve bu nedenle maksimum adsorpsiyon kapasitesinin BSA'nın izoelektrik noktası olan $\text{pH} = 5$ civarında olduğu görülmüştür. Yaklaşık pH 5 değerinin altında BSA'nın pozitif, üstünde ise negatif yüke sahiptir. Ayrıca, pH değiştiğçe adsorbat maddenin elektrostatik yükü de farklılaşır. Bu da adsorbanın yüküne ve adsorbatın cinsine bağlı olarak, optimum pH'yı ya da adsorpsiyon miktarını artırabilir veya azaltabilir (Park vd., 2022; Öztürk ve Demir, 2023).

Adsorpsiyonun, adsorpsiyon dozu ile değişimi genellikle, belirli bir yere kadar artıp, sonra yaklaşık olarak sabit kalma şeklindedir (Binaeian vd., 2020).

BSA adsorpsiyonunda, izotermeler daha çok Langmuir adsorpsiyon modeline uyum gösterir (Binaeian vd., 2020). Ancak literatürde farklı durumlarla da karşılaşılmaktadır. Bazı adsorbanlar için Freundlich (Öztürk ve Demir, 2023), bazılarında Sips (Aslan vd., 2022), bazen de Temkin (Li vd., 2022) modeline daha çok uyum gözlenmiştir. Langmuir izotermi BSA'nın adsorban yüzeyine tek tabakalı olarak tutunduğunu gösterirken, Temkin modeline uyan $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanopartikülleri üzerine BSA adsorpsiyon davranışı, çok moleküllü tabakalı adsorpsiyon gösterir.

BSA adsorpsiyonu kinetiği genellikle sözde ikinci derece (pseudo second order) kinetik modele uyar (Binaeian vd., 2020; Aslan vd., 2022; Öztürk ve Demir, 2023). Ancak istisnai durumlara da rastlanmaktadır. Örneğin $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanopartikülleri üzerine BSA adsorpsiyonu, sözde birinci dereceden (pseudo first order) kinetik modele daha çok uymaktadır (Li vd., 2022).

Sıcaklık arttıkça genellikle BSA'nın adsorplanması azalır. Termodinamik analizler adsorpsiyon sürecinin ekzotermik ve kendiliğinden olduğunu göstermektedir (Binaeian vd., 2020).

Tablo 3. Çeşitli lisansüstü tezler ve literatürde BSA adsorpsiyonunda kullanılan bazı adsorbanların adsorpsiyon kapasitesi değerleri

Materyal	Adsorpsiyon Deneysel Koşulları				Literatür
	Doz (mg mL ⁻¹)	Sıcaklık (°C)	pH	Q _m (mg g ⁻¹)	
Sentrik hidroksiapatit (HAP)	0.5	37	7.4	12.2	Ekingen, 2012. (Y.L. Tezi)
Poli(gliscol dimetakrilat) [poli(GDMA)]; Poli(gliscol dimetakrilat-co-gliscol 1,3-digliscolat diakrilat) [poli(GDMA-co-GDGA)]	10		5	56.4 52.9	Eminoglu, 2012 (Y. L. Tezi)
Modifiye edilmiş ticari Toz Aktif karbon (TAK)	10	40	5	134.8	Taşkın, 2013. (Y. L. Tezi)
Bi-fonksiyonelleştirilmiş HMS, nitrilotriasetik asit -aminle modifiye edilmiş altrigen mezogözenekli silikat (NH ₂ /HMS/NTAA)	40 mg ads.	25	4.9	1000	Binacian vd., 2020
Doğal pomza - metal kompozit kriyojeli (Cu ²⁺ -NP-ECDs)	-	25	7	356,8	Acet, 2021
Reaktif Blue 4 boya ligandile immobilize edilmiş peliküller iki katmanlı agaroz nikel (2L-AN@RB4)	4 mg kolon	25	2	3.5x10 ⁻⁵ mg mL ⁻¹	Mofidian vd., 2021
Poli akrilamid-Sülfö Lignin-Hidroksiapatit kompoziti (pSLgHap)	10	25	4	89.7	Aslan, vd., 2022
α-Fe ₂ O ₃ nanoparçacıklar	2.5	Oda sıcaklığı	5	114.2	Li vd., 2022
Mikrodalga uygulanmış, Kalsiyum fosfat (CAP)/Tiranyum dioksit çiçek (TiNF) kompozitler	2	37	7.4	92.0	Park vd., 2022
Montmorillonit kili (MMT) varlığında 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) ve kitosan (CTS) serbest radikal polimerizasyon yöntemi kullanılarak sentezlene [p(HEMA)-g-CTS]/MMT süper emici nanokompoziti,	0.05 mg	25	5	75.8	Öztürk ve Demir, 2023

Tekrar kullanılabilirlik adsorpsiyondaki önemli faktörlerden biridir ve maliyeti düşürür. Çizelgedeki çalışmalardan, Acet (2021), Cu^{2+} -NP-ECD metal-pomza kompozitinin, 0.5 M NaCl çözeltisiyle yıkanarak 30'dan daha fazla kez tekrar kullanılabilirdiğini göstermiştir (Acet, 2021). Benzer şekilde p(HEMA)-g-CTS]/MMT'nin 0.5 M NaCl ile yıkanarak tekrar kullanımı araştırılmıştır. Beş adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsünden sonra adsorpsiyonun yalnızca %16 oranında azaldığı görülmüştür (Demir ve Öztürk, 2023). BSA'nın manyetik $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanopartikülleri üzerindeki adsorpsiyon oranı, 7 döngüden sonra hala ilk seferin %70.3'üne ulaşmıştır. Bu durum bu nanopartiküllerin iyi döngüsel rejenerasyona sahip olduğunu göstermekte ve materyalin uygulama beklentisini arttırmaktadır (Li vd., 2022).

Sonuçlar

Pek çok araştırmacı, biyoteknoloji, biyotıp, eczacılık gibi biyolojik ve tıbbi alanlarda proteinler, enzimler ve çeşitli biyolojik ürünlerin adsorpsiyonu için etkili bir adsorban üretebilmek amacıyla çalışmaktadır. Adsorban malzemelerin BSA adsorpsiyonu çalışmaları protein-materyal ilişkilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacak ve biyomateryal sentezlerine faydalı olacaktır.

Farklı adsorpsiyon koşulları ve kullanılacağı amaca bağlı materyal seçimi BSA'nın maksimum adsorpsiyon kapasitesini değiştirmektedir. Denge durumu izoelektrik noktaya yakın izlenmekle birlikte maksimum kapasiteyi de etkilemektedir. En etkili parametrenin pH olduğu gözlemlenmiş, diğer parametreler de buna bağlı olarak etki düzeylerinde değişikliğe uğramıştır.

Adsorbanın yüzey alanı ve gözenekliliği adsorpsiyonu arttıran en önemli özelliktir. Hidrofobik yüzeylerde BSA'nın daha güçlü bir şekilde adsorbe olduğu gözlemlenmiş, bu da BSA'nın hidrofobik etkileşimlerle yüzeylere bağlandığını düşündürmüştür. Elde edilen veriler ve karşılaştırmalar, Bovine Serum Albümin (BSA) adsorpsiyonunun karmaşık bir süreç olduğunu ve bir dizi faktörün bu süreci etkileyebileceğini göstermektedir.

Sonuçlar, BSA adsorpsiyonunun üzerinde çalışıldığı bu çalışma boyunca geniş bir perspektif sunmuştur. Protein yapısı, adsorpsiyonu ve kinetiklerini anlamak, BSA yapısını ve adsorpsiyondaki maksimum düzeylerini farklı literatürlerle karşılaştırarak çeşitli analizler gerçekleştirilmiştir. Literatürlerin ortak paydası adsorpsiyon kapasitesini yükseltmek için üretim şartları değiştirilerek uygun materyaller oluşturmak ve çalışmaların hata yüzdelerini düşürerek kullanıma sunmaktır.

Kaynakça:

- Acet, Ö.**, (2021). "Investigation of BSA adsorption performances of metal ion attached mineral particles embedded cryogel discs". *MANAS Journal of Engineering*, 9(1): 65-71. <https://doi.org/10.51354/mjen.883804>
- Aggrawal R., Halder S., Dyagala S. ve Saha S.K.**, (2022). "Refolding of denatured gold nanoparticles-conjugated bovine serum albumin through formation of cationic interactions between gemini surfactant and sodium dodecyl sulphate", *Royal Society of Chemistry*. 12(25): 16014-16028. <https://doi.org/10.1039/D2RA02618J>
- Aksu Z., Balıbek, E.**, (2007). "Chromium (VI) biosorption by dried *Rhizopus arrhizus*: Effect of salt (NaCl) concentration on equilibrium and kinetic parameters", *Journal of Hazardous Materials*, 145: 210-220. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.11.011>
- Alaqrarbeh M.**, (2021). "Adsorption phenomena: Definition, mechanisms, and adsorption types: short review", *Green and Applied Chemistry*, 13: 43-51.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., ve Walter P.**, (2008). *Molecular Biology of the Cell*, 5. Baskı, Garland Science, New York.
- Al-Othman Z.A., Ali R., Naushad M.**, (2012), "Hexavalent chromium removal from aqueous medium by activated carbon prepared from peanut shell: Adsorption kinetics, equilibrium and thermodynamic Studies", *Chemical Engineering Journal*. 184:1: 238-247. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.01.048>
- Aslan E., Baybaş D., Ulusoy U.**, (2022). "Lignin grafted hydroxyapatite entrapped in polyacrylamide: Characterization and adsorptive features for Th⁴⁺ and bovine serum albumin", *International Journal of Biological Macromolecules*, 204, 333-344. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.01.200>
- Baybaş D., Ulusoy U.** (2016), "Adsorptive features of polyacrylamide--aluminosilicate composites for methylene blue," *Turkish Journal of Chemistry*: 40:1, 147-162. <https://doi.org/10.3906/kim-1504-32>
- Binaeian E, Mottaghizad M., Kasgary A. H., Zadvarzi S. B.**, (2020). "Bovine serum albumin adsorption by Bi-functionalized HMS, nitrilotriacetic acid -amine modified hexagonal mesoporous silicate", *Solid State Sciences*, 103:106194. <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2020.106194>
- Bradford M. M.**, (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Analytical Biochemistry*, 72:1-2: 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

- Chandrasekaran N.**, (2014). “The influence of amino acid properties on the adsorption of proteins and peptides to stainless steel surfaces”, A Thesis of PhD., University of Canterbury New Zealand.
- Edri E. ve Regev O.**, (2008). “pH Effects on BSA-dispersed carbon nanotubes studied by spectroscopy-enhanced composition evaluation techniques”, *Analytic Chemistry*, 80: 4049–4054
- Efimova, Y. M.** (2006) “Proteins at surfaces”, Thesis of PhD., Delft University of Technology, Netherlands, 155 pp.
- Ekingen İ.**, (2012). Protein Adsorpsiyonu, Yüksek Lisans Tezi, Fen bilimleri Enstitüsü, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Eminoğlu N.**, (2012). “Yüzey başlatıcılı ATRP ile oluşturulan anyon değiştirici moleküler zincir içeren monodispers hidrojel mikrokürelerin hücre etkileşim özellikleri”, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi.
- Fehér B., Lyngsø J., Bartók B., Mihály J., Varga Z., Mészáros R., Pedersen J. S., Bóta A., Varga T.** (2020). “Effect of pH on the conformation of bovine serum albumin - gold bioconjugates”, *Journal of Molecular Liquids*, 309: 113065. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113065>
- Gündüz, F., Bayrak, B.** (2017). “Biosorption of malachite green from an aqueous solution using pomegranate peel: Equilibrium modelling, kinetic and thermodynamic studies”. *Journal of Molecular Liquids*, 243, 790-798.
- Gürsoy O., Kınık Ö., Akbulut N.**, (2003), “Protein-lipit interaksiyonları ve bunların süt ve süt ürünlerindeki önemi”, *Akademik Gıda Dergisi*, 3: 14-19.
- Hasani S., Derakhshani A., Hasani B., Navaei T.**, (2023). 3 - Protein adsorption on polymeric surfaces, Editor(s): Masoud Mozafari, Narendra Pal Singh Chauhan, In Woodhead Publishing Series in Biomaterials, Handbook of Polymers in Medicine, Woodhead Publishing, 57-85. ISBN 9780128237977, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823797-7.00003-4>
- Ironside J.**, (2006), “Variant Creutzfeldt-Jakob Disease: risk of transmission by blood transfusion and blood therapies”, *Haemophilia*, 12:8–15. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2006.01195.x>
- Jahanban-Esfahlan A., Panahi-Azar V.**, (2016), “Interaction of glutathione with bovine serum albumin: spectroscopy and molecular docking”, *Food Chem.* 202 426–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.026>
- Kalpıklı Y., Topal A., Balkan A.**, (2022) *Killer, Modifikasyon Yöntemleri ve Asit Aktivasyonu*, İksad yayınları, Ankara.
- Kanmaz N.**, (2022), “Hidrojel bazlı biyokompozit adsorbanların sulu çözeltilerden Uranyum (VI) adsorpsiyon kapasiteleri üzerine derleme”, *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(3): 1436- 1455.

- Lee M.J., Duan F.F., Wu P.C., Lee W., (2020). “Liquid crystal–photopolymer composite films for label-free single-substrate protein quantitation and immunoassay”, *Biomedical Optics Express*, 11(9):4915-4927. <https://doi.org/10.1364/BOE.398858>
- Li Y., Zhu Z., Lv Z., Wang Z., Chen Y., (2022). “Adsorption characteristics of bovine serum albumin onto α -Fe₂O₃ nanoparticles prepared via the alcohol solution combustion process of ferric nitrate”, *Material Research Express*, 9:065003. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ac73e3>
- Majd M. M., Kordzadeh-Kermani V., Ghalandari V., Askari A., Sillanpää M., (2022). “Adsorption isotherm models: A comprehensive and systematic review (2010–2020)”, *Science of The Total Environment*, 812:151334. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151334>
- Mhemeed A. H., (2018). “A general overview on the adsorption”, *Indian Journal of Natural Sciences*, 9:51.
- Militello V., Vetri V., Leone M., (2003). “Conformational changes involved in thermal aggregation processes of bovine serum albumin”, *Biophysical Chemistry*, 1;105(1):133-41. [https://doi.org/10.1016/s0301-4622\(03\)00153-4](https://doi.org/10.1016/s0301-4622(03)00153-4)
- Mofidian R., Xiong Q., Ranjbar A.M., Sabbaghi M.A., Farhadi A., Alizadeh S.M., (2021)., “Adsorption of lactoferrin and bovine serum albumin nanoparticles on pellicular two-layer agarose-nickel at reactive blue 4 in affinity chromatography”, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9:2: 105084. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105084>
- Murayama K., Tomida, M., (2004)., “Heat-induced secondary structure and conformation change of Bovine Serum Albumin investigated by Fourier Transform Infrared Spectroscopy”. *Biochemistry*, 43, 36: 11526–11532. <https://doi.org/10.1021/bi0489154>
- Murphy O. P., Vashishtha M., Palanisamy P., Kumar K.V., (2023). “A Review on the adsorption isotherms and design calculations for the optimization of adsorbent mass and contact time”, *ACS Omega*, 8: 20: 17407–17430. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c08155>
- Nelson, D. N., ve Cox, M. M., (2004). *Lehninger Principles of Biochemistry* 4. Baskı., W. H. Freeman & Company.
- Nnyigide O. S., Kyu Hyun K., (2020). “The protection of bovine serum albumin against thermal denaturation and gelation by sodium dodecyl sulfate studied by rheology and molecular dynamics simulation”, *Food Hydrocolloids*, 103: 105656. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105656>
- Öztürk S., Demir N., (2023)., “Preparation of poly(2-hydroxyethyl methacrylate)-grafted chitosan-montmorillonite superabsorbent nanocomposite for adsorption of bovine serum albumin”, *Polymer Advanced Technologies*, 34(10):3345-3355. <https://doi.org/10.1002/pat.6148>

- Park K. H., Song H. J. and Park Y. J.,** (2022). “Microwave treatment of calcium phosphate/titanium dioxide composite to improve protein adsorption”, *Materials*, 15(14): 4773. <https://doi.org/10.3390/ma15144773>
- Pouran Pourhakkak, Ali Taghizadeh, Mohsen Taghizadeh, Mehrorang Ghaedi, Sepahdar Haghdoust,** (2021). “Chapter 1 - Fundamentals of adsorption technology”, Editor(s): M. Ghaedi, *Interface Science and Technology*, Elsevier, Volume 33, 1-70. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818805-7.00001-1>
- Rabe M., Verdes D., Seeger S.,** (2011). “Understanding protein adsorption phenomena at solid surfaces”, *Advances in Colloid and Interface Science*, 162(1–2): 87-106. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.12.007>
- Rajabi, M., Keihankhadiv, S., Suhas, Tyagi I., Karri, R. R., Chaudhary M., Mubarak N. M., Chaudhary S., Kumar P., Singh P.,** (2023). “Comparison and interpretation of isotherm models for the adsorption of dyes, proteins, antibiotics, pesticides and heavy metal ions on different nanomaterials and non-nano materials—a comprehensive review”, *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 13: 43–65. <https://doi.org/10.1007/s40097-022-00509-x>
- Roufegarinejad L., Jahanban-Esfahlan A., Sajed-Amin S., Panahi-Azar V., Tabibiazar M.,** (2018), “Molecular interactions of thymol with bovine serum albumin: spectroscopic and molecular docking studies”, *Journal of Molecular Recognition*, 31(7): e2704. <https://doi.org/10.1002/jmr.2704>
- Sarıkaya, Y.,** (2000) *Fizikokimya*, Gazi Kitabevi, Ankara.
- Schaller, J., Garber, S., Kämpfer, U., Lejon, S., ve Trachsel, C.,** (2008). “Human blood plasma proteins. structure and function, John Wiley & Sons, Chichester.
- Sinha, V.R., Singla, A.K., Wadhawan, S., Kaushik, R., Kumria, R., Bansal, K., Dhawan, S.,** (2004), “Chitosan microspheres as a potentiel carrier for drugs”, *International Journal of Pharmaceutics*, 274:1-2: 1-33
- Taşkın M.,** (2013). “Ticari aktif Karbonun modifikasyonu ve BSA adsorpsiyon özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul
- Tay, T.,** (2004) “Tetrafenilporfirin bazlı hidrofobik adsorban geliştirilmesi”, Doktora Tezi Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Türkyılmaz, A.,** (2011). “Bazı bitkisel atıklardan aktif karbon eldesi ve yüzey özellikleri. Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir.
- Yıldız, N.,** (2002). “Süperkritik akışkan ortamında adsorbantların rejenerasyonu”, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara.

Zhang W., Wu H., Zhang R., Fang X., Xu W., (2019). “Structure and effective charge characterization of proteins by a mobility capillary electrophoresis based method”, *Chemical Science.*, 10. 7779. <https://doi.org/10.1039/C9SC02039J>

